Impacts de l'oxygène sur les évolutions chimiques et sensorielles du vin rouge

Laurent Pechamat

▶ **To cite this version:**

Laurent Pechamat. Impacts de l'oxygène sur les évolutions chimiques et sensorielles du vin rouge. Sciences agricoles. Université de Bordeaux, 2014. Français. NNT : 2014BORD0355 . tel-01191500

HAL Id: tel-01191500
https://theses.hal.science/tel-01191500

Submitted on 3 Sep 2015

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

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

université de BORDEAUX

THESE PRESENTEE POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX

Ecole doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

Spécialité : Œnologie

par Laurent PECHAMAT

Impacts de l'oxygène sur les évolutions chimiques et sensorielles du vin rouge

Sous la direction du Pr. Pierre-Louis TEISSEDRE

Soutenue le 18 Décembre 2014

Membres du jury :

Pr. Luis Angel BERRUETA	Université Bilbao – Pays Basque	Président
Pr. Jorge Ricardo DA SILVA	Université de Lisbonne	Rapporteur
Pr. Fernando ZAMORA	Université de Tarragone	Rapporteur
Dr. Rémy GHIDOSSI	Université de Bordeaux	Examinateur
Pr. Pierre-Louis TEISSEDRE	Université de Bordeaux	Directeur de Thèse

Impacts de l'oxygène sur les évolutions chimiques et sensorielles du vin rouge

L'impact de l'oxygène a été suivi pendant 4 mois pour 3 vins de Merlot d'IPT 61, 63 et 76. Le vin d'IPT 63 était enrichi par une fraction d'ellagitannins de bois de chêne. Les vins ont été ajustés à pH 3, pH 3,5 et pH 4. Pour chaque pH, des doses de 0, 2, 8 et 20 mg/L d'oxygène ont été fournies à l'aide d'oxygène pur, puis des analyses mensuelles ont permis de suivre les **évolutions** chimiques et sensorielles des vins afin d'apprécier les impacts liés à l'oxygène.

Les résultats montrent pour tous les vins, que la **consommation de l'oxygène** augmente de 2 à 4 fois plus lorsque l'on passe de pH 3 à pH 4. La présence d'ellagitannins dans le vin favorise la consommation d'oxygène, ainsi qu'en solutions modèles hydro-alcooliques de fractions phénoliques. Les teneurs en **tannins totaux** sont globalement stables. Les polymérisations analysées par la méthode DMACH se produisent majoritairement à pH 3 et pH 3,5 pour le vin d'IPT 61, alors que les différences liées à l'oxygène sont moins fortes sur le vin d'IPT 76. Pour le vin d'IPT 63 + ellagitannins, les polymérisations sont favorisées à pH 3. Les teneurs en **anthocyanes** totales et moléculaires montrent généralement des diminutions en fonction du temps, de l'oxygène ainsi que de l'acidité. Pour le vin d'IPT 76 et d'IPT 63 + ellagitannins, les anthocyanes se **polymérisent** davantage aux tannins polymères en présence d'oxygène, et à pH plus acide. 13 **pyranoanthocyanes** ont pu être identifiées et quantifiées, dont deux molécules de pyranomalvidine-di-(épi)catéchine quantifiées pour la première fois dans des vins rouges secs qui peuvent être considérées comme des marqueurs en lien avec l'apport en oxygène subi par le vin. Les **analyses sensorielles** réalisées sur le vin d'IPT 76 en fonction des pH montrent que l'amertume est plus forte à pH 4, et pH 3,5 dans une moindre mesure. Cette tendance se retrouve aussi sur la perception d'oxydation.

Pour les deux autres vins, d'IPT 61 et d'IPT 63 enrichi par une fraction d'ellagitannins, l'intensité du fruité diminue globalement avec les doses d'oxygène, tandis que le caractère oxydé est bien corrélée avec les doses croissantes d'oxygène, ainsi que l'amertume dans une moindre mesure.

Mots-clés : Vin rouge ; oxygène ; acidité ; tannins ; anthocyanes ; pigments ; pyranoanthocyanes ; qualité ; analyses chimiques et sensorielles ; cinétique ;

Oxygen impacts on chemical and sensory evolutions in red wine

The impact of oxygen has been followed-up during 4 months for 3 Merlot red wines of TPI 61, 63 anf 76. The wine of TPI 63 was supplied by a fraction of ellagitannin from oak wood. Wines have been adjusted at pH 3, pH 3.5 and pH 4. For each pH, quantities of 0, 2, 8 and 20 mg/L of pure oxygen have been added. Then, anlyses have been performed each month to follow the wine chemical and sensory evolutions in order to determine the impact of oxygen.

For all wines, the results show that oxygen consumption is 2 to 4 fold higher from pH 3 to pH 4. The presence of ellagitannin in wine favors oxygen consumption, as well as in wine model solutions with phenolic fractions. Total tannin contents remain quite constant. Polymerisations analysed by DMACH index occur mainly at pH 3 and pH 3.5 for the wine of TPI 61, while the differences related to oxygen are less important in the wine of TPI 76. For the wine of TPI 63 + ellagitannins, polymerisations are favored at pH 3. Total and molecular anthocyanins contents generally show a decrease according to time, oxygen and acidity. For the wines of TPI 76 and TPI 63 + ellagitannins, the anthocyanins polymerise more to polymers of tannins with oxygen and acidity. 13 pyranoanthocyanins have been identified et quantified. Among them, two molecules of pyranomalvidin-di-(epi)catechin quantified for the first time in a dry red wine. They can be considerated as marker related to oxygen amount consumed by wine. Sensory analyses realized on wine of TPI 76 according to pH show that bitterness is higher at pH 4, and pH 3.5 in a lesser extent. There is the same trend with the oxidation perception.

For the two other wines, of TPI 61 and 63 with ellagitannin fraction, fruity intensity globally decreases with oxygen quantities, while the oxidized parameter is well related to increasing oxygen amounts, as wella s bitterness in a lesser extent.

Mots-clés : Red wine ; oxygen ; acidity ; tannins ; anthocyanins ; pigments ; pyranoanthocyanins ; sensory analyses ; chemical analyses ; kinetic ;

Unité de recherche

Université de Bordeaux, ISVV, EA 4577 Œnologie, F-33 140 Villenave d'Ornon, France
INRA, ISVV, USC 1366 Œnologie, F-33 140 Villenave d'Ornon, France

PUBLICATIONS INTERNATIONALES

Pechamat L., Zeng L., Jourdes M., Ghidossi R., Teissedre P.-L. (**2014**). Occurrence and formation kinetics of pyranomalvidin-procyanidin dimer pigment in merlot red wine: Impact of acidity and oxygen concentrations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62 (7), 1701-1705.

Lorrain B., Ky I., Pechamat L., Teissedre P.-L. (**2013**). Evolution of analysis of polyhenols from grapes, wines, and extracts. **Molecules**, 18 (1), 1076-1100.

Chira K, Jourdes M, Le Floch A, Zeng L, Péchamat L., Teissedre P-L. (**2014**). Compositional and sensory characterization of grape proanthocyanidins and oakwood ellagitannins. **Tethrahedron SI**, submitted. doi:10.1016/j.tet.2015.02.018

CHAPITRES D'OUVRAGES

Ky I., Jourdes M., Le Floch A., Zeng L., Pechamat L., Tannins (2014) Encyclopedia of Food and Health , chapter 683, edited by Caballero, Finglas, and Toldrá, Elsevier, Oxford.

COMMUNCATIONS internationales

Laurent Pechamat, Liming Zeng, Michael Jourdes, Rémy Ghidossi, Pierre-Louis Teissedre. Impact of oxygen and acidity on chemical and sensory properties, and on pyranoanthocyanin kinetics in a Merlot red wine; 36th Congrès OIV 2014 and 11th General Assembly of the *OIV*, Mendoza, Argentina (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin), 9th-14th November 2014.

Laurent Pechamat, Liming Zeng, Michael Jourdes, Rémy Ghidossi, Pierre-Louis Teissedre. Impact of oxygen and acidity on chemical compounds and sensory properties of a Merlot red wine, Congress Macrowine South Africa, Stellenbosch, 7th-10th September 2014.

Laurent Pechamat, Liming Zeng, Michael Jourdes, Rémy Ghidossi, Pierre-Louis Teissedre. Impact of acidity and oxygen concentrations on chemical evolution and pigment formation in merlot red wine, Beaune WAC Congress, France, 26th-28 th March 2014.

Laurent Pechamat, Liming Zeng, Michael Jourdes, Rémy Ghidossi, Pierre-Louis Teissedre. Identification of a polymerized pigment appearing in a Merlot red wine, and its quantity related to acidity and oxygen amounts. *In Vino Analytica Scientia*, Reims, France, 2nd-5th July 2013.

Laurent Pechamat, Liming Zeng, Michael Jourdes, Rémy Ghidossi, Pierre-Louis Teissedre. The effects of the oxygen and of the acidity on the native tannins of the grapes, and on the sensorial quality of a Merlot red wine. In *36nd World Congress of Vine and Wine*, Bucharest, Romania, 2nd-7th June 2013.

Remerciements

Une thèse est un travail qui ne peut s'effectuer seul.

Je tiens à remercier le Professeur Teissèdre pour la confiance qu'il m'a accordée pour mener à bien ce projet, ainsi que son soutien tout au long de ces trois années de parcours.

J'exprime aussi toute ma gratitude envers le Dr. Michael Jourdes, pour toutes les idées et les conseils pertinents qu'il m'aura donnés au long de cette thèse, et qui m'aura plus d'une fois tiré d'un mauvais pas. Sincèrement, merci à lui.

Merci aussi à Christian Poupot, pour l'aide et les conseils qu'il m'a apportés en matière d'oxygénation, ainsi qu'à Rémy Ghidossi, pour sa bienveillance et son aide dans l'aménagement du plan expérimental.

Le projet n'aurait pu subsister sans l'aide financière apportée par le CIVB (« Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux ») et France Agrimer : merci pour leur soutien financier.

Je remercie d'avance tous les membres du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail, ainsi que pour leurs futures critiques et suggestions.

Je remercie également tous les collègues et amis du laboratoire, pour tous les moments et discussions que nous avons pu partager, ainsi que l'aide et les conseils qu'ils ont pu m'apporter : Alex, Kléo, Isa, Liming, Julien, Cindy.

Ce travail a été facilité grâce à l'aide précieuse que m'ont apportée Mihaela, Li et Cindy au cours de leur stage. Je leur souhaite à toute trois une bonne continuation, que ce soit dans la Recherche ou dans leur vie en général.

Je tiens à souligner l'indéfectible courage ainsi que la détermination dont ont fait preuve tous les dégustateurs au cours de ces trois années de travail. Pour le sacrifice de leurs papilles au nom de la science, qu'ils en soient sincèrement remerciés.

J'adresse une pensée particulière à Warren Albertin, pour l'aide précieuse et les conseils qu'elle m'a offerts en matière de traitements statistiques. Sa générosité et sa spontanéité ne seront jamais oubliées.

Merci aussi à Laurent et Marie-Claire pour la disponibilité dont vous avez fait preuve lorsque le besoin était là, ainsi que Patrick pour ton aide et ton soutien.

Merci à Caroline pour le soutien et l'entr'aide dont elle a fait preuve lors de la période de rédaction.

Il est évident que les difficultés sont plus faciles à appréhender lorsque nous nous sentons entourés. Pour cela, je tiens à remercier mes parents ainsi que ma famille, pour leur encouragement et leur soutien. Un petit clin d'œil à la famille Gras pour le bonheur qu'ils véhiculent. Je remercie aussi tous mes amis et proches, avec qui nous partageons les meilleurs moments : Takis, Pascaline, mais aussi Kamel, Marcos, Ian, Antoine, Romain, et Paul. Et toi, ma Lily.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION ET OBJECTIFS ---------- 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ---------- 3

Chapitre I - Elaboration, composition et évolution du vin rouge……3

A. Généralités sur la vinification----------3

B. Utilisation du dioxyde de soufre en œnologie---------- 4

I. Réactions chimiques et mode d'action ---------- 5

1. Comportement du SO_2 en milieu modèle---------- 5
2. Le dioxyde de soufre dans le vin ---------- 6

C. Les composés phénoliques présents dans le vin rouge--------- 11

I. Les acides phénols ---------- 11

1. Les acides hydroxybenzoïques---------- 11
2. Les acides hydroxycinnamiques ---------- 11

II. Les stilbènes ----------13

1. Structures et teneurs dans les vins rouges ----------13
2. Le resvératrol : ses effets sur la santé ---------- 14

III. Les tannins hydrolysables (gallotannins et ellagitannins) ----------15

1. Structures et classification ---------- 16
2. Causes de variabilité dans les teneurs en ellagitannins ----------17
   a) Tissus du bois et taille des cernes----------17
   b) Teneurs relatives à l'âge ---------- 18
   c) Variations inter-espèces---------- 19
   d) Provenance géographique et traitement sylvicole ---------- 20
3. Oakscan : principe et fonctionnement ---------- 22

IV. Les composés flavonoïdes ---------- 24

1. Les flavones ---------- 24
2. Les flavanones ---------- 25
3. Les flavonols ---------- 25
4. Les flavan-3-ols, les procyanidines et les prodelphinidines---------- 26
   a) Les liaisons de type B ---------- 28
   b) Les liaisons de type A---------- 28
   a) Généralités, structures ---------- 29
   b) Couleurs et équilibres ---------- 30

D. Les composés phénoliques et leurs évolutions---------- 33

I. Mécanismes de dégradation des anthocyanes ---------- 33

II. Mécanismes d'évolution et réarrangements moléculaires ---------- 33

1. Réactions de condensations directes---------- 34
   a) Condensation directe anthocyane-tannin (A-T)---------- 34
   b) Condensations directes Tannin-Anthocyane et Tannin-Tannin : ---------- 34
   c) Réactions de condensation entre ellagitannins et polyphénols du vin :---------- 35

2. Réactions indirectes---- 39
a) Les polymérisations par ponts éthyl---- 39
b) Les polymérisations par l'acide glyoxylique ---- 40
c) Formation et propriété des pyranoanthocyanes ---- 41

Chapitre II - Utilisation de l'oxygène au cours de la vinification, de l'élevage ainsi que de la conservation du vin 45

A. L'oxygène : propriétés, comportement, notion de transfert-- 45

I. Généralités---- 45
II. Notion de transfert d'oxygène ---- 46
1. Paramètres influant sur le transfert d'oxygène ---- 46

B. La macro-oxygénation---- 47

C. La micro oxygénation----48

I. Elevage en fûts de chêne---- 49
1. L'apport de l'oxygène par la barrique : pourquoi, comment---- 49
2. Systèmes de supplémentation en oxygène ---- 50
II. Elevages en cuves ---- 50
1. Micro oxygénation par procédés de micro bullage ---- 50
a) Caractéristiques ---- 50
b) Limitations---- 51
2. Micro oxygénation par Flextank® ---- 52

D. La nano oxygénation---- 53

Chapitre III – Les impacts de l'oxygène sur la qualité sensorielle des vins, et les réactions chimiques sous-jacentes..... 54

I. Effets sur la couleur ---- 54
II. Effets sur les aspects gustatif et olfactif---- 55
III. Effets sur les composés moléculaires et réactions chimiques---- 56
1. Génération de l'éthanal---- 56
2. Evolution des pigments et des tannins ---- 56
3. Effets sur les composés volatils---- 57
a) Quantifications---- 57
b) Réactions entre thiols volatils, flavan-3-ols et oxygène ---- 59

MATERIEL & METHODES---- 60

A. Description des plans d'essai----62

I. Vins utilisés---- 62
1. Cépage, millésimes, origine et IPT ---- 62
2. Caractéristiques chimiques ---- 62
II. Modalités et conditions expérimentales---- 64
1. Montage et disposition des bonbonnes en verre ---- 65
2. Démarrage des plans d'expérience---- 65
3. Ajouts contrôlés d'oxygène ---- 66
4. Prélèvements---- 68

B. Statistiques, jeu de données et analyses---------- 68
I. Analyses sensorielles ---------- 69
II. Analyses colorimétriques ---------- 70
1. Analyses classiques ---------- 70
a) Intensité colorante (IC') ---------- 70
b) A_{420} (%), A_{520} (%) et A_{620} (%) ---------- 70
c) Teinte (T) ---------- 70
2. Système CIELab ---------- 71
III. Analyses chimiques ---------- 71
1. Mesures du SO_2 ---------- 71
a) SO_2 libre (méthode de Ripper) ---------- 71
b) SO_2 total ---------- 72
c) SO_2 combiné ---------- 72
2. Dosage des composés phénoliques totaux ---------- 72
3. Dosage des tannins totaux (méthode Bate-Smith) ---------- 72
4. Degré de Polymérisation moyen (DPm) et pourcentage de prodelphinidines ---------- 73
5. Anthocyanes moléculaires ---------- 75
6. Dosage des anthocyanes totales ---------- 76
7. Dosage des anthocyanes polymérisées ---------- 76
8. Cinétiques de pyranoanthocyanes ---------- 77
a) Dosage ---------- 77
b) Identification ---------- 78
IV. Analyses statistiques ---------- 79

RESULTATS & DISCUSSION ---------- 81

A. Essais préliminaires sur un vin rouge de Cabernet sauvignon d'IPT 68 (« moyen »), solutions modèles anthocyanes-monomères de tannins et solutions modèles anthocyanes-tannins oligomères à pH 3,5 ---------- 81
I. Indices colorimétriques ---------- 82
II. Evolution des phénols totaux ---------- 83
III. Evolutions des tannins ---------- 84
1. Tannins totaux ---------- 84
2. Indice DMACH ---------- 85
3. Degré de Polymérisation moyen (DPm) ---------- 87
4. Tannins moléculaires ---------- 88
IV. Evolutions des anthocyanes ---------- 89
V. Analyses sensorielles ---------- 91
VI. Quantités d'oxygène présent dans les bonbonnes ---------- 95
VII. Améliorations apportées pour les essais suivants ---------- 96
Conclusion ---------- 97

B. Consommations d'oxygène en solutions modèles---------- 98
I. Caractéristiques des fractions utilisées ---------- 98
II. Cinétiques de consommation ---------- 100
Conclusion ---------- 101

C. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 61 (« faible ») millésime 2011 ---------- 102

I. Evolution des composés phénoliques totaux ---------- 102
II. Comparaison des teneurs en SO_2 et des consommations d'oxygène ---------- 103
III. Evolution des tannins ---------- 107
1. Tannins totaux ---------- 107
2. Indice DMACH ---------- 108
3. Analyses de Degré de Polymérisation moyen (DPm) ---------- 109
IV. Anthocyanes et indices chromatiques ---------- 110
1. Anthocyanes totales ---------- 110
2. Anthocyanes polymérisées ---------- 113
3. Intensité colorante et teinte ---------- 115
4. Paramètres CIELab ---------- 117
V. Identification et quantification de pyranomalvidine-procyanidine dimères ---------- 119
VI. Analyses sensorielles ---------- 122
Conclusion ---------- 125

D. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 76 (« fort ») millésime 2011 ---------- 127

I. Evolution des composés phénoliques totaux ---------- 128
II. Comparaison des teneurs en SO_2 et des consommations d'oxygène ---------- 129
III. Evolution des tannins ---------- 133
1. Tannins totaux ---------- 133
2. Indice DMACH ---------- 134
3. Analyses de Degré de Polymérisation moyen (DPm) et pourcentage de prodelphinidines ---------- 136
IV. Anthocyanes et indices chromatiques ---------- 137
1. Anthocyanes totales ---------- 137
2. Anthocyanes mléculaires ---------- 138
3. Anthocyanes polymérisées ---------- 141
4. Intensité colorante et teinte ---------- 144
5. Paramètres CIELab ---------- 146
V. Analyses sensorielles ---------- 148
Conclusion ---------- 154

E. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 63 (« faible ») millésime 2013, enrichi en fraction d'ellagitannins ---------- 155

I. Evolution des composés phénoliques totaux ---------- 157
II. Comparaison des teneurs en SO_2 et des consommations d'oxygène ---------- 158
1. Consommations d'oxygène ---------- 158
2. Suivis des cinétiques des SO_2 ---------- 159
III. Etude sur l'évolution des tannins ---------- 161
1. Dosage des tannins totaux ---------- 161
2. Suivis de l'indice DMACH ---------- 162
3. Suivis du DPm et du pourcentage de prodelphinidines ---------- 164
IV. Anthocyanes et indices chromatiques ---------- 166
1. Anthocyanes totales ---------- 166
2. Anthocyanes moléculaires ---------- 167

3. Anthocyanes polymérisées ---- 169
4. Cinétiques de formation des pyranoanthocyanes ---- 172
a) Identification ---- 172
b) Suivis des cinétiques de formation ---- 175
V. Paramètres colorimétriques ---- 178
1. Teinte et Intensité colorante ---- 178
2. Système CIELab ---- 180
VI. Analyses sensorielles ---- 182
Conclusion ---- 187

F. Etude comparative et statistique des trois vins de Merlot d'IPT 61, 63 et 76 en contexte d'apport d'oxygène ---- 189
I. Etudes statistiques sur les consommations d'oxygène et cinétiques de SO_2 ---- 190
II. Etudes statistiques sur les tannins ---- 193
1. Tannins totaux (Bate-Smith) ---- 193
2. Indice DMACH ---- 194
3. Indice Bate-Smith/DMACH (BS/DM) ---- 195
III. Analyses statistiques sur les anthocyanes ---- 197
1. Anthocyanes totales ---- 197
2. Anthocyanes polymérisées ---- 198
IV. Analyses statistiques sur les paramètres colorimétriques ---- 200
1. Intensité colorante, Teinte et contribution du mauve ---- 200
2. Système CIELab ---- 204
3. Reconstitution de la couleur des vins ---- 208
V. Analyses statistiques globales : ACP, parts de variances et corrélations ---- 211
Conclusion ---- 217

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES ---- 219

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ---- 225

Liste des figures

INTRODUCTION ET OBJECTIFS ---------- 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ---------- 3

Chapitre I - Elaboration, composition et évolution du vin rouge 3

A. Généralités sur la vinification ---------- 3

B. Utilisation du dioxyde de soufre en œnologie ---------- 4

Schéma 1 : Le SO_2 et ses formes libres correspondantes en solution 5
Schéma 2 : Initiation de radicals et cycle redox du fer 5
Schéma 3 : Propagation des radicaux sulfite 6
Figure 1 : Courbes de combinaison et constantes de dissociation pour différents composés 7
Schéma 4 : L'oxydation des catéchols et les produits de réaction 7
Schéma 5 : Possible voie d'interaction entre le SO_2 et le peroxyde d'hydrogène 8
Tableau 1 : Répartition des deux formes libres du SO_2, exprimée en pourcentages. 8
Schéma 6 : Inhibition des radicaux peroxomonosulfates ($SO_5^{\cdot-}$) par les cycles catéchols présents dans le vin 9
Schéma 7 : Réactivité possible entre ions bisulfite et quinones 9
Figure 2 : Interactions globales entre les ions bisulfite et les cycles catéchols du vin rouge. 10

C. Les composés phénoliques présents dans le vin rouge ---------- 11

Figure 1 : Structure générale des acides hydroxybenzoïques et leurs noms correspondants 11
Figure 2 : Structure générale des acides hydroxycinnamiques et leurs noms correspondants. 12
Figure 3 : Structure générale des acides hydroxycinnamiques estérifiés à l'acide tartariqueet leurs noms correspondants 12
Figure 4 : Structures des stilbènes majoritaires présents dans les vins rouges. 13
Figure 5 : Concentrations en stilbènes majoritaires dans des cépages millésime 2003 14
Figure 6 : Le précurseur des tannins hydrolysables, un exemple de gallotannin et d'ellagitannin, ainsi que leurs groupements et produits de dégradation associés. 16
Figure 7 : Structures des 8 ellagitannins C-glucosidiques principaux présents dans les bois de chêne 17
Figure 8 : Localisation des différents tissus du bois de chêne. *Q. robur* et *Q. petraea* 17
Figure 9 : Teneurs en ellagitannins des 12 fractions d'âge croissant chez *Q. robur* et *Q. petraea* ... 19
Figure 10 : Teneurs en ellagitannins totaux pour le chêne sessile et le chêne pédonculé 20
Figure 11 : Futaie (à gauche) et taillis sous futaie (à droite). 21
Figure 12 : Effets « région » et « type de peuplement » pour les densités à 280 nm 22
Figure 13 : Corrélations entre mesures Oakscan® et analyses chimiques 23

Figure 14 : Relation entre les Indices phénoliques (IP) déterminés par Oakscan et les teneurs en ellagitannins par analyses chimiques 24
Figure 15 : Structure générale des flavonoïdes 24
Figure 16 : Structures des deux principales flavones présentes dans le vin. 24
Figure 17 : Structures de la naringénine et l'hespérétine. 25
Figure 18 : Structures des aglycones et leurs glycosides correspondants 26
Figure 19 : unités monomères présentes dans les procyanidines et les prodelphinidines 26
Figure 20 : Structures des composés galloylés identifiés dans des vins ou des baies 27
Figure 21 : Les deux types de liaisons pour les procyanidines de type B entre unités de tannins condensés : C4-C8 et C4-C6. 28
Figure 22 : Deux liaisons de type A pour les procyanidines : **C2-C7** et **C2-C5**. 29
Figure 23 : Structure générale des anthocyanes 30
Figure 24 : Evolution des différentes formes d'anthocyanes selon le pH 31
Figure 25 : Structures des différentes formes d'anthocyanes en équilibre dans un milieu 32

D. Les composés phénoliques et leurs évolutions ---------- 33

Figure 1 : Produits de dégradation de la malvidne-3-*O*-glucoside en conditions oxydatives 33
Figure 2 : Condensation directe Anthocyane-Tannin et ses deux évolutions possibles. 34
Figure 3 : Condensation directe Tannin-Anthocyane. 35
Figure 4 : Cinétique d'extraction des ellagitannins en barrique 36
Figure 5 : Structures des différents dérivés d'ellagitannins détectés et quantifiés dans le vin rouge élevé en barrique 37
Figure 7 : Cinétique de formation des produits dérivés de la vescalagine dans un vin élevé en fût de chêne français, chauffe moyenne 38
Figure 8 : Structures de la mongolicaïne A et un analogue de la caméliatannine G. 38
Figure 9 : Mécanismes d'oxydation généraux dans les vins 39
Figure 10 : Formation des ponts éthyl par l'acétaldéhyde 40
Figure 11 : Polymérisations par l'acide glyoxylique et formation de sels xanthylium 41
Figure 12 : Structure générale de pyranoanthocyane 42
Figure 13 : Voie de génération d'une (carboxy)pyranomalvidine. 42
Figure 14 : Réaction de formation des pyranoanthocyanes-vinylflavanols 43
Figure 15 : Absorbances après décoloration croissante au SO_2 44

Chapitre II - Utilisation de l'oxygène au cours de la vinification, de l'élevage ainsi que de la conservation du vin 45

A. L'oxygène : propriétés, comportement et notion de transfert 45

B. La macro-oxygénation ---------- 47

Figure 1 : Apport d'oxygène dans les vins généré par les différents traitements 47

C. La micro oxygénation ---------- 48

Figure 1 : Différences de pression et entrée d'oxygène dans une barrique 49
Figure 2 : Appareillage nécessaire à la micro-oxygénation 51
Figure 3 : Perméabilités des différents modèles Flextank® proposés 52

D. La nano oxygénation ---------- 53

Chapitre III – Les impacts de l'oxygène sur la qualité sensorielle des vins, et les réactions chimiques sous-jacentes..... 54

Figure 1 : Mécanismes d'oxydation généraux dans les vins 56
Figure 2 : Structures de nouveaux pigments 57
Figure 3 : Structures de composés volatils 59

MATERIEL & METHODES---------- 60

A. Description des plans d'essai----------62

Figure 1 : Teneur en ellagitannins moléculaires de la fraction d'ellagitannins 64
Figure 2 : Présentation des bonbonnes sur leur valet 66
Figure 3 : Fonctionnement d'une sonde optique Pst3 66

B. Statistiques, jeu de données et analyses ----------68

Figure 1 : Représentation du modèle CIELab 71

RESULTATS & DISCUSSION ----------81

A. Essais préliminaires sur un vin rouge de Cabernet sauvignon d'IPT 68 (« moyen »), solutions modèles anthocyanes-monomères de tannins et solutions modèles anthocyanes-tannins oligomères à pH 3,5 ---------- 81

Figure 1 : Evolutions des intensités colorantes pour différents apports d'oxygène. **A :** Anthocyanes + monomères ; **B :** Anthocyanes + oligomères. 82
Figure 1 bis : Evolution de l'intensité colorante du vin rouge pour différents apports d'oxygène. 82
Figure 2 : Evolutions de la teinte pour différents apports d'oxygène en fonction du temps **A :** Anthocyanes + monomères ; **B :** Anthocyanes + oligomères 83
Figure 2 bis : Evolution de la teinte du vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps 83
Figure 3 : Evolutions des phénols totaux par dosage de Folin-Ciocalteu pour différents apports d'oxygène en fonction du temps. **A:** Anthocyanes + monomères. **B :** Anthocyanes + oligomères . 84
Figure 3 bis : Evolution des phénols totaux par dosage de Folin-Ciocalteu dans le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps 84
Figure 4 : Evolution des tannins totaux pour différents apports d'oxygène en fonction du temps. **A :** Anthocyanes + monomères. **B :** Anthocyanes + oligomères 85
Figure 4 bis : Evolution des tannins totaux sur le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps 85
Figure 5 : Evolutions de l'indice DMACH pour différents apports d'oxygène en fonction du temps. **A :** Anthocyanes + monomères. **B :** Anthocyanes + oligomères. 86
Figure 5 bis : Evolution de l'indice DMACH sur le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps 86

Figure 6 : Evolutions du DPm pour différents apports d'oxygène en fonction du temps. **A :** Anthocyanes + monomères. **B :** Anthocyanes + oligomères. 87
Figure 6 bis : Evolution du DPm dans le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps 87
Figure 7 : Evolution des tannins moléculaires en solution modèle anthocyanes + monomères de tannins pour différents apports d'oxygène. **A :** sans oxygène. **B :** 8 mg/L. 88
Figure 8 : Evolution des tannins moléculaires dans la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères pour différents apports d'oxygène. **A :** sans oxygène. **B :** 8 mg/L d'O_2. 88
Figure 9 : Evolution des tannins moléculaires dans le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps. **A :** sans oxygène. **B :** 8 mg/L. 89
Figure 10 : Evolution des anthocyanes moléculaires dans la solution anthocyanes + monomères de tannins pour différents apports d'oxygène en fonction du temps. 89
Figure 11 : Evolution des anthocyanes moléculaires dans la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères pour différents apports d'oxygène en fonction du temps 90
Figure 12 : Evolution des anthocyanes moléculaires dans le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps 90
Figure 13 : Analyses sensorielles pour la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins. 91
Figure 14 : Analyses sensorielles pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères. 92
Figure 15 : Analyses sensorielles sur le vin rouge. 94
Figure 16 : Quantités d'oxygène présentes dans les bonbonnes pour différents apports d'oxygène en fonction du temps. **A :** Anthocyanes + monomères de tannins. **B :** Anthocyanes + tannins oligomères. 95
Figure 17 : Quantités d'oxygène présentes dans le vin rouge en fonction du temps 96

B. Consommations d'oxygène en solutions modèles ---------- 98

Figure 1 : Caractéristiques des deux fractions de tannins. **A :** Analyse DPm. **B :** Teneurs en tannins totaux (méthode de Bate-Smith). 99
Figure 2 : Composition en ellagitannins moléculaires de la fraction ellagitannins. 99
Figure 3 : Cinétiques de consommation de l'oxygène pour les fractions étudiées à pH 3. 100
Figure 4 : Cinétiques de consommation de l'oxygène pour les fractions étudiées à pH 4. 101

C. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 61 (« faible ») millésime 2011 ---------- 102

Figure 1 : Evolution des composés phénoliques totaux pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois 103
Figure 2 : Consommation cumulée d'oxygène pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 104
Figure 3 : Cinétiques du SO_2 libre pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 105
Figure 4 : Cinétiques du SO_2 total pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 105
Figure 5 : Cinétiques du SO_2 combiné pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 106
Figure 6 : Cinétiques des tannins totaux pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 107
Figure 7 : Evolutions de l'indice DMACH pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois 108
Figure 8 : Evolutions du DPm pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène sur 4 mois 110

Figure 9 : Cinétiques des anthocyanes totales pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois 111
Tableau 11 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 9. 111
Figure 10 : Cinétiques des anthocyanes moléculaires pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 112
Figure 11 : Cinétiques des anthocyanes polymérisées pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 113
Figure 12 : Evolutions de l'intensité colorante pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 115
Figure 13 : Evolutions de la teinte pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 116
Figure 14 : Evolution des trois composantes L, a et b dans le système CIELab pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 117
Figure 15 : Chromatogrammes à 280 nm entre 49 et 52 minutes. 119
Figure 16 : Fragments détectés résultant des analyses MS^3 120
Figure 17 : Voie de fragmentation proposée 120
Figure 18 : Quantification des deux pyranomalvidine-procyanidine dimères pour le vin d'IPT 61 après 4 mois d'apports d'oxygène variables 122
Figure 19 : Analyse sensorielle au départ de l'expérience pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables 123
Figure 20 : Analyses sensorielles au premier mois pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables. 123
Figure 21 : Analyses sensorielles au deuxième mois pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables. 123
Figure 22 : Analyses sensorielles au troisième mois pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables. 124
Figure 23 : Analyses sensorielles au quatrième mois pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables. 124

D. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 76 (« fort ») millésime 2011 ----------127

Figure 1 : Cinétiques des teneurs en phénols totaux (Folin-Ciocalteu) pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 128
Figure 2 : Consommations d'oxygène cumulées pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 129
Figure 3 : Cinétiques du SO_2 libre pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 130
Figure 4 : Cinétiques du SO_2 total pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 131
Figure 5 : Evolutions du SO_2 combiné pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 132
Figure 6 : Evolutions des tannins totaux (Bate-Smith) pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois 134
Figure 7 : Evolutions de l'indice DMACH pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois 135
Figure 8 : Evolutions des DPm pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène sur 4 mois 136
Figure 9 : Evolution du pourcentage de prodelphinidines pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois 137
Figure 10 : Teneurs en anthocyanes totales pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois 138
Figure 11 : Evolutions des anthocyanes moléculaires (dosage HPLC) à pH 3 sur 4 mois. 139

Figure 12 : Evolutions des anthocyanes moléculaires (dosage HPLC) à pH 3,5 sur 4 mois. 139
Figure 13 : Evolutions des anthocyanes moléculaires (dosage HPLC-UV) pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 140
Figure 14 : Evolution des anthocyanes polymérisées pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.....142
Figure 15 : Evolutions de l'intensité colorante pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.....144
Figure 16 : Evolutions de la teinte pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 145
Figure 17 : Evolutions des paramètres L, a et b dans le système CIELab pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 146
Figure 18 : Analyses sensorielles au commencement de l'expérience pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables 148
Figure 19 : Analyses sensorielles au premier mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables..... 149
Figure 20 : Préférences sur la modalité sans oxygène au premier mois. 149
Figure 21 : Analyses sensorielles au deuxième mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables. 150
Figure 22 : Analyses sensorielles au troisième mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables. 151
Figure 23 : Analyses sensorielles au quatrième mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables. 152
Figure 24 : Analyses sensorielles au quatrième mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables.....153
Figure 25 : Préférences au quatrième mois. 153

E. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 63 (« faible ») millésime 2011, enrichi en fraction d'ellagitannins ---------- 155

Figure 1 : Composition en ellagitannins moléculaires de la fraction d'ellagitannins. 156
Figure 2 : Evolution des composés phénoliques totaux dans le vin d'IPT 63 au cours de 4 mois (indice de Folin-Ciocalteu) pour des apports variables d'oxygène 157
Figure 3 : Suivis des consommations cumulées d'oxygène pour le vin d'IPT 63 au cours des 4 mois. 158
Figure 4 : Cinétiques du SO_2 libre pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 159
Figure 5 : Cinétiques du SO_2 total pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 160
Figure 6 : Cinétiques du SO_2 combiné pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 161
Figure 7 : Evolution des teneurs en tannins totaux (méthode Bate-Smith) pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 162
Figure 8 : Evolutions de l'indice DMACH pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.....163
Figure 9 : Evolution du DPm pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène sur 4 mois. 164
Figure 10 : Evolutions du pourcentage de prodelphinidines pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.....165
Figure 11 : Evolution des anthocyanes totales pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois..... 166
Figure 12 : Evolution des anthocyanes moléculaires à pH 3 dans le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.....167

Figure 13 : Evolution des anthocyanes moléculaires à pH 3,5 dans le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois..... 168
Figure 14 : Evolution des anthocyanes moléculaires à pH 4 dans le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois..... 168
Figure 15 : Evolution des anthocyanes polymérisées dans le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.....171
Figure 16 : Chromatogrammes obtenus lors de la quantification des 13 pyranoanthocyanes.....174
Figure 17 : Cinétiques de formation des pyranoanthocyanes pour un vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois à pH 3. 175
Figure 18 : Cinétiques de formation des pyranoanthocyanes pour un vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois à pH 3,5.....176
Figure 19 : Cinétiques de formation des pyranoanthocyanes pour un vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois à pH 4. 176
Figure 20 : Evolution de l'intensité colorante pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.....179
Figure 21 : Evolution de la teinte pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois. 179
Figure 22 : Evolution des composantes L, a, b pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois..... 181
Figure 23 : Analyses sensorielles au commencement de l'expérience pour le vin d'IPT 63.....183
Figure 24 : Analyses sensorielles au premier mois pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables.....183
Figure 25 : Analyses sensorielles au deuxième mois pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables.....184
Figure 26 : Analyses sensorielles au troisième mois pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables.....184
Figure 27 : Analyses sensorielles au quatrième mois pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables.....185
Figure 28 : Analyses de préférence sur les vins d'IPT 63 au quatrième mois. 185

F. Etude comparative et statistique des trois vins de Merlot d'IPT 61, 63 et 76 en contexte d'apport d'oxygène ----------189

Figure 1 : Self Organizing Map sur l'oxygène consommé mensuel lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 190
Figure 2 : SOM sur le SO_2 libre lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 191
Figure 3 : Tests de corrélation entre oxygène cumulé et teneurs en SO_2 libre. 192
Figure 4 : Self Organizing Map sur les tannins totaux (méthode Bate-Smith) lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 194
Figure 5 : Self Organizing Map sur l'indice DMACH lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 195
Figure 6 : Self Organizing Map sur l'indice BS/DM lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 196
Figure 7 : Self Organizing Map sur les anthocyanes totales lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 197
Figure 8 : Self Organizing Map sur les pourcentages d'anthocyanes libres lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 198
Figure 9 : Self Organizing Map sur les pourcentages d'anthocyanes + tannins polymères lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 199
Figure 10 : Self Organizing Map sur l'intensité colorante lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 201
Figure 11 : Self-Organizing Map sur la teinte lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 202

Figure 12 : Self-Organizing Map sur le pourcentage de contribution du mauve lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 204
Figure 13 : Self-Organizing Map sur la composante de luminosité (L) lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 205
Figure 14 : Self-Organizing Map sur la composante rouge (a) lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 206
Figure 15 : Self-Organizing Map sur la composante jaune (b) lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot 207
Figure 16 : Reconstitution chromatique au cours des 4 mois d'apports d'oxygène pour les vins de Merlot, analysés en cuve quartz 1 mm. 210
Figure 17 : Représentation d'Analyse en Composante Principale (ACP) pour les variables analyses chimiques dans des vins de Merlot lors d'apports d'oxygène. 212
Figure 18 : Représentation graphique des analyses de parts de variation(ANOVAs). 213
Figure 19 : Graphe de corrélations entre les différentes variables. 216

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES ---------- 219

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ---------- 225

Liste des tableaux

INTRODUCTION ET OBJECTIFS ---------- 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE ---------- 3

Chapitre I - Elaboration, composition et évolution du vin rouge..... 3

A. Généralités sur la vinification ---------- 3

B. Utilisation du dioxyde de soufre en œnologie ---------- 4

C. Les composés phénoliques présents dans le vin rouge ---------- 11

Tableau 1 : Concentrations des différents composés trouvés dans des vins rouges commerciaux. 12

Tableau2 : Teneurs en ellagitannins pour chaque tissu du bois de *Q. robur* et *Q. petraea*. **F :** Fibres ; **BP :** Bois de Printemps ; **BE :** Bois d'Eté ; **RL :** Rayons Ligneux. 18

D. Les composés phénoliques et leurs évolutions ---------- 33

Tableau 1 : Coefficients d'extinction de quelques (carboxy)pyranoanthocyanes comparativement avec la malvidine-3-*O*-glucoside 44

Chapitre II - Utilisation de l'oxygène au cours de la vinification, de l'élevage ainsi que de la conservation du vin 45

A. L'oxygène : propriétés, comportement et notion de transfert 45

Tableau 1 : Concentrations à saturation de l'oxygène pur dans de l'eau, en fonction de la température. 45

B. La macro-oxygénation ---------- 47

C. La micro oxygénation ---------- 48

Tableau 1 : Gradient de concentration en oxygène d'un vin rouge laissé au contact de l'atmosphère 52

D. La nano oxygénation ---------- 53

Tableau 1 : Perméabilité à l'oxygène de différents types de bouchons 53

Chapitre III – Les impacts de l'oxygène sur la qualité sensorielle des vins, et les réactions chimiques sous-jacentes..... 54

Tableau 1 : Quantifications de différents composés volatils pour les cépages de Tempranillo et de Cabernet Sauvignon, pour des vins témoins ou micro-oxygénés..... 58

MATERIEL & METHODES---------- 60

A. Description des plans d'essai----------62

Tableau 1 : Caractéristiques et composition chimique des vins utilisés..... 63
Tableau 2 : Composition chimique de la fraction d'anthocyanes utilisée dans les solutions modèles 63
Tableau 3 : Nombre de réplicats biologiques utilisés pour chaque modalité 64

B. Statistiques, jeu de données et analyses ----------68

Tableau 1 : Suivis et analyses chimiques effectués..... 68
Tableau 2 : Gradient d'élution pour le DPm et le pourcentage de prodelphinidines 74
Tableau 3 : Composés formés lors de la phloroglucinolyse et masses moléculaires d'ionisation spécifique. 74
Tableau 4 : Gradient d'élution pour l'identification et la quantification des anthocyanes 75
Tableau 5 : Limites de détection et quantification des composés étudiés, répétabilité et reproductibilité de la méthode CLHP-UV..... 76
Tableau 6 : Gradient de solvants utilisé..... 77
Tableau 7 : Gradient d'élution pour les analyses Q-TOF..... 78
Tableau 8 : Abondances relatives des différents isotopes (Couchoud, 2008)..... 79

RESULTATS & DISCUSSION ----------81

A. Essais préliminaires sur un vin rouge de Cabernet sauvignon d'IPT 68 (« moyen »), solutions modèles anthocyanes-monomères de tannins et solutions modèles anthocyanes-tannins oligomères à pH 3,5 ---------- 81

Tableau 1 : Composition de départ des différentes solutions..... 81
Tableau 2 : Résultat des ANOVAs à 4 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins avec des apports d'oxygène variables 92
Tableau 3 : Résultat des ANOVAs à 8 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins avec des apports d'oxygène variables 92
Tableau 4 : Résultat des ANOVAs à 12 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins avec des apports d'oxygène variables 92
Tableau 5 : Résultat des ANOVAs à 4 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères avec des apports d'oxygène variables..... 93
Tableau 6 : Résultat des ANOVAs à 8 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères avec des apports d'oxygène variables..... 93
Tableau 7 : Résultat des ANOVAs à 12 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères avec des apports d'oxygène variables..... 93

Tableau 8 : Résultat des ANOVAs à 4 semaines sur les différents descripteurs pour le vin rouge avec des apports d'oxygène variables 94
Tableau 9 : Résultat des ANOVAs à 8 semaines sur les différents descripteurs pour le vin rouge avec des apports d'oxygène variables 94
Tableau 10 : Résultat des ANOVAs à 12 semaines sur les différents descripteurs pour le vin rouge avec des apports d'oxygène variables 94

B. Consommations d'oxygène en solutions modèles ---------- 98

Tableau 1 : Composition de la fraction d'anthocyanes. 99

C. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 61 (« faible ») millésime 2011 ---------- 102

Tableau 1 : Composition du vin de départ. 102
Tableau 2 : Caractéristiques du vin de départ. 102
Tableau 3 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 1. 103
Tableau 4 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 2. 104
Tableau 5 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 3. 105
Tableau 6 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 4 106
Tableau 7 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 5. 106
Tableau 8 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 6 108
Tableau 9 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 7 109
Tableau 10 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 8 110
Tableau 11 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 9 111
Tableau 12 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 10. 112
Tableau 13 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 11. 114
Tableau 14 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 12. 115
Tableau 15 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 13. 116
Tableau 16 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 14 117
Tableau 17 : Résultats des analyses de masse exactive Q-TOF en mode MS/MS 121

D. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 76 (« fort ») millésime 2011 ---------- 127

Tableau 1 : Composition de départ du vin d'IPT 76. 128
Tableau 2 : Caractéristiques de départ du vin d'IPT 76. 128
Tableau 3 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 1. 129
Tableau 4 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 2. 130
Tableau 5 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 3. 131
Tableau 6 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 4. 132
Tableau 7 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 5. 132
Tableau 8 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 6. 134
Tableau 9 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 7. 135
Tableau 10 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 8. 136
Tableau 11 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 9 137
Tableau 12 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 10 138
Tableau 13 : Analyses statistiques se rapportant aux figures 11, 12 et 13. 140
Tableau 14 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 14. 142
Tableau 15 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 15. 144
Tableau 16 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 16. 145

Tableau 17 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 17.....146

E. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 63 (« faible ») millésime 2011, enrichi en fraction d'ellagitannins---------- 155

Tableau 1 : Composition de la fraction d'anthocyanes.....156
Tableau 2 : Composition de départ du vin d'IPT 63. 156
Tableau 3 : Caractéristiques de départ du vin d'IPT 63.....157
Tableau 4 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 2. 157
Tableau 5 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 3. 158
Tableau 6 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 4.....159
Tableau 7 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 5. 160
Tableau 8 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 6..... 161
Tableau 9 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 7. 162
Tableau 10 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 8. 163
Tableau 11 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 9. 164
Tableau 12 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 10. 165
Tableau 13 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 11. 166
Tableau 14 : Analyses statistiques se rapportant aux figures 12, 13 et 14. 169
Tableau 15 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 15.....170
Tableau 16 : Identification de pyranoanthocyanes par analyses Q-TOF.....173
Tableau 17 : Analyses statistiques se rapportant aux figures 16, 17 et 18.....177
Tableau 18 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 19. 179
Tableau 19 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 20. 180
Tableau 20 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 21..... 181

F. Etude comparative et statistique des trois vins de Merlot d'IPT 61, 63 et 76 en contexte d'apport d'oxygène----------189

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES---------- 219

Tableau 1 : Synthèse des effets induits par les doses d'oxygène sur certains paramètres pour le vin d'IPT 61. 223
Tableau 2 : Synthèse des effets induits par les doses d'oxygène sur certains paramètres pour le vin d'IPT 76. 224
Tableau 3 : Synthèse des effets induits par les doses d'oxygène sur certains paramètres pour le vin d'IPT 63 + fraction d'ellagitannins. 224

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ---------- 225

Introduction et Objectifs

Tout au long des étapes de vinification, ainsi que lors de la maturation des vins rouges, l'oxygène apporte sa contribution à la qualité du vin. En effet, que ce soit lors des soutirages au cours de la vinification, ou lors d'une mise en barrique au cours de l'élevage, l'oxygène est à même d'entrer en contact et de se dissoudre dans le vin pour, ensuite, engendrer des réactions chimiques au niveau des composés présents dans le vin.

Des impacts positifs sont imputés à l'oxygène dans le vin, tels que la réduction d'odeurs de réduit ainsi que du végétal, une stabilisation de la couleur, et une amélioration de la structure du vin par une diminution de la perception d'astringence. De ce fait, dans certaines pratiques de vinification, des quantités d'oxygène voulues sont volontairement ajoutées, généralement au cours de la fermentation alcoolique.

En effet, les levures *Saccharomyces*, qui sont responsables de la transformation du glucose en éthanol lors de la fermentation alcoolique, ont besoin d'oxygène pour synthétiser leurs stérols membranaires, stérols indispensables dans la fluidité membranaire et le bon fonctionnement des enzymes présentes dans la membrane cellulaire (Valero et al., 2001; Gómez-Plaza and Cano-López, 2011).

Au niveau des constituants chimiques du vin, l'oxygène peut induire la formation de pigments liés par ponts éthyl, ainsi que la formation de pyranoanthocyanes, plus résistantes à la décoloration par le SO2, ce qui induit une stabilisation de la couleur (He et al., 2010). De plus, la polymérisation excessive sous forme de ponts éthyl entre tannins peut les rendre insolubles et, ainsi, diminuer l'astringence perçue (Es-Safi et al., 1999a; Gómez-Plaza and Cano-López, 2011).

Cependant, il est clair que la maîtrise d'une bonne micro-oxygénation reste difficile. En effet, chaque vin, en fonction de sa concentration en polyphénols, ainsi que de sa teneur en SO_2 aura des besoins en oxygène différents pour atteindre son optimum organoleptique. Les polyphénols sont les consommateurs principaux de l'oxygène (60 %), suivis par le SO_2 (20 %) et l'éthanol (12 %) (Devatine et al., 2007). Comme démontré par une étude de Cano-López et al. en 2008, un vin à faible teneur en polyphénols aura davantage tendance à souffrir d'une micro-oxygénation. De plus, un vin rouge avec une teneur faible en anthocyanes libres est plus susceptible de devenir sec au niveau tannique, par une polymérisation excessive des tannins présents. Une surestimation de l'oxygène à apporter peut donc être catastrophique pour le producteur, amenant les caractéristiques suivantes : perte de fraîcheur aromatique (fruits cuits, pomme verte, chocolat, pruneau, noix), sécheresse tannique. A d'autres niveaux, la prolifération de bactéries indésirables, telles que *Brettanomyces* et les bactéries acétiques peut être engendrée (du Toit et al., 2006).

Les objectifs des travaux de recherche menés au cours de cette thèse sont :

1) d'apprécier les conséquences engendrées par l'addition de doses d'oxygène connues dans des vins rouges de Bordeaux, pour différentes teneurs en composés phénoliques (faible, moyen et fort).

2) d'apprécier les conséquences engendrées par l'addition de doses d'oxygène connues dans des vins rouges de Bordeaux pour une variation de pH des vins étudiés (ajusté à 3 pH différents : 3, 3,5 et 4) afin d'évaluer l'impact de l'acidité en fonction des quantités d'oxygène apportées à chaque vin.

3) d'apprécier les conséquences engendrées par l'addition de doses d'oxygène connues dans des vins rouges de Bordeaux pour un apport d'extrait d'ellagitannins dans un vin ajusté à 3 pH différents (3, 3,5 et 4) afin d'évaluer l'impact des ellagitannins en fonction des quantités d'oxygène apportées à chaque vin.

Pour chaque vin et chaque pH, des doses de 0 (témoin), 2, 8 et 20 mg/L d'oxygène sont apportées et maintenues chaque semaine pour une durée de quatre mois. Afin de suivre les évolutions des différentes modalités, chaque mois, des prélèvements d'échantillons sont effectués pour la réalisation d'analyses chimiques et sensorielles et disposer des impacts des différentes conditions au cours du temps.

Synthèse bibliographique

Chapitre I - Elaboration, composition et évolution du vin rouge

A. Généralités sur la vinification

Les raisins utilisés pour l'élaboration d'un vin rouge sont riches en composés phénoliques. Ces composés se retrouvent ensuite dans le vin principalement par l'étape de macération, où ils sont extraits à partir des pellicules et des pépins. Tout au long de la vinification, ils subissent des évolutions ainsi que des transformations chimiques, induisant de ce fait des modifications organoleptiques dans le vin rouge.
Les principaux composés sont les anthocyanes et les tannins. Les anthocyanes sont responsables de la couleur des vins rouges, tandis que les tannins donnent les propriétés sensorielles telles que l'astringence et l'amertume. Ceux-ci constituent ce que l'on appelle le « corps » du vin rouge (Brouillard and Dubois, 1977; Vidal et al., 2003, 2004).

Le vin rouge est issu de la fermentation alcoolique, à laquelle succède généralement la fermentation malo-lactique du moût.
La fermentation alcoolique est réalisée par les levures appartenant au genre *Saccharomyces*. Plusieurs espèces sont connues, comme *S. cerevisiae, S. bayanus, S. pastorianus*. Les baies contiennent à leur surface des levures, des bactéries acétiques ainsi que des bactéries lactiques. Du fait de la forte teneur en sucre des moûts, les levures sont les plus adaptées à ce milieu et vont pouvoir commencer la fermentation alcoolique.
Le transport des hexoses présents dans le moût (glucose et fructose) à l'intérieur de la membrane plasmique s'effectue à l'aide de protéines. Cependant, un gradient étant présent (forte concentration dans le moût et faible dans la cellule) ce système ne requiert pas d'énergie (Ribéreau-Gayon et al., 2006). La glycolyse s'effectue dans le cytosol, et transforme le glucose en éthanol, comme indiqué dans la réaction 1 (Edwards and Beelman, 1989).

Réaction 1 $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ CH_3CH_2OH + 2\ CO_2$

La fermentation alcoolique spontanée, qui consiste à laisser démarrer la fermentation à l'aide des souches de levures déjà présentes sur les baies, est aujourd'hui moins utilisée. Il devient de plus en plus courant d'ensemencer les moûts avec des souches commerciales pures bien définies (Reed et Chen, 1978).
Au cours de la fermentation alcoolique, une faible quantité d'acide acétique peut être formée, entre 100 et 300 mg/L pour des raisins sains contenant moins de 220 g/L de sucres. Les conditions de fermentation et les souches de levures peuvent influencer la production d'acide acétique, plutôt indésirable pour le produit. Lors de cette étape, les levures sont aussi

capables de dégrader l'acide malique, entre 10 et 25 % selon la souche. Cette dégradation augmente avec l'acidité. Le métabolite résultant est l'acide pyruvique, qui sera ensuite décarboxylé en éthanal puis réduit en éthanol.

Lorsque la teneur en éthanol commence à devenir importante, la population de levures diminue, contrairement à celle des bactéries lactiques qui va augmenter pour permettre à la fermentation malo-lactique de se réaliser.

En réalité, pour ce processus, le terme de fermentation est inapproprié, puisque la transformation de l'acide L-malique en acide L-lactique se fait par décarboxylation. Ce terme a été donné car la décarboxylation relargue des bulles de CO_2, faisant penser à une fermentation (Lonvaud-Funel, 1999).

La fermentation malo-lactique, par transformation de l'acide L-malique en acide L-lactique, diminue l'acidité totale. Au niveau des arômes, des changements s'opèrent aussi. Il est admis que les arômes variétaux, révélés après la fermentation alcoolique ont tendance à disparaître, ou à changer. Ainsi, pour les vins rouges légers et certains vins blancs, dont la légèreté et la fraîcheur sont recherchées et caractérisées par leurs arômes variétaux, il est déconseillé d'effectuer la fermentation malo-lactique. Cependant, cette étape peut améliorer les propriétés organoleptiques du vin en augmentant le fruité et en diminuant les notes de réduit (en nez, en bouche ou les deux). Dans les vins rouges, elle stabilise la couleur et diminue l'astringence en favorisant les réactions entre tannins et anthocyanes, comme expliqué dans la synthèse bibliographique, partie D-II-2 (Lonvaud-Funel, 1999).

B. Utilisation du dioxyde de soufre en œnologie

Le dioxyde de soufre (SO_2) est couramment utilisé en œnologie, du fait de ses propriétés antimicrobiennes, qui peuvent s'exprimer sous ses formes libres ou combinées (Wells and Osborne, 2012). L'efficacité de cette activité anti microbienne est cependant modulée par l'acidité, puisqu'elle diminue avec une augmentation de pH (Lonvaud-Funel, 1999; Wells and Osborne, 2012). Du fait de ces propriétés, le SO_2 peut être ajouté en début, en cours, ou en fin de fermentations. Dans les vins rouges, c'est après la fermentation malo-lactique, opérée par les bactéries lactiques, que le SO_2 est ajouté (Lonvaud-Funel, 1999). Les quantités ajoutées varient entre 30 et 60 mg/L (Ribéreau-Gayon et al., 2012). Cependant, 1/3 de cette quantité ajoutée sera combinée, principalement avec l'acétaldéhyde. Pour avoir une action fongistatique, 35 mg/L de SO_2 actif doivent être présents. 60 mg/L sont nécessaires pour une action fongicide. Il est donc nécessaire d'avoir des quantités comprises entre 35 et 60 mg/L, sachant que 1 mg/L d'oxygène dissous consomme 4 mg/L de SO_2 libre.

I. Réactions chimiques et mode d'action

1. Comportement du SO_2 en milieu modèle

Une fois mis en solution, le SO_2 change de forme et ce, en fonction du pH de cette solution. Dans le cadre du vin, dont le pH est compris entre 3 et 4, le SO_2 libre se retrouve en majeure partie sous la forme bisulfite HSO_3^-, puisque le pKa de cette réaction est de 1,86 (schéma 1). Cependant, une proportion infime est aussi présente sous la forme H_2SO_3 (schéma 1). Cette proportion diminue d'autant plus que le pH du vin augmente. A titre d'exemple, de pH 3,5 à pH 4, la proportion d'ions bisulfites HSO_3^- passe de 96,3 à 98,8 % (Barbe, 2000).

$$H_2O + SO_2 \Rightarrow H_2SO_3 \underset{}{\rightleftharpoons} \underset{pKa = 1,86}{HSO_3^- + H^+} \underset{}{\rightleftharpoons} \underset{pKa = 7,2}{SO_3^{2-} + 2H^+}$$

Schéma 1 : Le SO_2 et ses formes libres correspondantes en solution (Danilewicz, 2007a)

En réalité, il a été démontré que le dioxyde de soufre seul, en solution modèle et en présence de fer, est source d'auto-oxydation par la génération de radicaux libres, tels que le radical sulfite $SO_3^{\bullet -}$. Comme on peut le voir sur le schéma 2, où le complexe hexa-aqueux fer(III) est utilisé en tant qu'exemple, le transfert d'électrons qui s'opère résulte en la réduction du fer(III) en fer(II) (ou ferreux) et la production d'un radical bisulfite $SO_3^{\bullet -}$. Certains composés présents dans le vin, comme l'acide tartrique et autres acides α-hydroxy (ou carboxyliques, tels que décrits dans ce chapitre I, partie C-I), peuvent se lier au fer(III) (Yokoi et al., 1994) et former par la suite des complexes avec l'ion bisulfite tel que décrit schéma 2. Le fer(II) est par la suite réoxydé à son état ferrique fe(III) par des produits dérivés du dioxygène, tels que le radical peroxomonosulfate $SO_5^{\bullet -}$, restaurant ainsi la fonction catalytique du fer (Danilewicz, 2007a) (schéma 2).

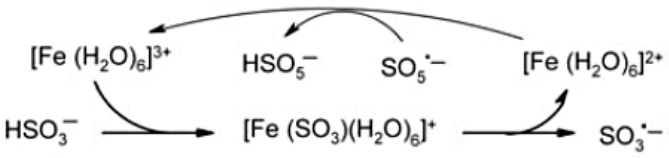


Schéma 2 : Initiation de radicals et cycle redox du fer (Danilewicz, 2007a)

Une fois le radical sulfite formé, toujours en l'absence de composés phénoliques, celui-ci va entrer dans d'autres réactions mettant en jeu la présence de dioxygène O_2, telles que décrites sur le schéma 3.

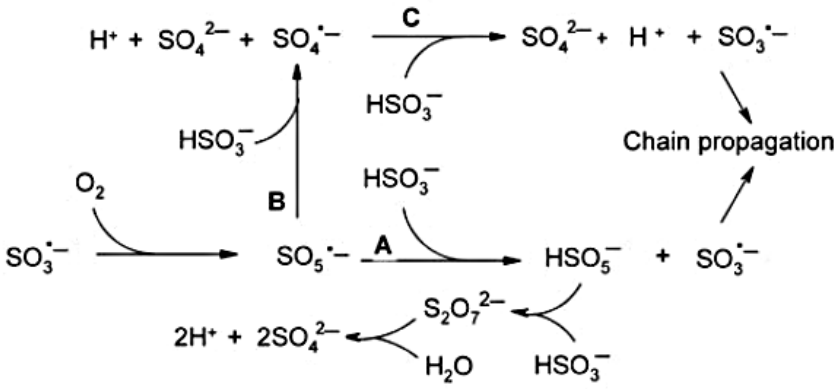


Schéma 3 : Propagation des radicaux sulfite (Danilewicz, 2007a)

Le radical sulfite va réagir rapidement avec l'oxygène dissous et aboutir à la formation du radical peroxomonosulfate $SO_5^{\cdot -}$ (Brandt and Van Eldik, 1995; Danilewicz, 2007a) (schéma 3). C'est notamment ce radical qui régénère le fer(II) en fer(III) comme expliqué sur le schéma précédent (schéma 2), participant ainsi à l'oxydation de l'ion bisulfite. Ce même radical va réagir, comme montré sur le schéma 3, avec l'ion bisulfite, générant un radical sulfite et un ion peroxomonosulfate. Ce dernier va réagir avec un ion bisulfite pour aboutir à la formation d'ions sulfate (SO_4^{2-}). Ce qui est important de retenir, c'est la formation du radical sulfite $SO_3^{\cdot -}$, puisque celui-ci va à nouveau pouvoir entrer en réaction avec l'oxygène O_2, générant à nouveau la réaction A. La deuxième voie possible est la voie réactionnelle B+C, où le radical peroxomonosulfate $SO_5^{\cdot -}$ va réagir avec un ion bisulfite HSO_3^- pour aboutir à la formation d'un radical sulfate $SO_4^{\cdot -}$. Ce dernier va à son tour réagir avec un ion bisulfite pour générer un radical sulfite $SO_3^{\cdot -}$ (schéma 3).

Si l'on pose un regard général sur l'ensemble des réactions des schémas 2 et 3, il devient clair que la présence d'ions bisulfite HSO_3^-, de fer(III) et de dioxygène O_2 dissous dans un milieu modèle a pour finalité de consommer les ions bisulfite pour générer des radicaux sulfites $SO_3^{\cdot -}$, entraînant un processus d'auto oxydation du dioxyde de soufre. Ces réactions sont confirmées par des expériences en laboratoire menées en solution modèle (Danilewicz, 2007a).

2. Le dioxyde de soufre dans le vin

Le dioxyde de soufre peut se combiner à des composés carbonylés présents dans le vin, tels que l'acétaldéhyde, l'acide galacturonique, l'acide α-kétoglucarique, l'acide pyruvique, l'acétoïne, mais aussi avec le glucose (Barbe, 2000; Jackowetz and Mira de Orduña, 2013).
Cependant, comme montré sur la figure 1, les ions bisulfite réagissent de manière préférentielle et plus forte avec l'éthanal : la constante de dissociation pour ce couple est très faible. Plus cette constante sera forte, et plus l'ion bisulfite lié au composé sera capable de se re-dissocier lorsque la concentration en ion bisulfite diminue dans le milieu (Barbe, 2000; Danilewicz, 2007a).

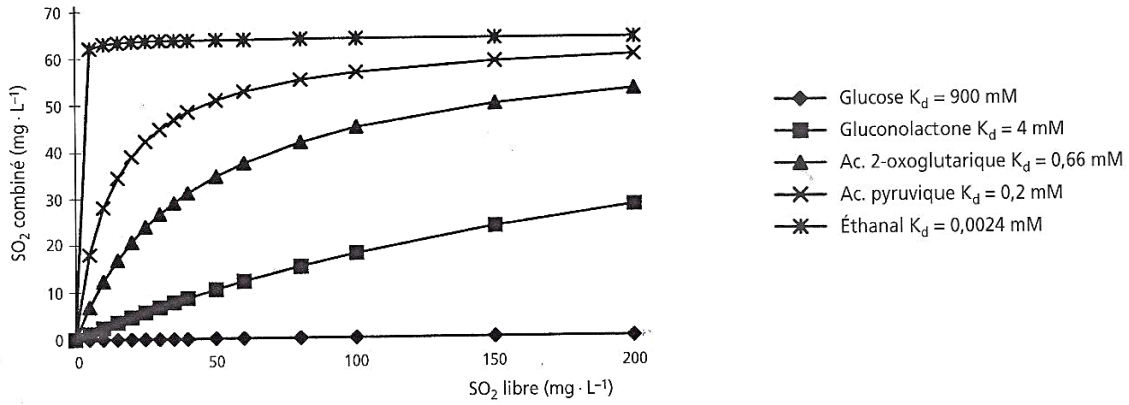


Figure 1 : Courbes de combinaison et constantes de dissociation (Kd) pour différents composés (Barbe, 2000)

L'oxygène va entraîner des réactions chimiques d'oxydation par l'intermédiaire des polyphénols. Afin que ces réactions se produisent, la présence de fer(III) et de cuivre(II) est nécessaire (schéma 4). L'oxydation des cycles catéchols par une molécule de dioxygène O_2 aboutit à la formation de deux quinones et une molécule de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui va, à son tour, oxyder l'éthanol en éthanal pouvant mener à d'autres réactions, comme des polymérisations (voir figure 9, partie D, II-2).

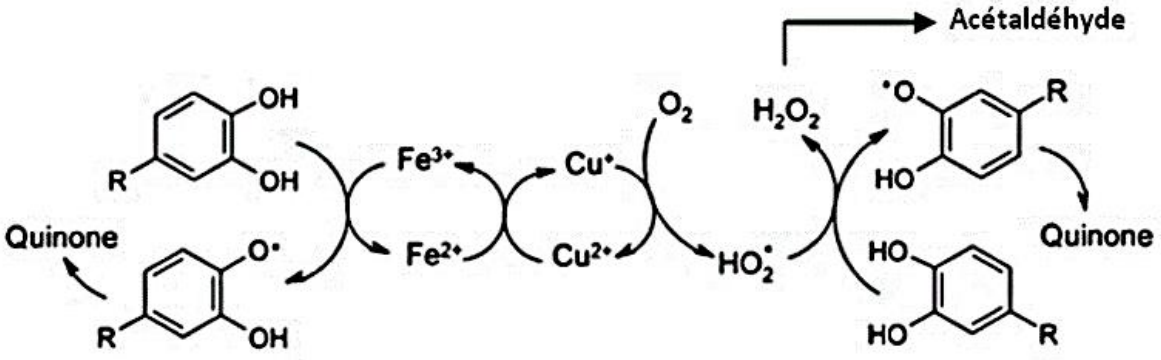


Schéma 4 : L'oxydation des catéchols et les produits de réaction (d'après Danilewicz, 2007)

Il a été postulé par Wildenradt et Singleton, en 1974, que l'action antioxydante du dioxyde de soufre se produirait par une fonction de compétition entre celui-ci et l'éthanol. Finalement, une interaction entre le peroxyde d'hydrogène et l'ion bisulfite a été mise en évidence par Danilewicz en 2007, qui démontre dans une solution modèle enrichie en (+)-catéchine que le SO_2 libre diminue plus fortement, dû à la réaction avec le peroxyde d'hydrogène formé lors de l'oxydation de la (+)-catéchine. Le mécanisme proposé est décrit sur le schéma 5 : en milieu acide, l'ion bisulfite se réarrange avec le peroxyde d'hydrogène pour aboutir à la présence d'ions sulfate SO_4^{2-}. Cette voie réactionnelle a été démontrée comme étant dépendante de l'acidité (McArdle and Hoffmann, 1983; Brandt and Van Eldik, 1995).

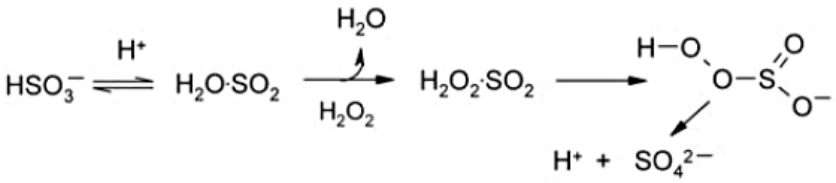


Schéma 5 : Possible voie d'interaction entre le SO_2 et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Danilewicz, 2007a)

C'est ce mécanisme qui serait, par conséquent, responsable de la protection du vin contre l'oxydation par le dioxyde de soufre. De ce fait, l'acidité du vin a un rôle important dans la capacité du SO_2 à fixer le peroxyde d'hydrogène et protéger le vin contre l'oxydation. Le tableau 1 montre les pourcentages de SO_2 moléculaire ($H_2O.SO_2$) et d'ions bisulfites (HSO_3^-) en fonction du pH.

Cependant, il faut préciser un détail supplémentaire. Le dioxyde de soufre seul, en présence d'ions fer(III) et de dioxygène O_2, génère des radicaux sulfite $SO_3^{\circ-}$. Ce fait reviendrait à dire que le SO_2 est un oxydant, ce qui est impossible au vu de son utilisation en œnologie.

Tableau 1 : Répartition des deux formes libres du SO_2, exprimée en pourcentages.

pH	SO_2 moléculaire ($H_2O.SO_2$)	HSO_3^-
3	6,06	94,94
3,1	4,88	95,12
3,2	3,91	96,09
3,3	3,13	96,87
3,4	2,51	97,49
3,5	2,00	98,00
3,6	1,60	98,40
3,7	1,27	98,73
3,8	1,01	98,99
3,9	0,81	99,19
4,0	0,64	99,36

L'explication tient dans le fait que le vin est une matrice complexe, comprenant une grande quantité de cycles catéchols. Danilewicz explique que les cycles catéchols présents principalement dans les vins rouges ont un rôle d'inhibition dans la propagation des radicaux que devrait générer le dioxyde de soufre, tel que décrit précédemment dans le schéma 3. Le mode de protection généré par les polyphénols est décrit sur le schéma 6. Les cycles catéchols réagissent avec le radical peroxomonosulfate $SO_5^{\circ-}$, impliqué dans l'initiation de la génération de radicaux, générant ainsi une semi-quinone. Par conséquent, les radicaux sulfite ne sont pas générés.

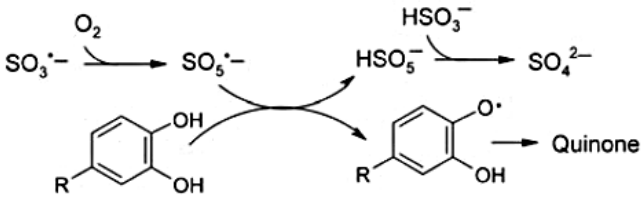


Schéma 6 : Inhibition des radicaux peroxomonosulfates ($SO_5^{\circ-}$) par les cycles catéchols présents dans le vin (Danilewicz, 2007a)

Pour terminer, la présence d'ions bisulfite pourrait ramener les formes quinones sous forme catéchols. Les quinones étant fortement électrophiles, elles pourraient réagir facilement avec les ions bisulfite, et se retrouver sous forme d'acide sulfonique. Cette substitution est irréversible (Youngblood, 1986 ; Wedzicha et al., 1987 ; Danilewicz, 2007a)(schéma 7).

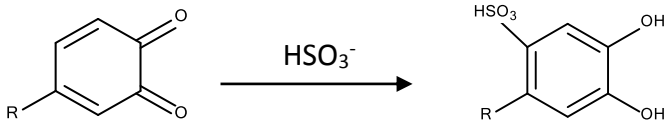


Schéma 7 : Réactivité possible entre ions bisulfite et quinones (Youngblood, 1986; Wedzicha et al., 1987; Danilewicz, 2007a)

Tous les éléments présentés jusqu'ici montrent bien que c'est la synergie entre dioxyde de soufre et polyphénols présents dans le vin qui permet l'activité antioxydante du SO_2. Un schéma simplifié reprenant l'ensemble des réactions peut être montré (figure 2). Les réactions ne sont pas détaillées, le but étant ici d'avoir un aperçu global des interactions SO_2/polyphénols.

- Tout d'abord, les cycles catéchols, en réagissant avec les radicaux peroxomonosulfate $SO_5^{\circ-}$, amènent plusieurs conséquences. La première est d'empêcher ces radicaux de réagir avec les ions bisulfite (1). Comme nous l'avons vu, cette voie est source d'auto oxydation des ions bisulfite, aboutissant à la génération de radicaux sulfite $SO_3^{\circ-}$. La deuxième conséquence, et qui ne semble pas être des moindres, est d'empêcher ces mêmes radicaux $SO_5^{\circ-}$ de régénérer le fer(II) en fer(III) (2). C'est en effet le fer(III) qui, avec le dioxygène, est source de ces radicaux.

- Deuxièmement, les ions bisulfite, en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (3) provenant de l'oxydation des cycles catéchols via le fer(III) et le dioxygène, empêchent celui-ci de pouvoir aller oxyder d'autres composés, tels que l'éthanol et l'acide tartrique, générant respectivement de l'éthanal et de l'acide glyoxylique. Les ions bisulfite ont une deuxième fonction, qui est de pouvoir réduire les quinones sous leur état catéchol.

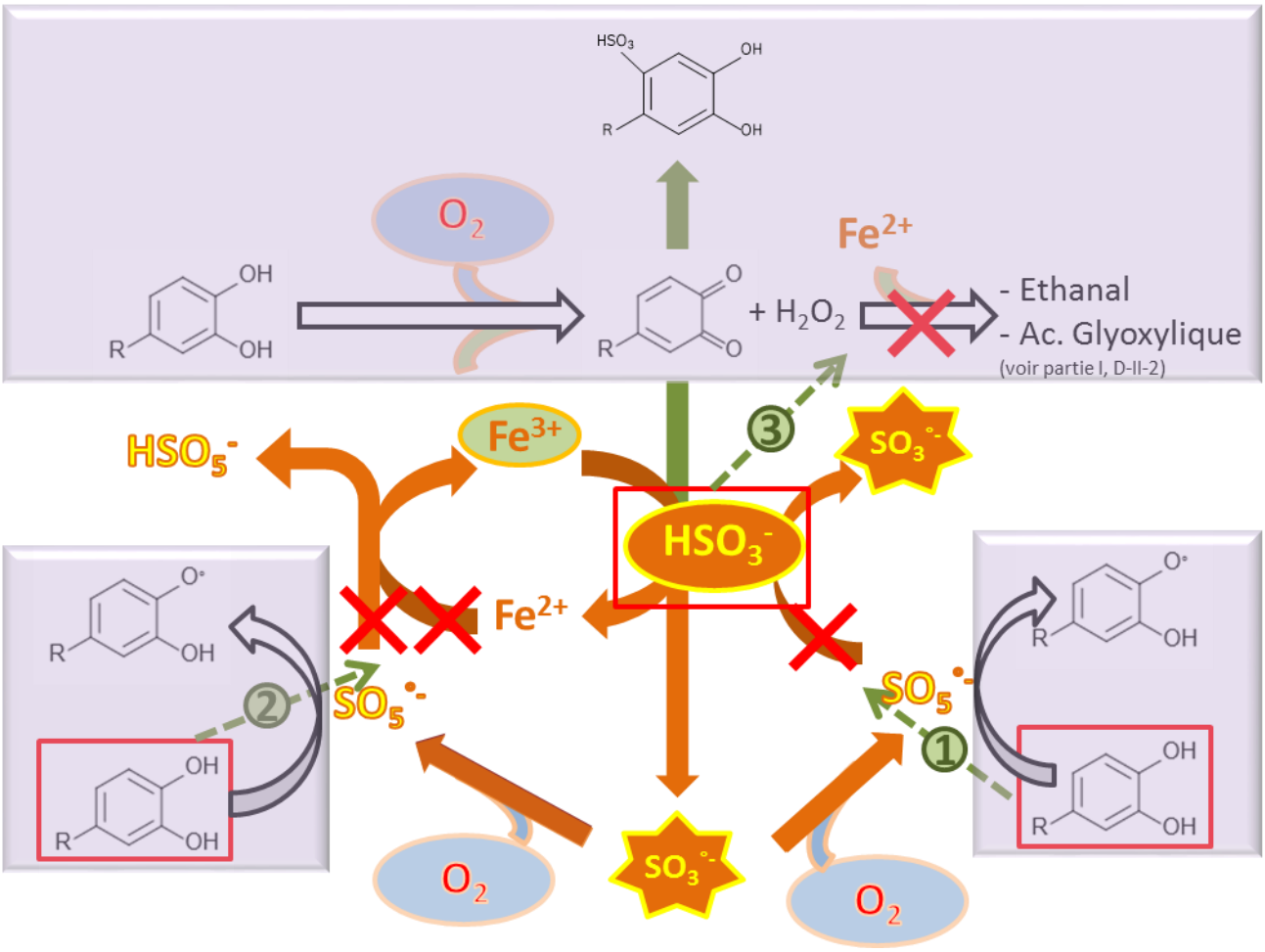


Figure 2 : Interactions globales entre les ions bisulfite et les cycles catéchols présents dans le vin rouge.
(1) et **(2)** : Prévention de l'auto-oxydation des ions bisulfites par les polyphénols du vin
(3) : Prévention de l'oxydation de l'éthanol et de l'acide tartrique par les ions bisulfites.

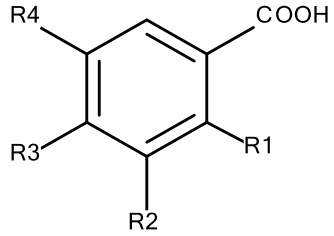
C. Les composés phénoliques présents dans le vin rouge

I. Les acides phénols

Les composés non-flavonoïdes sont subdivisés en deux groupes : les acides benzoïques à 7 atomes de carbone (C6-C1), et les acides cinnamiques, comportant 9 atomes de carbone de structure générale C6-C3.

1. Les acides hydroxybenzoïques

Le vin rouge contient des acides hydroxybenzoïques, à savoir les acides gallique, *p-h*ydroxybenzoïque, protocatéchuique, vanillique, gallique, syringique, salicilique et gentisique (voir figure 1) (Monagas et al., 2005).



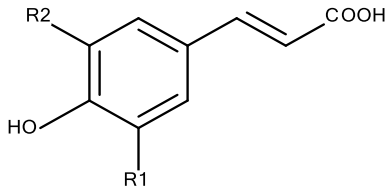
Acide benzoïque	R1	R2	R3	R4
P-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
Protocatéchuique	H	OH	OH	H
Vanillique	H	OCH_3	OH	H
Gallique	H	OH	OH	OH
Syringique	H	OCH_3	OH	OCH_3
Salicilique	OH	H	H	H
Gentisique	OH	H	H	OH

Figure 1 : Structure générale des acides hydroxybenzoïques (à gauche) et leurs noms correspondants (à droite)

2. Les acides hydroxycinnamiques

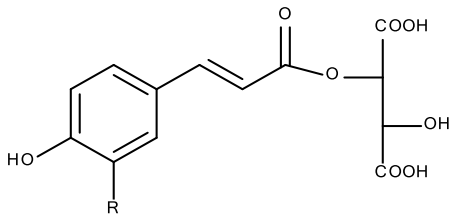
Les acides hydroxycinnamiques sont parmi les plus représentatifs des polyphénols présents dans les baies et les vins. Ils sont localisés dans les vacuoles des cellules de pellicules et de pulpe des baies de raisin sous forme d'esters d'acide tartrique (Ribéreau-Gayon, 1965) (figure 2). De manière générale, que ce soit dans les baies ou le vin, leur forme -*trans* est largement majoritaire (Monagas et al., 2005).

Dans les vins, les formes estérifiées comme libres sont présentes (figure 2 et 3). Ces composés sont responsables du brunissement des vins blancs. Des formes plus complexes ont été détectées dans des vins blancs de Riesling, comme des formes libres ou estérifiées, substituées par une molécule de glucose (Monagas et al., 2005).



Acide hydroxycinnamique	R1	R2
P-coumarique	H	H
Caféique	OH	H
Férulique	OCH_3	H
Sinapique	OCH_3	OCH_3

Figure 2 : Structure générale des acides hydroxycinnamiques (à gauche) et leurs noms correspondants (à droite).



Ester hydroxycinnamique	R
Trans-caffeoyltartrique (acide caftarique)	OH
Trans-p-coumaroyltartrique (acide coutarique)	H
Trans-feruloyltartarique (acide fertarique)	OCH_3

Figure 3 : Structure générale des acides hydroxycinnamiques estérifiés à l'acide tartarique (à gauche) et leurs noms correspondants (à droite)

Tableau 1 : Concentrations des différents composés trouvés dans des vins rouges commerciaux (Buiarelli et al., 2010). Les valeurs sont exprimées en mg/L.

Vin	Acide coutarique	Acide *p*-coumarique	Acide fertarique	Acide férulique	Acide caftarique	Acide caféique
Lambrusco	2,2 ± 10 %	0,6 ± 10 %	0,7 ± 10 %	-	4,0 ± 9 %	3,1 ± 8 %
Sangiovese	19,3 ± 5 %	19,3 ± 4 %	5,4 ± 9 %	-	6,0 ± 8 %	70,7 ± 3 %
Sangiovese basilicata	17,1 ± 6 %	4,8 ± 8 %	2,6 ± 8 %	2,9 ± 8 %	7,9 ± 7 %	8,1 ± 5 %
Barbera	23,1 ± 6 %	1,5 ± 9 %	3,6 ± 8 %	1,1 ± 9 %	53,8 ± 3 %	6,7 ± 10 %
Chianti	19,9 ± 5 %	3,3 ± 11 %	3,2 ± 9 %	1,0 ± 9 %	36,6 ± 5 %	11,3 ± 6 %
Vin « maison »	20,5 ± 7 %	11,9 ± 7 %	6,5 ± 7 %	2,0 ± 10 %	59,4 ± 3 %	6,9 ± 6 %
Syrah	7,4 ± 10 %	11,7 ± 6 %	3,0 ± 11 %	1,8 ± 7 %	23,6 ± 5 %	15,9 ± 6 %
Corvo Rosso	8,8 ± 8 %	3,2 ± 8 %	4,4 ± 6 %	1,4 ± 11 %	15,5 ± 5 %	22,5 ± 4 %
Primitivo del Tarantino	27,1 ± 5 %	4,1 ± 8 %	5,8 ± 7 %	1,6 ± 7 %	77,4 ± 3 %	20,3 ± 5 %
Castelli Romani	10,5 ± 6 %	5,8 ± 8 %	2,2 ± 7 %	1,2 ± 10 %	28,9 ± 5 %	6,7 ± 7 %
Moyenne	15,6	6,6	3,7	1,3	31,9	17,2

Le tableau 1 a pour but de donner un ordre d'idée sur les quantités d'acides hydroxycinnamiques, ainsi que leurs esters associés, dans certains vins rouges. Les acides hydroxycinnamiques estérifiés par l'acide tartrique sont généralement présents en plus grande quantité que leurs homologues libres. De plus, l'acide caftarique et celui présent en plus grande quantité, suivi par l'acide coutarique et, enfin, l'acide fertarique. Leurs homologues libres suivent la même tendance (Buiarelli et al., 2010). Cette tendance générale

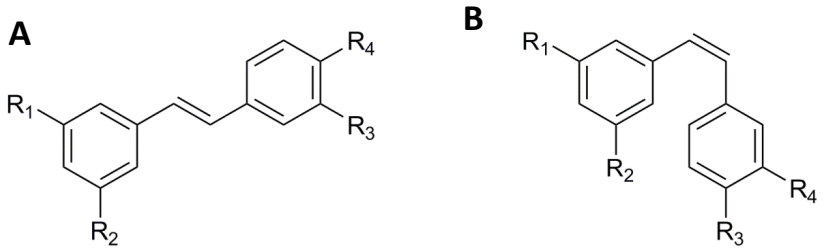
a été rapportée de la même manière par d'autres auteurs, dans des suivis de vins blancs grecs (Kallithraka et al., 2009).

II. Les stilbènes

1. Structures et teneurs dans les vins rouges

Les stilbènes majoritaires qui sont produits et retrouvés dans le vin rouge sont le resvératrol et son homologue glycosylé, le picéide, ainsi que l'astringine (voir figure 1) (Carando et al., 1999; Ribeiro de Lima et al., 1999; Moreno-Labanda et al., 2004).

Dans la vigne (*Vitis vinifera L.*), les stilbènes jouent le rôle de phytoalexines (composés antimicrobiaux synthétisés en réponse à une infection), participant ainsi à la protection contre les maladies (Langcake and Pryce, 1977). Leur synthèse peut aussi être stimulée lors d'une irradiation UV. De par leurs propriétés protectrices, les stilbènes sont principalement localisés dans la pellicule de la baie de raisin et les feuilles de vignes (Jeandet et al., 1991). Il a été démontré qu'au cours de la maturation du fruit, la capacité de synthèse du resvératrol par les baies diminue d'autant plus que la concentration en sucres augmente (Jeandet et al., 1991).



Composés	R1	R2	R3	R4
Trans/Cis-resvératrol	OH	OH	H	OH
Trans/Cis-picéide	*O*-Glc	OH	H	OH
Trans/Cis-astringine	*O*-Glc	OH	OH	OH

Figure 4 : Structures des stilbènes majoritaires présents dans les vins rouges. **A** : Formes *trans*- ; **B** : formes *cis*-

De manière générale, les teneurs en stilbènes, que ce soit dans les baies ou les vins rouges, sont très faibles. Par exemple, un travail de quantification réalisé par Ribeiro de Lima et al., en 1999, montre qu'en moyenne, pour des vins rouges commerciaux portugais et français, millésimes confondus entre 1993 et 1997, la somme des cinq stilbènes principaux dosés est d'environ 30,5 mg/L, soit une moyenne de 6 mg/L par composé (Ribeiro de Lima et al., 1999).

Il est évident que d'un cépage à l'autre, les variations en concentrations pour un même composé peuvent être relativement importantes, comme le démontre l'étude menée par Sun et al., 2006 (figure 5). De plus, un composé qui est présent de façon majoritaire dans un cépage (le *trans*-picéide dans le Castelão, figure 5) ne l'est pas forcément dans les autres, même au sein d'un millésime identique.

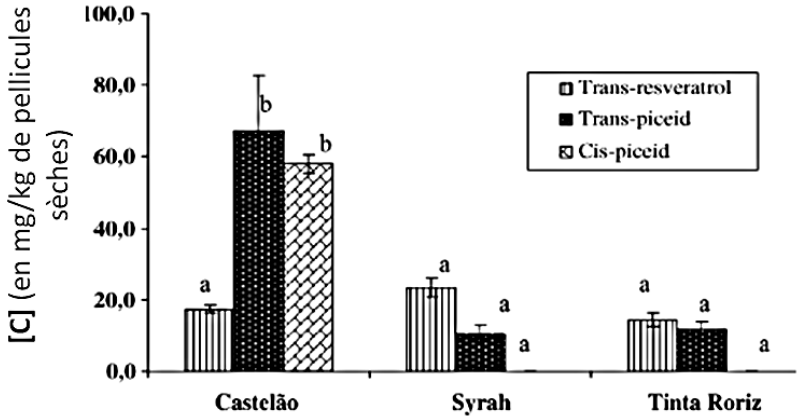


Figure 5 : Concentrations en stilbènes majoritaires dans des cépages millésime 2003 (Sun et al., 2006)

Une étude exhaustive, menée sur plus de 350 vins provenant du monde entier par Goldberg et al., 1995, démontre l'existence de plusieurs paramètres affectant les quantités de *trans*-resvératrol présent dans des vins commerciaux :

L'effet climatique. En effet, pour un même cépage donné (Cabernet sauvignon), les vins provenant de régions plus froides (Ontario et Bordeaux) contiennent davantage de *trans*-resvératrol que ceux provenant de régions plus chaudes, comme la Californie, l'Australie et l'Afrique du Sud.

L'effet cépage. Il a été montré dans cette étude que le cépage contenant le plus de *trans*-resvératrol est le Pinot noir. Cependant, ceci pourrait s'expliquer par deux raisons. La première est que le Pinot noir a une pellicule relativement fine, le rendant prédisposé aux infections fongiques et, de ce fait, à une synthèse de *trans*-resvératrol particulièrement forte. De plus, sa fragilité particulière aux températures peu clémentes impliquent des récoltes plus précoces. Or, c'est à ce moment-là que les teneurs en stilbènes sont les plus fortes (Goldberg et al., 1995).

Sun et al., en 2006, ont suivi les évolutions en concentrations des cinq composés majoritaires au cours de la vinification, pour chacun des cépages mentionnés dans la figure 2. Les résultats montrent qu'entre une semaine après la fermentation alcoolique et 8 mois, les variations sont très faibles, excepté pour le cépage Tinta Roriz, qui montre les plus grandes variations en *trans*- (de 2 à 0,6 mg/L) et en *cis*-resvératrol (de 3 à 4 mg/L) (Sun et al., 2006).

2. Le resvératrol : ses effets sur la santé

Il n'était pas possible d'aborder le sujet des stilbènes présents dans le vin sans parler de leurs effets potentiels sur la santé humaine. En effet, qui n'a pas entendu parler du paradoxe français où, malgré une alimentation plutôt riche en graisses, les Français seraient moins touchés que les autres pays par les maladies cardio-vasculaires ? L'hypothèse étant que le vin

rouge consommé de façon habituelle et traditionnelle dans ce pays aurait des effets protecteurs en matière de maladies cardio-vasculaires (Renaud and de Lorgeril, 1992).

Des effets positifs du resvératrol sur la santé humaine ont été mis en évidence par des travaux de recherche scientifique. Il faut toutefois bien avoir à l'esprit que le resvératrol est généralement présent en faibles quantités dans les vins rouges, n'excédant pas les 10 mg/L (Ribeiro de Lima et al., 1999).

Le resvératrol a montré des effets vasodilatateurs. Son action vasodilatatrice sur l'endothélium des artères permet de diminuer la pression sanguine, engendrant ainsi un effet protecteur contre l'hypertension (Xu and Si, 2012).

Des effets ont aussi été démontrés contre l'athérosclérose. Brièvement, l'athérosclérose est une maladie cardio-vasculaire initiée par l'accumulation de lipoprotéines à faible densité (LDL, Low-Density Lipoproteins) dans l'espace sub-entholélial des artères. Un mécanisme d'inflammation faisant intervenir des espèces réactives de l'oxygène va oxyder les LDL, aboutissant à l'activation de molécules d'adhésion qui vont recruter des lymphocytes T et des monocytes, entretenant le processus d'inflammation. Au final, les cellules musculaires lisses migrent dans l'espace sub-entholélial, épaississant l'artère, et bloquant la circulation sanguine (Palmefors et al., 2014). Or, le resvératrol a montré des effets inhibiteurs dans une grande partie des étapes citées : il diminue l'oxydation des lipoprotéines LDL, tout en diminuant leur accumulation. Il diminue aussi l'expression des interleukines 6, protéines-clé dans le maintien du processus d'inflammation. Pour terminer, il améliore aussi la production du monoxyde d'azote, qui participe au relâchement et à la dilatation des artères ainsi qu'à leur bon fonctionnement général (Xu and Si, 2012).

En matière d'obésité, des impacts positifs ont aussi été démontrés par le resvératrol. A titre d'exemple, chez des souris nourries avec un régime riche en graisses, le resvératrol a pu augmenter la survie et les fonctions moteur, ainsi que diminuer les masses en tissus adipeux des viscères et du foie. Dans d'autres études, le resvératrol a aussi été capable de ralentir la prise de poids, ainsi que diminuer les quantités de triglycérides, de cholestérol et de glucose (Xu and Si, 2012).

III. Les tannins hydrolysables (gallotannins et ellagitannins)

Au cours d'un élevage en barrique, les tannins hydrolysables, présents dans le bois de chêne, peuvent être extraits et solubilisés dans le vin rouge. Ces composés sont originellement présents dans les chênes servant à la fabrication des douelles, à savoir le chêne pédonculé (*Quercus robur*), le chêne sessile ou rouvre (*Quercus petraea*), ainsi que le chêne blanc d'Amérique (*Quercus alba*).

1. Structures et classification

Les tannins hydrolysables peuvent être décrits comme des esters d'acide gallique avec un polyol, classiquement le β-D-glucose (figure 6). Les molécules estérifiées contenant de 1 à 5 unités d'acide gallique sont considérées comme des galloylglucoses simples, ce qui les différencie des galloylglucoses complexes, qui, eux, sont les gallotannins au sens propre (exemple donné sur la figure 6, composé 4). Les gallotannins découlent de galloylations supplémentaires opérées sur une molécule de pentagalloylglucose, et peuvent contenir jusqu'à facilement une dizaine de groupements galloyl. Vu sous cet angle, le pentagalloylglucose (figure 6, composé 2) est considéré comme étant le précurseur des gallotannins. Les gallotannins sont ainsi caractérisés par la présence d'au moins un groupement *méta*-digalloyl depsidique (Khanbabaee and van Ree, 2001; Niemetz and Gross, 2005).

Parallèlement, le pentagalloylglucose peut être sujet à des oxydations qui vont former des liaisons biaryl entre des groupements galloyl proches et favorablement orientés, formant ainsi un groupement 3,4,5,3',4',5'-hexahydroxydiphénoyl (HHDP) : le deuxième groupe des tannins hydrolysables, que sont les ellagitannins, est ainsi généré, comme par exemple la tellimagrandine II (composé 5 sur la figure 6). L'hydrolyse de ces ellagitannins engendre le relargage des groupements HHDP sous forme d'acides libres hexahydroxydiphéniques. Ces acides subissent une conversion spontanée en dilactone, l'acide ellagique : c'est ce dernier qui a donné son nom aux ellagitannins (Niemetz and Gross, 2005).

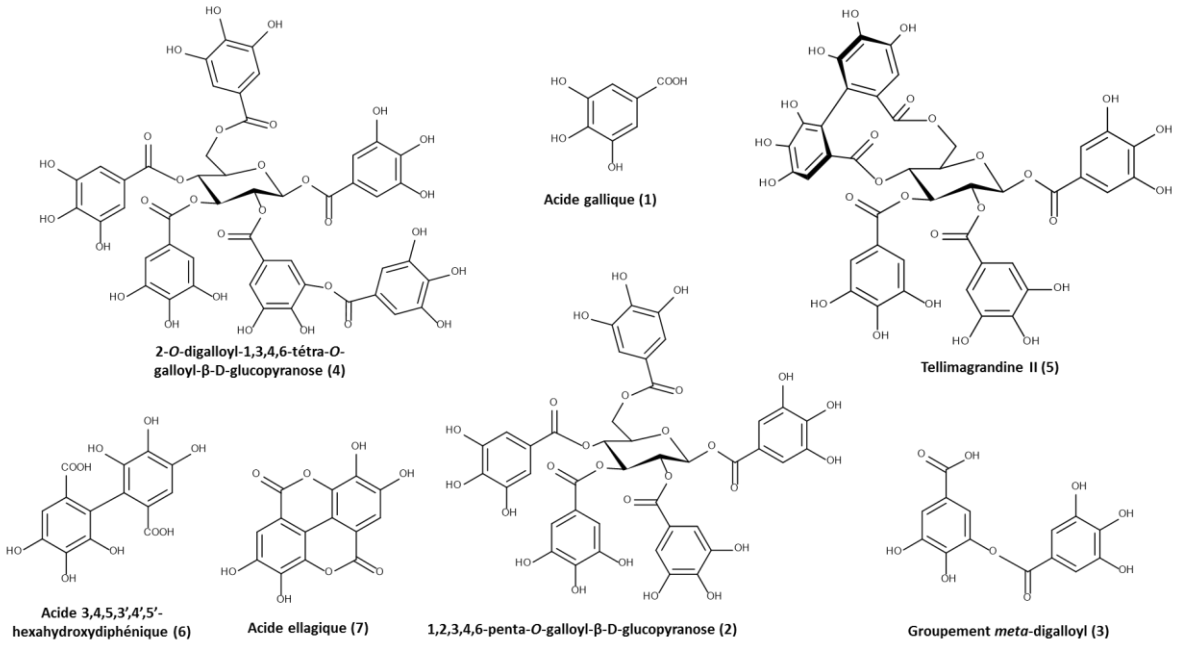


Figure 6 : Le précurseur des tannins hydrolysables **(2)**, un exemple de gallotannin **(4)** et d'ellagitannin **(5)**, ainsi que leurs groupements **(1,3)** et produits de dégradation **(6,7)** associés (d'après Niemetz and Gross, 2005).

Les 8 ellagitannins C-glycosidiques principaux sont la castalagine, la vescalagine, la grandinine et la roburine E pour les monomères, ainsi que les roburine A,B,C,D pour les dimères. Ces ellagitannins C-glucosidiques sont caractérisés par une liaison C-C entre le carbone-1 de la chaîne ouverte de glucose et le carbone-2 de l'unité *O*-2 galloyl située dans l'unité nonahydroxyterphénoyl (NHTP, voir figure 7). Les deux premiers composés à avoir été identifiés sont la vescalagine et son épimère en C-1, la castalagine. Les six autres ont été identifiés plus tardivement (Hervé du Penhoat et al., 1991a, 1991b).

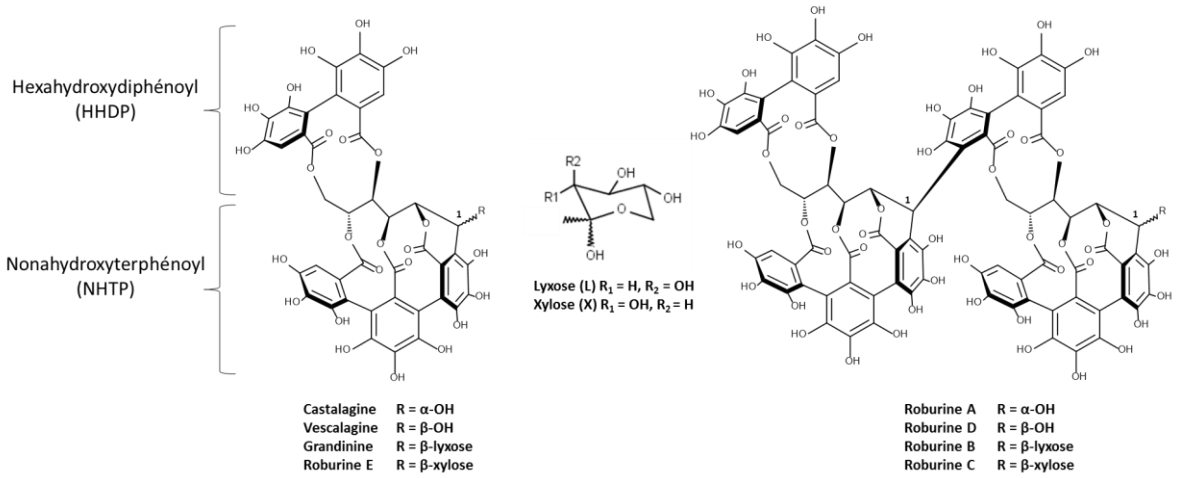


Figure 7 : Structures des 8 ellagitannins C-glucosidiques principaux présents dans les bois de chêne

2. Causes de variabilité dans les teneurs en ellagitannins

a) Tissus du bois et taille des cernes

Les ellagitannins sont présents dans plusieurs tissus du bois, tels que les fibres, le bois de printemps, le bois d'été ainsi que les rayons ligneux (figure 8).

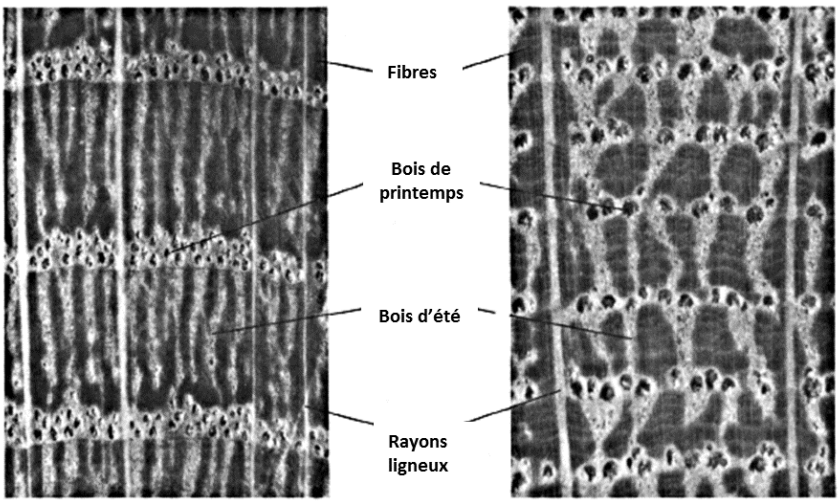


Figure 8 : Localisation des différents tissus du bois de chêne. *Q. robur* (**à gauche**) et *Q. petraea* (**à droite**) (Masson et al., 1994).

Parmi les huit ellagitannins majoritaires étudiés par Masson et al. en 1994, la vescalagine et la castalagine prédominent, représentant environ 44 % du total.

Parmi les quatre tissus de bois étudiés, celui du parenchyme des rayons ligneux (RL) contient le plus d'ellagitannins pour les deux espèces d'arbres, tandis que les fibres en contiennent le moins (tableau 2).

Tableau2 : Teneurs en ellagitannins (en mg/g de bois sec) pour chaque tissu du bois de *Q. robur* et *Q. petraea*. **F :** Fibres ; **BP :** Bois de Printemps ; **BE :** Bois d'Eté ; **RL :** Rayons Ligneux (Masson et al., 1994).

	Quercus robur				***Quercus petraea***			
Ellagitannins	**F**	**BP**	**BE**	**RL**	**F**	**BP**	**BE**	**RL**
Roburine A	2,8	4,7	4,5	5,1	0,6	0,8	1,2	2,0
Roburine B	1,5	3,7	2,7	5,1	0,6	0,9	1,1	2,9
Roburine C	1,0	2,1	1,8	4,0	0,6	0,9	1,1	2,8
Roburine D	2,1	6,4	4,7	9,1	1,3	1,6	2,2	4,4
Roburine E	3,0	6,1	4,9	5,7	2,3	3,5	3,9	6,9
Grandinine	4,0	6,0	4,3	5,1	2,5	3,8	4,1	7,3
Vescalagine	15,2	16,4	15,9	13,7	5,6	6,2	7,4	8,9
Castalagine	14,2	14,6	12,9	17,9	6,1	6,0	7,3	12,0
Total	**43,9**	**60,0**	**51,8**	**65,7**	**19,6**	**23,5**	**28,3**	**47,2**

b) Teneurs relatives à l'âge

Une étude menée par Masson et al., en 1995, a montré des différences nettes dans les teneurs en ellagitannins en fonction de l'âge du bois au sein d'un même arbre. 12 fractions ont été obtenues, la fraction 1 (F1) étant la plus périphérique et la plus jeune, jusqu'à la fraction 12 (F12), correspondant à la moelle, située au centre du tronc (figure 9).

La tendance est identique pour les deux espèces *Q. robur* et *Q. petraea*. La fraction 1 contient le moins d'ellagitannins, tandis que la fraction 2 est la fraction qui en contient le plus. Les quantités diminuent ensuite de façon très régulière jusqu'à la fraction 12 (figure 9) (Masson et al., 1995)

Les explications fournies par les auteurs de cette étude sont de plusieurs natures. Premièrement, certains métabolites secondaires tels que les polyphénols peuvent être toxiques en cas de forte accumulation dans la cellule, pouvant par exemple perturber les fonctions enzymatiques : pour cette raison, la fraction 1 correspondant à la partie vivante de l'arbre, l'aubier, ne peut pas contenir d'ellagitannins en grandes quantités (figure 9).

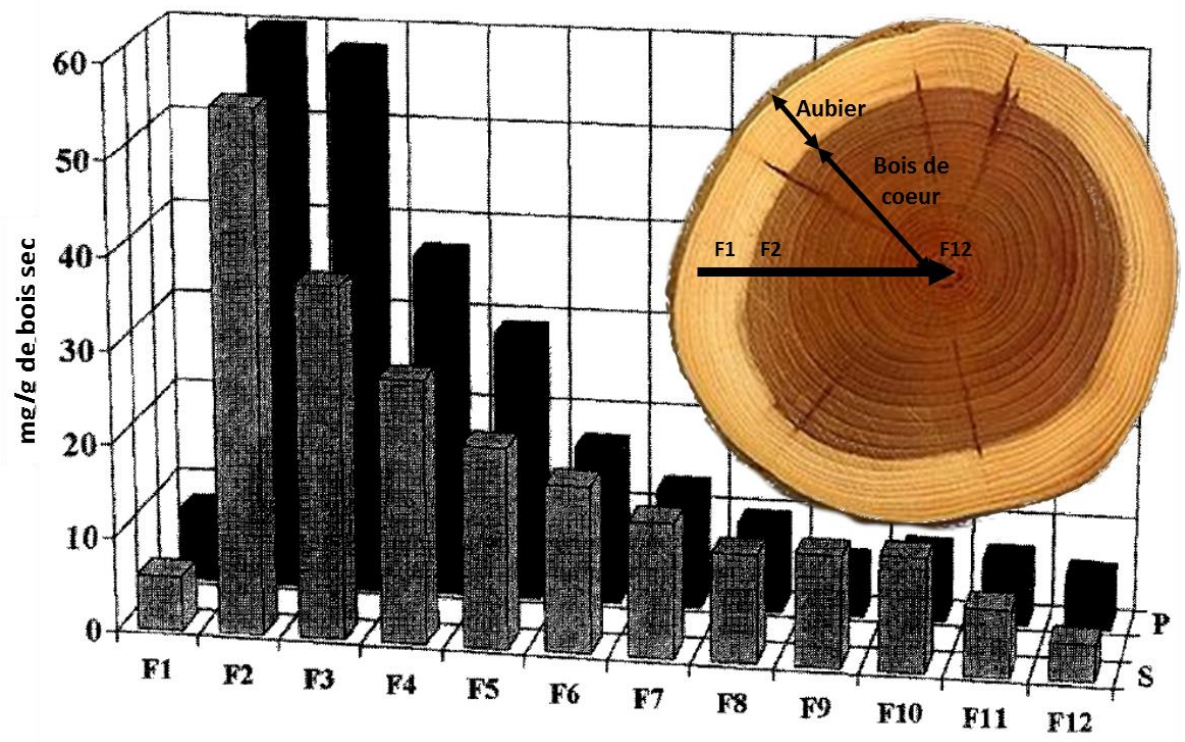


Figure 9 : Teneurs en ellagitannins des 12 fractions d'âge croissant chez *Q. robur* (**P**) et *Q. petraea* (**S**) (d'après Masson et al., 1995).

Les ellagitannins sont donc stockés dans la partie du bois de cœur. Or, plus on va vers le centre et plus l'âge de l'arbre grandit. Ainsi, au fur et à mesure que nous allons vers le centre du tronc, les ellagitannins présents ont pu subir des réactions de polymérisation et d'oxydation de manière croissante, d'où une diminution de leur quantité : plus le bois vieillit, plus la teneur en ellagitannins est faible. De la même manière, les analyses des teneurs en vescaline et castaline, qui sont les produits de dégradation par hydrolyse de la vescalagine et la castalagine respectivement, montrent une évolution croissante de leurs teneurs lorsque le bois vieillit, ce qui confirme bien l'hypothèse de la diminution des teneurs par dégradation au cours du temps (figure 9) (Masson et al., 1995). Les résultats de cette étude concordent avec ceux trouvés par Mosedale et al., 1996.

c) Variations inter-espèces

La variabilité inter-espèces entre *Q. robur* et *Q. petraea* est un paramètre qui a été étudié par Prida et al., en 2006. La teneur en ellagitannins totaux a été quantifiée sur 158 chênes pédonculés et 118 chênes sessiles, tous âgés d'environ 100 ans.

Il a été statistiquement démontré par cette étude que le chêne pédonculé contient plus d'ellagitannins que le chêne sessile (40-45 mg/g de bois sec contre 25-30 mg/g). Cependant, les variations inter-individus au sein d'une même espèce sont très importantes puisque, comme on peut le voir sur la figure 10, les teneurs en ellagitannins peuvent varier de 5 à 120

mg/g. Les courbes de distribution des valeurs sont donc fortement superposées, ce qui induit une démarcation assez floue entre les teneurs relatives aux deux espèces (Prida et al., 2006).

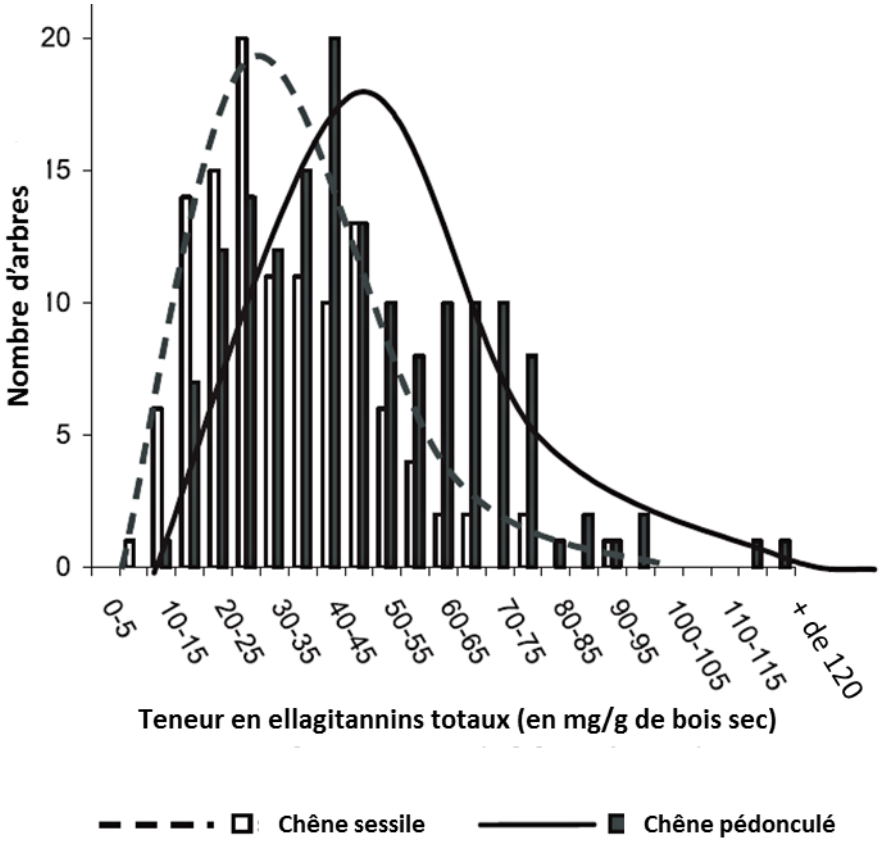


Figure 10 : Teneurs en ellagitannins totaux pour le chêne sessile et le chêne pédonculé (Prida et al., 2006).

d) Provenance géographique et traitement sylvicole

La provenance géographique d'un arbre est un paramètre supplémentaire pouvant influer sur les teneurs en ellagitannins. Par exemple, lors d'une étude menée par Mosedale et al., en 1996, il a été démontré que 70 % des variations entre les teneurs en ellagitannins hydrosolubles étaient expliquées par la différence géographique des arbres. L'analyse de 20 chênes provenant du Limousin indique, en moyenne, 61 mg/g d'ellagitannins moléculaires, tandis que pour 20 chênes provenant de la forêt du Tronçais, dans l'Allier, avaient en moyenne 20 mg/g d'ellagitannins moléculaires (Mosedale et al., 1996).

Cependant, deux études publiées à deux années d'intervalle tendent à minimiser cet effet de provenance géographique. La première étude a été effectuée en 2000 par Doussot et al., avec 133 arbres représentatifs des deux espèces de chêne européen *Q. petaea* et *Q. robur*, provenant de six forêts françaises différentes (deux dans le Centre, une en Bourgogne, deux en Dordogne et une en Pyrénées Atlantiques). La conclusion de cette étude apportée par l'auteur est que la différence liée à la provenance géographique est moins marquée que celle découlant de la variabilité inter-espèces. De plus, après un séchage naturel opéré ainsi qu'une

chauffe, les analyses faites sur les mêmes arbres montrent que les différences liées à la provenance géographique ne sont plus significatives, tandis que celles liées à la différence d'espèce le restent (Doussot et al., 2002).

Snakkers et al. ont aussi démontré l'impact dû au mode de traitement sylvicole. Leur étude, datant de 2000, a été réalisée sur 82 chênes sessiles (*Q. petraea*) qui provenaient de 48 parcelles, de cinq zones géographiques françaises (l'Allier, le Loir-et-Cher, l'Orne-Sarthe, la Lorraine et l'Alsace).

Les parcelles ont été délimitées en fonction de deux types de traitements sylvicoles différents : la futaie et le taillis sous futaie. Succinctement, la futaie correspond à des arbres jaillissant de semis, donnant lieu à des arbres fournissant du gros bois (figure 11, à gauche). Le taillis, en revanche, possède des arbres qui sont issus de la reproduction végétative, où des bourgeons latents se développent à partir d'une souche : le bois produit est de taille réduite, mais dans un délai plus court. Le taillis sous futaie est, grossièrement, un mélange des deux (figure 11, à droite).

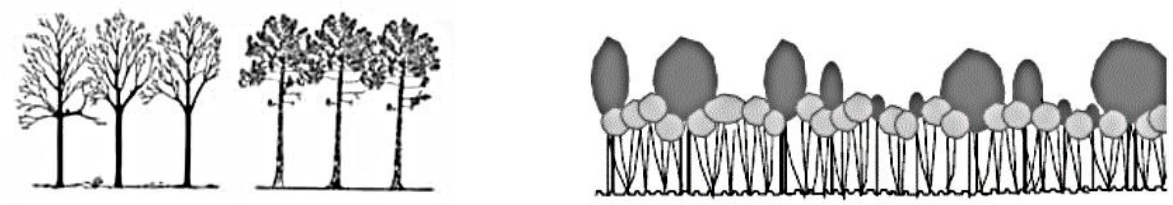


Figure 11 : Futaie (à gauche) et taillis sous futaie (à droite).

Une quantité accrue de tannins est présente pour les arbres issus des parcelles de type taillis sous futaie, comme montré sur la figure 12. Une corrélation est aussi mise en évidence entre cette étude et celle menée par Mosedale et al. en 1996, où les arbres qui provenaient du Limousin contenaient plus d'ellagitannins que ceux provenant du Tronçais. Or, les forêts du Limousin sont principalement de type taillis sous futaie, tandis que celles du Tronçais sont de type futaie : cette étude menée par Snakkers et al., 2000, est intéressante puisqu'elle place le type de traitement sylvicole comme première source de variabilité des teneurs en ellagitannins (figure 12).

Bien entendu, tous les paramètres induisant des différences dans les teneurs en ellagitannins sont importants à prendre en compte lorsque les tonneliers doivent appliquer des critères pour choisir les bois afin de fabriquer les barriques. Or, beaucoup de paramètres rentrent en jeu, rendant d'autant plus difficile la maîtrise du choix des bois. *In fine*, la meilleure façon de connaître les teneurs en ellagitannins dans un bois est encore de faire des analyses en laboratoire par extraction et dosage HPLC. Il a été dernièrement mis au point une méthode

non destructive permettant de classifier les bois en fonction de leur teneur en ellagitannins, nommée Oakscan®, que nous expliquons ci-après.

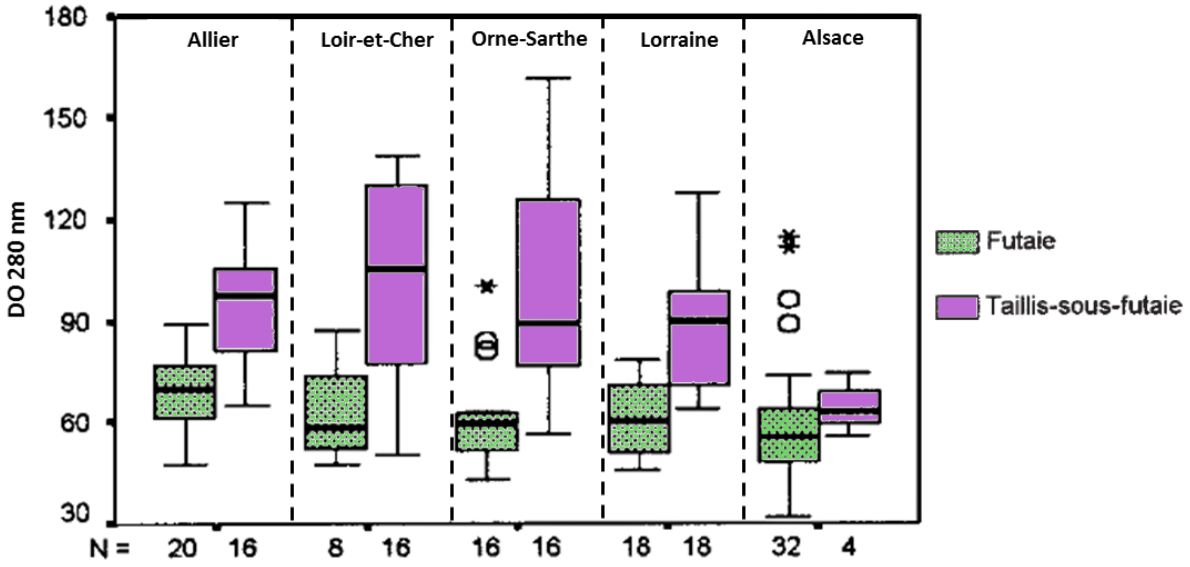


Figure 12 : Effets « région » et « type de peuplement » pour les densités à 280 nm (Snakkers et al., 2000)

3. Oakscan : principe et fonctionnement

Oakscan est un procédé qui utilise le rayonnement du proche infra-rouge (de 700 à 2 500 nm) afin de déterminer les teneurs en phénols totaux et ellagitannins présents dans les bois. Lorsqu'un rayon est envoyé sur la matière granuleuse du bois, une partie va être réfléchie avec le même angle d'incidence : c'est le rayonnement réfléchi spéculaire. Une autre partie sera diffusée dans toutes les directions, c'est la réflexion de Fresnel, qui est due à la granulométrie de la matière. La dernière partie est celle qui nous intéresse, il s'agit de la réflexion diffuse de Kubelta-Munk. Ce rayonnement est renvoyé dans toutes les directions de l'espace après avoir pénétré au moins une particule de matière. C'est lui qui contient les informations et sera analysé. Pour ce faire, il sera isolé du rayonnement spéculaire à l'aide d'un jeu de miroirs. La réflexion de Fresnel sera réduite lors de l'étalonnage de l'appareil en analysant le bruit de fond (Brimmer et al., 1986; Brimmer and Griffiths, 1987, 1988; Michel, 2012).

L'étalonnage a été réalisé sur 400 merrains de chêne français, sélectionnés dans 33 lots différents. Ils proviennent d'une grande diversité de régions françaises et possèdent en plus une grande variété de grains, permettant ainsi d'avoir un étalonnage représentatif de la plus grande diversité possible. L'étalonnage est réalisé entre les mesures de l'appareil et des analyses en laboratoire de phénols totaux (Folin-Ciocalteu) et d'ellagitannins par HPLC. Comme on le voit sur la figure 13, les corrélations sont très bonnes (Giordanengo et al., 2009).

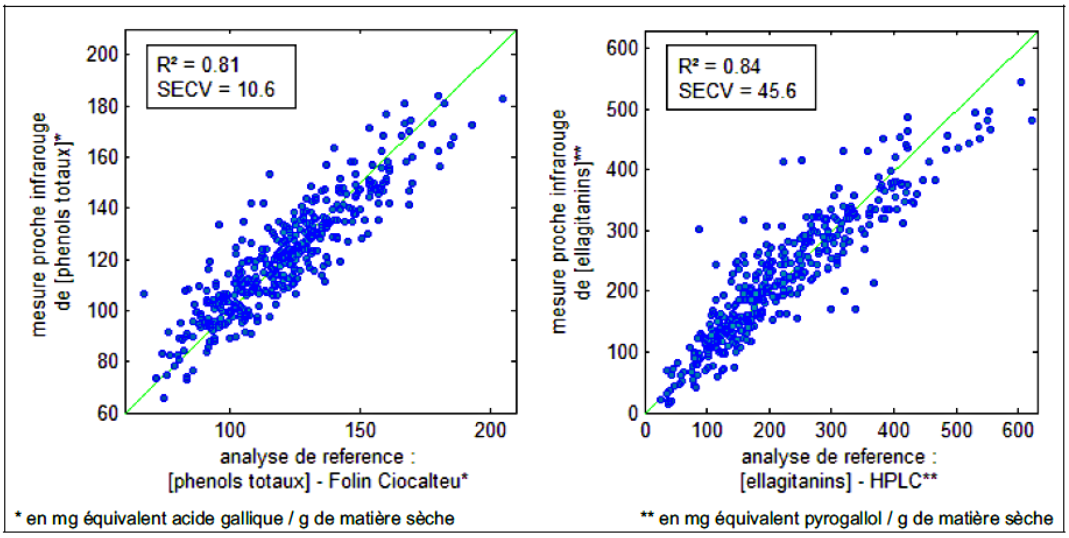


Figure 13 : Corrélations entre mesures Oakscan® et analyses chimiques (Giordanengo et al., 2009).

Les paramètres externes aux échantillons, comme l'humidité et la température influent sur la réponse lors d'une analyse par proche infrarouge. Par exemple, la présence d'eau élève la ligne de base induisant de ce fait des estimations faussées (Giordanengo et al., 2008). Des étalonnages ont donc été réalisés afin de pallier aux variations de réponse induites par l'hygrométrie et la température, par une méthode de EPO-PLS (external parameter orthogonalisation of Partial Least Square regression) (Roger et al., 2003; Giordanengo et al., 2008).

Lors d'une thèse, menée au laboratoire par Michel Julien, la technologie Oakscan® a été validée. La figure 14 montre bien l'exactitude des corrélations faites entre les indices phénoliques (IP) par Oakscan® et les teneurs en ellagitannins mesurées en laboratoire.

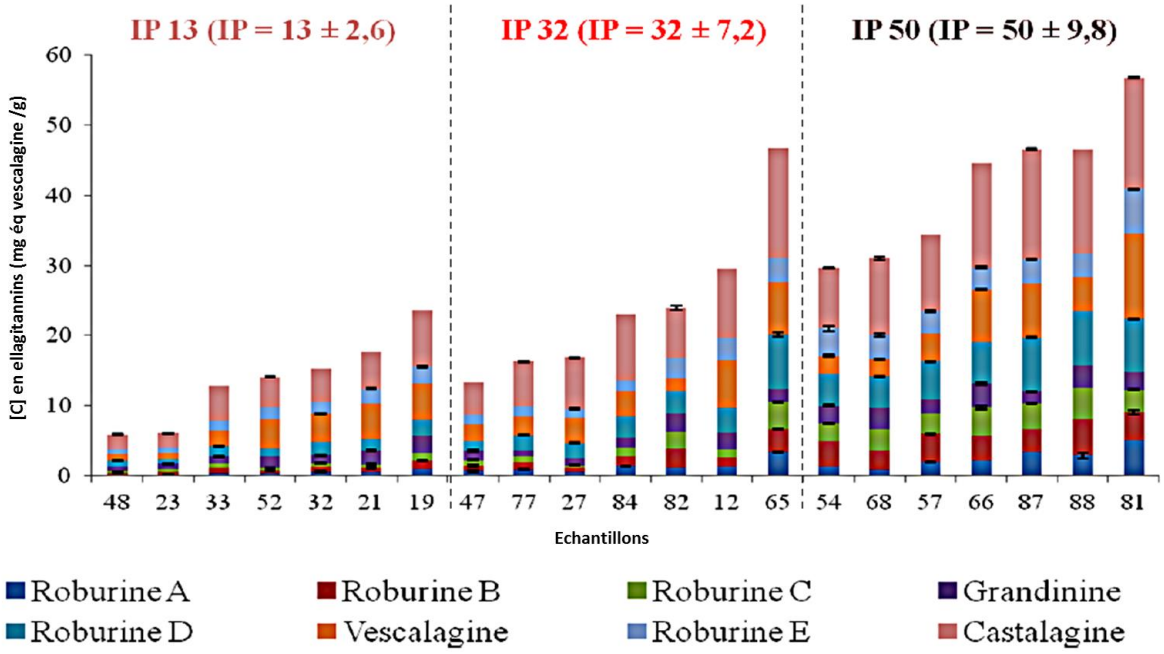


Figure 14 : Relation entre les Indices phénoliques (IP) déterminés par Oakscan et les teneurs en ellagitannins par analyses chimiques (Michel, 2012)

IV. Les composés flavonoïdes

Les composés flavonoïdes appartiennent à une classe chimique possédant une structure à 15 atomes de carbone. Plus précisément, deux cycles en C6 sont reliés par une chaîne à trois carbone, faisant une structure de type C6-C3-C6 (figure 15). Les flavonoïdes sont répartis entre plusieurs classes qui diffèrent de par le degré d'oxydation du cycle pyran central.

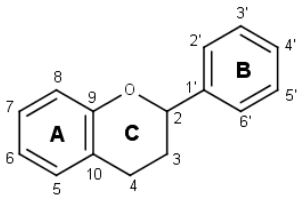


Figure 15 : Structure générale des flavonoïdes

1. Les flavones

Les flavones sont caractérisés par une double liaison entre les atomes de carbone 2 et 3, ainsi qu'une absence de groupement hydroxyl en C3. Les isoflavones ont les mêmes caractéristiques structurales, si ce n'est que le cycle B est lié au C3 (figure 16).

La lutéoline a été détectée dans des vins chinois, principalement pour les cépages Merlot, Cabernet sauvignon, Cabernet franc et Marselan. Cependant, dans la majeure partie des cas, la concentration n'excède pas les 1 mg/L (Fang et al., 2008). La génistéine est une isoflavone ayant été détectée dans des vins et des baies (Garrido et Borges, 2013). Il semblerait que de manière générale, les flavones et isoflavones ne soient présentes qu'en quantités très faibles dans les baies et les vins.

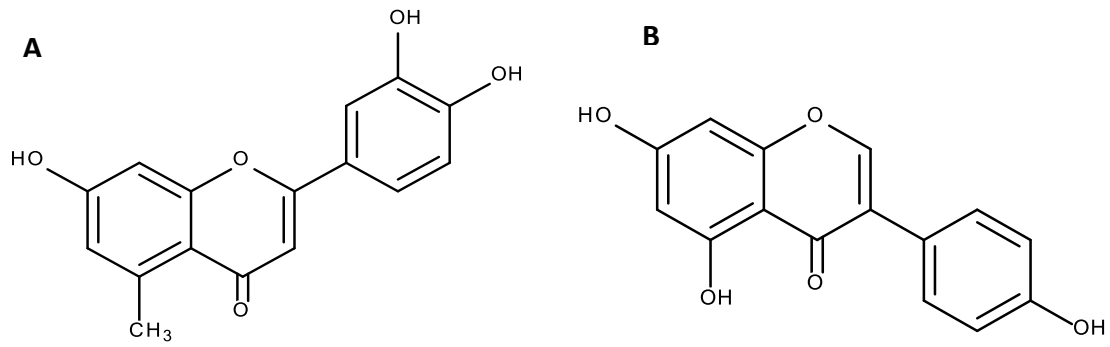


Figure 16 : Structures des deux principales flavones présentes dans le vin. **A** : lutéoline ; **B** : génistéine

2. Les flavanones[2]

Les flavanones sont des flavonoïdes possédant un cycle pyran central complètement saturé. Ces composés sont présents en très faibles quantités dans les vins rouges. Dans des vins tchèques, de la naringénine et de l'hespérétine ont été quantifiées, pour des quantités comprises entre 0,4 et 0,8 mg/L (Jandera et al., 2005). Leurs structures sont données en figure 17.

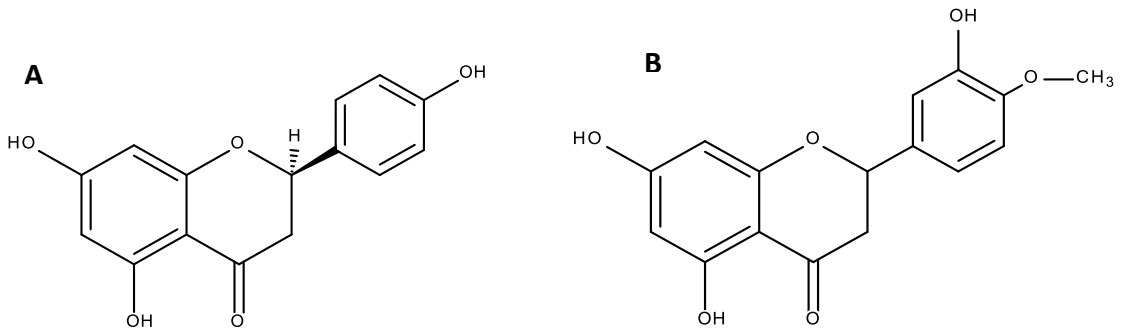


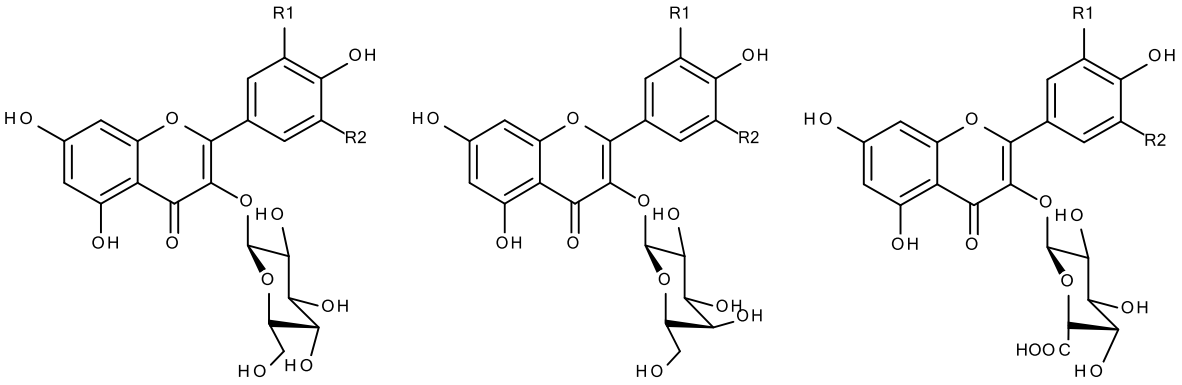
Figure 17 : Structures de la naringénine (**A**) et l'hespérétine (**B**).

3. Les flavonols

Les flavonols sont principalement synthétisés dans les pellicules, où ils peuvent jouer leur rôle de protection contre les irradiations UV. De ce fait, ils sont présents en plus grande quantité dans les vins rouges, où la macération permet leur extraction des pellicules dans le vin. Dans les baies, les six aglycones majoritaires de flavonols sont substituées par des sucres, tels que le glucose, le galactose et le glucuronide, aboutissant ainsi à dix-huit composés majoritaires ayant été détectés dans les baies (figure 18).

Une étude menée par Mattivi et al. en 2006 a permis de quantifier la somme des aglycones des six flavonols majoritaires (quercétine, myricétine, kaempférol, laricitrine, isorhamnétine et syringétine) présents dans des pellicules de raisins rouges (Mattivi et al., 2006). Sur les 64 variétés étudiées, qui proviennent toutes de la région de Trento (Italie), une moyenne de 32,4 mg en flavonols totaux par kg de pellicules a été trouvée. De plus, il a été déterminé que les aglycones de quercétine constituent 44 % des aglycones totales, 36,8 % pour la myricétine, 6,4 % pour le kaempférol, 5,7 % pour la laricitrine, 3,9 % pour l'isorhamnétine et 3,2 % pour la syringétine (Mattivi et al., 2006).

Il a aussi été montré que les proportions en type de sucres substitués ne sont pas les mêmes. Si l'on regarde une étude faite sur un cépage Petit verdot de Castilla-la-Mancha (Espagne), il a été déterminé que les unités substituées par du glucose représentent 77 % du total, alors que celles substituées par un galactose ou un glucuronide représentent 12 % chacune. Cependant, ces proportions varient selon l'aglycone concernée (Castillo-Muñoz et al., 2009a).



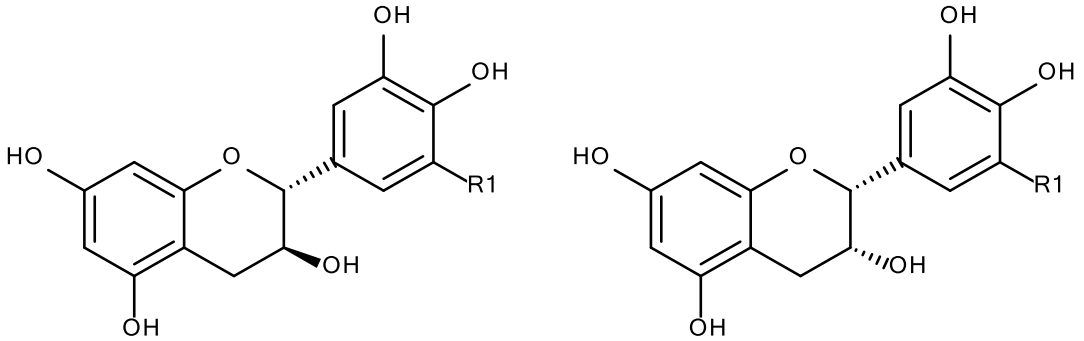
Flavonol-3-*O*-glucosides Flavonol-3-*O*-galactosides Flavonol-3-*O*-glucuronides

Aglycones	R1	R2	Aglycones	R1	R2
Kaempférol	H	H	Myricétine	OH	OH
Quercétine	OH	H	Laricitrine	OCH_3	OH
Isorhamnétine	OCH_3	H	Syringétine	OCH_3	OCH_3

Figure 18 : Structures des aglycones et leurs glycosides correspondants

4. Les flavan-3-ols, les procyanidines et les prodelphinidines

Le vin rouge contient une quantité importante de tannins condensés, entre 1 et 4 g/L selon le cépage et les techniques de vinification employées. Les tannins condensés regroupent les procyanidines et les prodelphinidines, et sont sous forme polymérique. Les flavan-3-ols constituent les unités monomériques des tannins condensés.



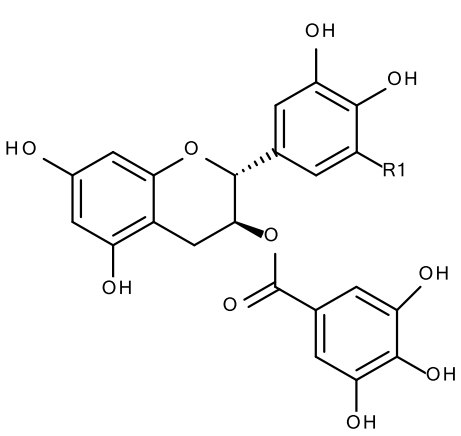
Flavan-3-ols	R1
(+)-catéchine	H
(+)-gallocatéchine	OH

Flavan-3-ols	R1
(-)-épicatéchine	H
(-)-épigallocatéchine	OH

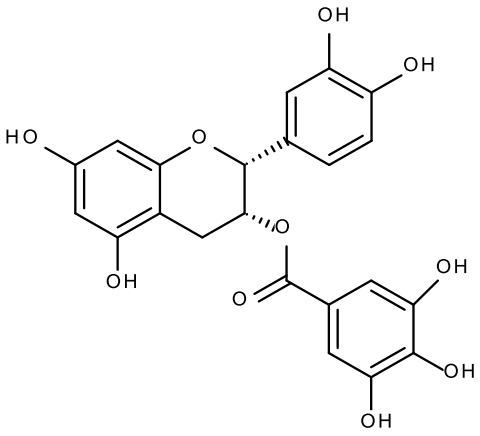
Figure 19 : unités monomères présentes dans les procyanidines et les prodelphinidines

Le terme de procyanidine provient de la capacité de ces dernières à donner des cyanidines par hydrolyse acide (Bate-Smith, 1975). Les unités de base sont la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine (figure 19). Les prodelphinidines, quant à elles, relarguent des delphinidines par hydrolyse acide et n'ont pas été détectées dans les pépins (Monagas et al., 2005). Les unités de base contenues dans les chaînes sont la (+)-gallocatéchine et la (-)-épigallocatéchine. La différence entre les unités monomériques de procyanidines et prodelphinidines consiste en la présence d'un groupement hydroxyl supplémentaire en position C5' du cycle B (figure 19).

Les unités monomériques présentées peuvent être estérifiées avec un acide gallique en position C3 (figure 20).



Flavan-3-ols	R1
(+)-catéchine-3-*O*-gallate	H
(+)-gallocatéchine -3-*O*-gallate	OH



(-)-épicatéchine-3-*O*-gallate

Figure 20 : Structures des composés galloylés identifiés dans des vins ou des baies

La (+)-catéchine-3-*O*-gallate ainsi que la (+)-gallocatéchine-3-*O*-gallate ont été détectées dans des baies de raisins blancs (Lee and Jaworski, 1990). La (-)-épicatéchine-3-*O*-gallate a été identifiée principalement dans des pépins de raisins rouges (Tsai Su and Singleton, 1969), ainsi que dans les pellicules de raisins rouges espagnols (Escribano-Bailón et al., 1995). Dans les vins, la présence de (+)-catéchine, (-)-épicatéchine, (-)-épicatéchine-3-*O*-gallate, (+)-gallocatéchine et (-)-épigallocatéchine a été rapportée (Monagas et al., 2005).

Comme expliqué précédemment, les procyanidines et prodelphinidines sont des unités polymériques faisant partie des tannins condensés. Il y a deux types de liaisons : les types A, et les types B. Les types B sont les plus courants. Le paragraphe suivant donne lieu aux explications sur les diférents types de liaisons retrouvés dans les tannins condensés.

a) Les liaisons de type B

Les liaisons de type B peuvent être de deux formes différentes : la liaison de type C4-C8 (la plus abondante) et la liaison de type C4-C6 (figure 21). Dans les deux cas, la liaison s'effectue en position C4 de l'unité supérieure. C'est celle de l'unité inférieure qui varie, pouvant être en C6 ou C8.

Ces liaisons peuvent mener à la formation de dimères, comme les dimères B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, mais aussi des structures de plus haut poids moléculaire.

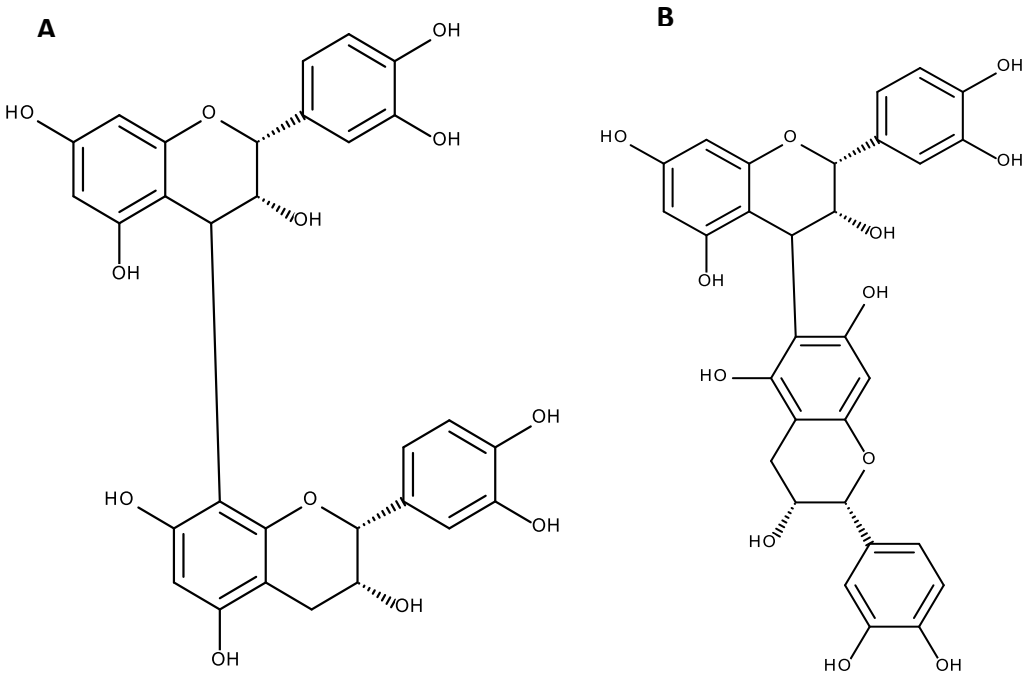


Figure 21 : Les deux types de liaisons pour les procyanidines de type B entre unités de tannins condensés : C4-C8 (**A**) et C4-C6 (**B**).

b) Les liaisons de type A

Les liaisons de type A sont plus rares dans les raisins et les vins. Cependant, leur existence est connue depuis un certain temps déjà et a été reportée par plusieurs chercheurs (Bate-Smith, 1975; Gaulejac et al., 2001; Monagas et al., 2005). Les liaisons de type A possèdent une liaison éther supplémentaire à la liaison de type B, entre le C2 de l'unité supérieure et le groupement hydroxyl C5 ou C7 de l'unité inférieure (figure 22).

En conclusion, nous avons donc au total 6 liaisons possibles chez les tannins condensés : deux possibilités pour les liaisons de type B (C4-C6 et C4-C8) et, pour chacune d'elles, deux liaisons de type A possibles (C2 de l'unité supérieure, avec le groupement hydroxyl en C5 ou en C7 de l'unité inférieure).

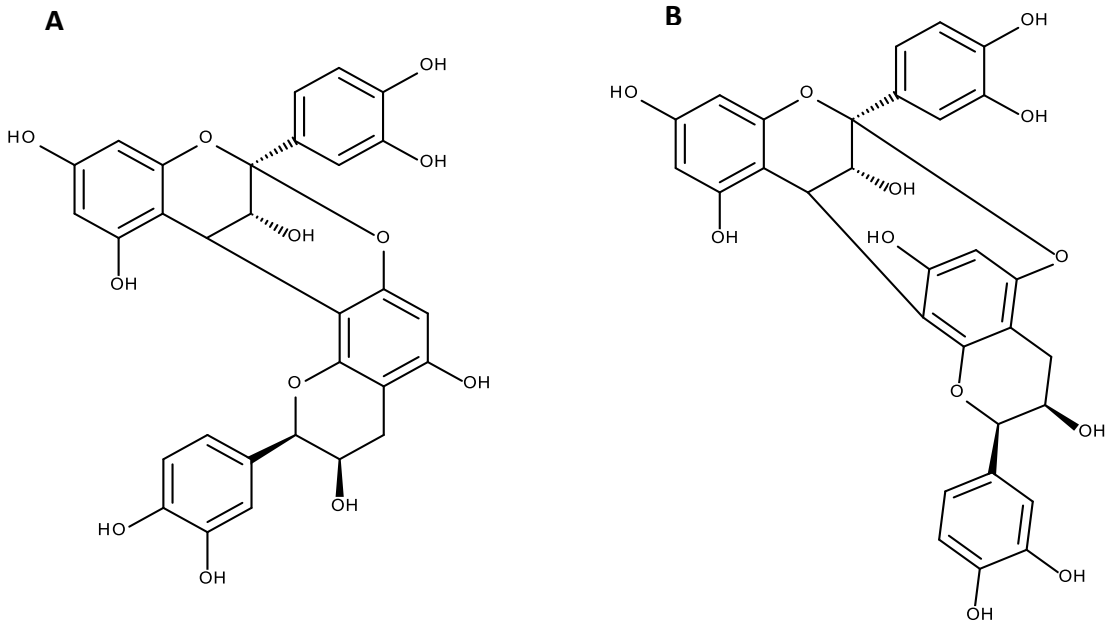


Figure 22 : Deux liaisons de type A pour les procyanidines. **C2-C7** (**A**) et en **C2-C5** (**B**).

5. Les anthocyanes

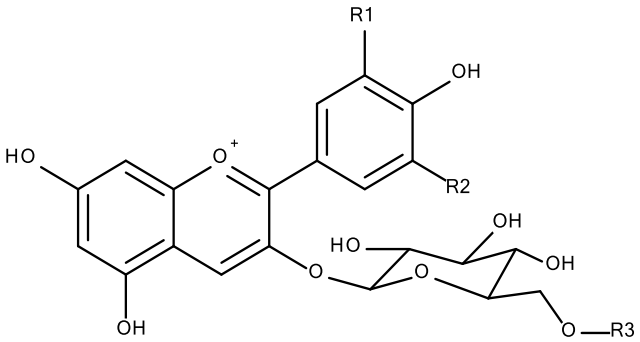
Les anthocyanes sont une famille de molécules qui sont responsables de la couleur des vins rouges. Elles sont majoritairement localisées dans les pellicules, excepté pour les cépages dits « teinturiers » pour lesquels elles sont aussi présentes dans la chair des baies (Santiago et al., 2008).

a) Généralités, structures

Il existe 5 aglycones majoritaires dans le vin, qui sont la malvidine, la péonidine, la pétunidine, la cyanidine et la delphinidine. Elles diffèrent de par la position et le nombre des groupes hydroxyle (OH) et méthoxy (OCH_3) localisés sur le cycle B de la molécule (figure 23). Les anthocyanes sont principalement présentes sous forme monoglucoside. Cependant, une partie peut avoir des groupements acyl en C6 sur le glucose, par estérification avec les acides acétique, *p*-coumarique et caféique (figure 23) (Baldi et al., 1995; Burns et al., 2002; Monagas et al., 2005; He et al., 2012). De plus, certaines anthocyanes peuvent se trouver sous forme diglucoside en quantité très faible dans les baies, comme démontré par Castillo-Muñoz et al., en 2009b.

Les quantités d'anthocyanes présentes dans les baies dépendent largement des variétés (Lorrain et al., 2013), ainsi que du climat. Dans les vins rouges jeunes, la quantité d'anthocyanes moléculaires présentes se situe aux alentours des 500 mg/L, même si cette valeur peut monter jusqu'à 2 g/L. L'anthocyane majoritaire du vin rouge est la malvidine-3-*O*-glucoside ainsi que ses dérivés, où elle peut représenter moins de 50 % dans le Sangiovese

jusqu'à 90 % dans le Grenache. Inversement, de façon générale, la pélargonidine est l'anthocyane la plus difficile à détecter de par sa faible concentration (He et al., 2012).



Anthocyanidine	R1	R2
Pélargonidine	H	H
Cyanidine	OH	H
Delphinidine	OH	OH
Péonidine	OCH_3	H
Pétunidine	OCH_3	OH
Malvidine	OCH_3	OCH_3

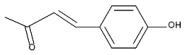
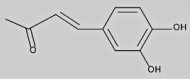
Substitutions	R3
acétyl	
p-coumaroyl	
caféoyl	

Figure 23 : Structure générale des anthocyanes (en haut). Le tableau de gauche correspond aux noms génériques des anthocyanidines. Le tableau de droite donne les substitutions possibles sur le glucose.

b) Couleurs et équilibres

Dans les vins rouges jeunes, les anthocyanes monomériques se répartissent sous différentes formes en fonction d'équilibres dynamiques liés au pH, mais aussi en partie à la présence de dioxyde de soufre dans les vins. Les constantes d'hydratation (Kh) et de transfert de protons (Ka) sont des constantes thermodynamiques permettant de définir la distribution des différentes formes en conditions acides (Brouillard and Delaporte, 1977; Brouillard and Dubois, 1977; Brouillard et al., 1978; Cheminat and Brouillard, 1986).

La figure 24 présente la répartition des différentes formes d'anthocyanes en fonction du pH. Ce qui nous intéresse particulièrement, est la zone située entre pH 3 et pH 4, car elle correspond au pH des vins rouges de manière générale.

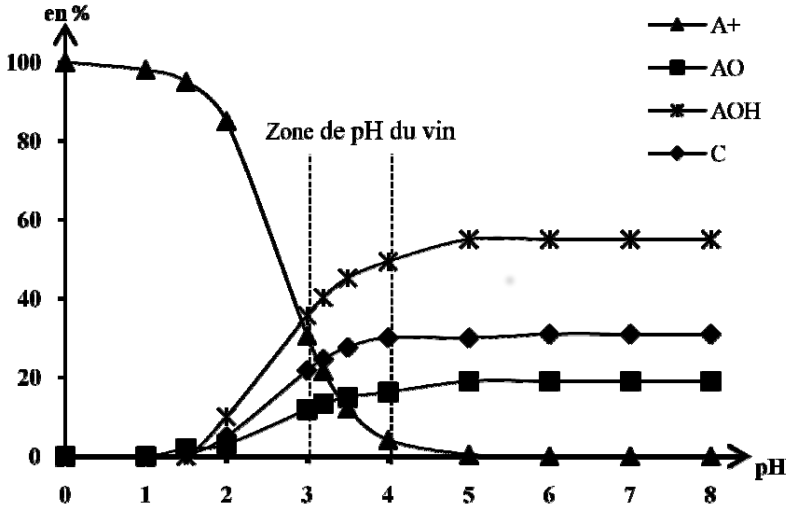


Figure 24 : Evolution des différentes formes d'anthocyanes selon le pH (Glories, 1984). Figure tirée de Chira, 2009.

Or, dans cette zone, il est clair que la forme majoritaire des anthocyanes est la forme carbinol AOH, incolore, suivi par la forme chalcone C, jaune pâle, puis la forme quinonique AO, bleu-violet (voir figure 24). En revanche, pour les cations flavylium A^+, c'est-à-dire ceux qui contribuent à la couleur rouge des vins, leur proportion est sujette à de très fortes variations. En effet, à pH 3, ils représentent un peu plus de 30 % de toutes les formes alors qu'à pH 4, moins de 10 %.

Finalement, comme montré sur la figure 25, seules les formes quinoniques, chalcones et flavylium possèdent des propriétés colorantes. Le composé flavène adduit bisulfite, ainsi que les bases carbinol, sont incolores. La forme flavylium se tient au centre des équilibres, qui sont gérés par des mécanismes réactionnels de type acido-basique et d'hydratation (figure 25). La conversion en base quinonique se produit par un transfert rapide de proton. C'est une hydratation suivie d'un transfert de proton, le tout rapidement, qui permet le passage de la forme flavylium à la forme carbinol. L'ouverture de l'hétérocycle, ainsi que le réarrangement de la pseudo-base carbinol qui aboutissent à la formation de la *cis*-chalcone s'opèrent de façon lente (Brouillard and Delaporte, 1977; Brouillard and Dubois, 1977; Brouillard et al., 1978; Cheminat and Brouillard, 1986; He et al., 2012).

Au vu de ces données, il devient évident que le pH influence grandement la couleur des vins jeunes, puisque, lors d'une augmentation de pH, la proportion en cations flavylium diminue de façon drastique tandis que la forme pseudobase carbinol, qui est incolore, représente la plus grosse proportion des formes d'anthocyanes. Cependant, le dioxyde de soufre est aussi un élément important à prendre en compte dans le rôle que jouent les anthocyanes en matière de coloration. En effet, le dioxyde de soufre a la capacité de décolorer les anthocyanes libres par addition nucléophile en position C4 sur le cycle C des cations flavylium (figure 25). A pH 3,2, environ 96 % du dioxyde de soufre est présent sous la forme HSO_3^- qui peut réagir et décolorer les ions flavylium.

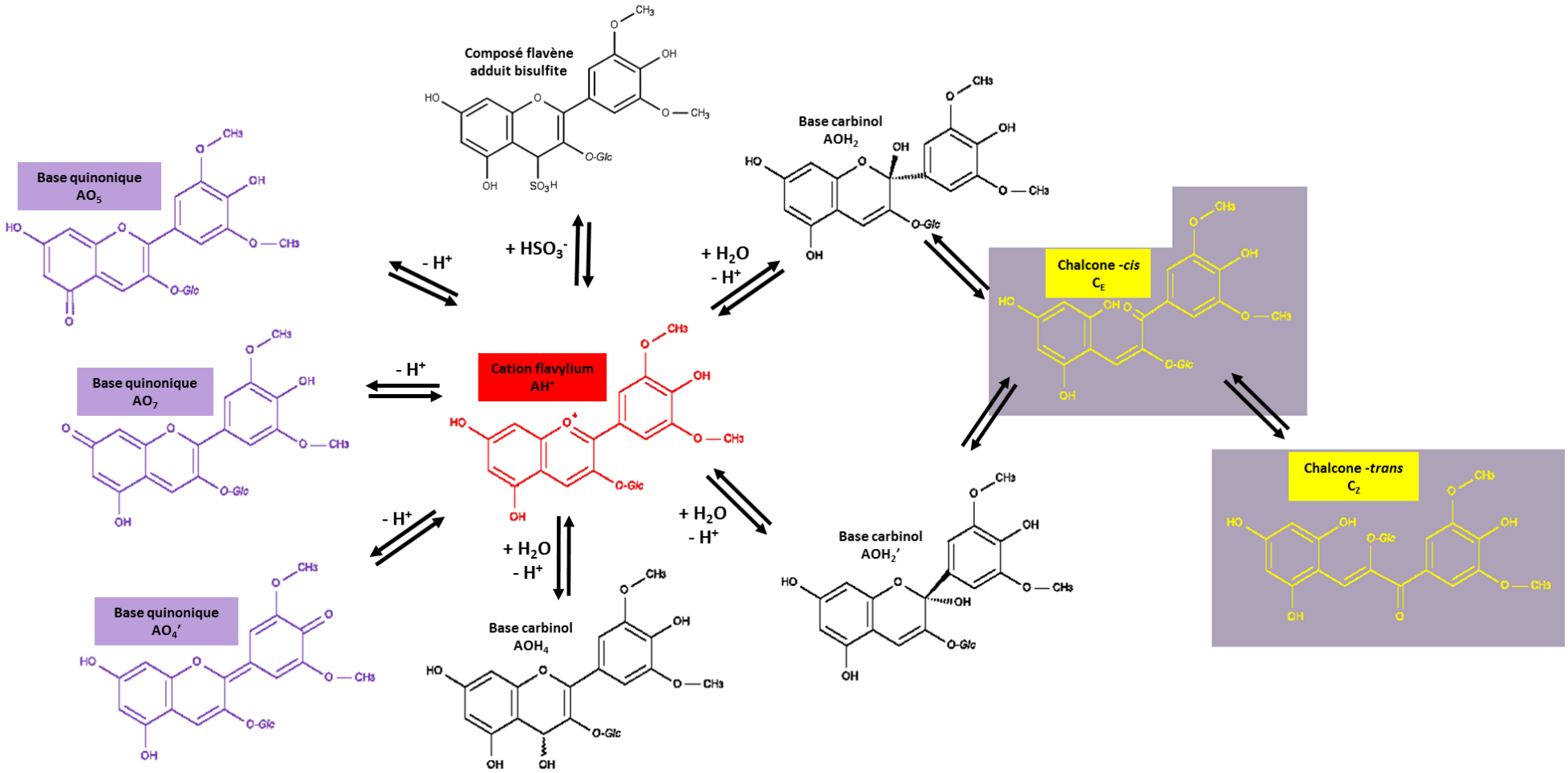


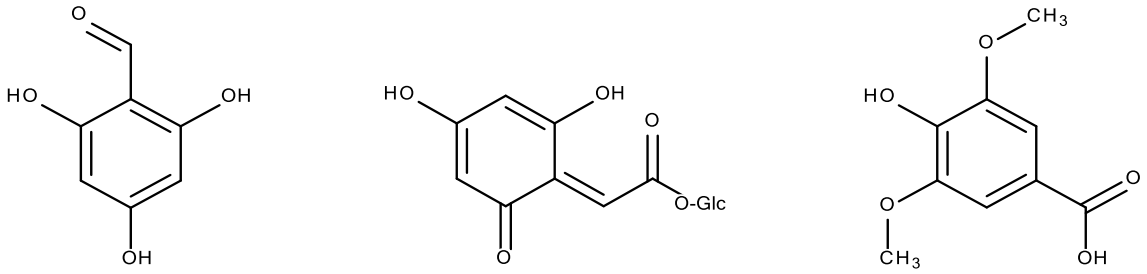
Figure 25 : Structures des différentes formes d'anthocyanes en équilibre dans un milieu (Brouillard and Delaporte, 1977; Brouillard and Dubois, 1977; Brouillard et al., 1978; Cheminat and Brouillard, 1986). **N.B :** exemple pris avec la malvidine-3-*O*-glucoside

D. Les composés phénoliques et leurs évolutions

I. Mécanismes de dégradation des anthocyanes

Les anthocyanes, une fois en solution, ne restent pas très stables au cours du temps. En effet, il a été démontré que la lumière, une température plus élevée ainsi que la présence d'oxygène favorisent la dégradation des anthocyanes au cours du temps (Bordignon-Luiz et al., 2007; Hillmann et al., 2011; Morais et al., 2002).

Des réactions d'oxydation peuvent aussi engendrer la dégradation des anthocyanes. Par exemple, Sarni-Manchado et al., en 1997, ont montré que dans une solution modèle contenant de la malvidine-3-*O*-glucoside, de l'acide caftarique et de la polyphénol-oxydase (PPO), il y avait disparition de la malvidine-3-*O*-glucoside et apparition d'adduits anthocyane-acide caftarique, après oxydation de l'acide caftarique en *o*-quinone par la PPO. En 2007, Lopes et al., ont démontré que la malvidine-3-*O*-glucoside seule, en présence d'oxygène et de fer, se dégrade pour former de l'acide syringique, du 2,4,6-trihydrohybenzaldéhyde et un nouveau composé, dénommé malvone A (voir figure 1 pour les structures des produits de réaction).



2,4,6-trihydrohybenzaldéhyde **Malvone A** **Acide syringique**

Figure 1 : Produits de dégradation de la malvidne-3-*O*-glucoside en conditions oxydatives (Lopes et al., 2007)

II. Mécanismes d'évolution et réarrangements moléculaires

Au cours de l'élaboration et de l'élevage du vin, les composés phénoliques présents subissent des réorganisations au cours du temps et ce, en fonction des paramètres chimiques du vin rouge (température, pH, etc …) ainsi que des méthodes de vinification et conditions d'élevage. Cette partie indique les différentes réactions chimiques donnant lieu à ces réarrangements moléculaires entre les polyphénols natifs du raisin.

1. Réactions de condensations directes

a) Condensation directe anthocyane-tannin (A-T)

Dans ce type de réaction, l'anthocyane se situe en haut de la chaîne et joue le rôle d'électrophile au niveau de la position C4. Un carbocation vient ensuite attaquer cette position C4, comme par exemple des unités flavan-3-ols de (+)-catéchine et (-)-épicatéchine, ou encore des tannins condensés polymérisés. L'attaque nucléophile se réalise en position C6 ou C8, donnant lieu à une polymérisation de type C4-C6/C8 (figure 2). Cette condensation peut entraîner une liaison de type A et conduit à former un composé incolore (figure 2). [ref bishop 1984). Une autre possibilité est toutefois possible, celle d'évoluer en sel de xanthyliums de couleur jaune par oxydation (figure 2) (Jurd and Somers, 1970; Monagas et al., 2005; Timberlake and Bridle, 1976).

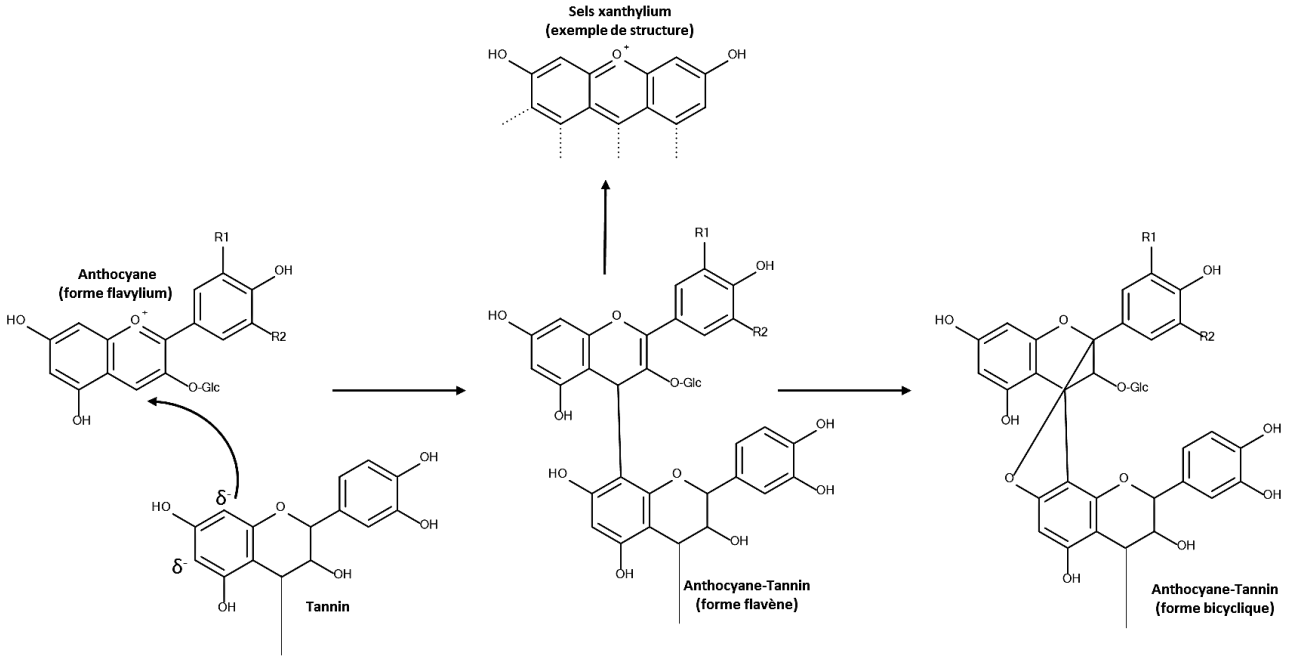


Figure 2 : Condensation directe Anthocyane-Tannin et ses deux évolutions possibles (Jurd and Somers, 1970; Monagas et al., 2005; Timberlake and Bridle, 1976).

b) Condensations directes Tannin-Anthocyane et Tannin-Tannin :

Il s'agit du deuxième type de condensation directe. Cette réaction commence par une hydrolyse en milieu acide des unités polymériques de tannins présentes dans le vin. Sur la figure 3, l'exemple est donné avec un dimère procyanidique B1. L'hydrolyse permet de libérer l'unité supérieure sous forme de carbocation nucléophile en position C4. Celui-ci peut ensuite réagir avec un électrophile, comme une anthocyane sous forme carbinol AOH, ou un autre tannin (figure 3) (Haslam, 1980; Monagas et al., 2005). Ce type de réaction illustre bien la dynamique évolutive d'un vin rouge au cours du temps, puisqu'elle fait intervenir des réactions de dépolymérisation (l'hydrolyse en milieu acide) suivies par des réactions de condensation (polymérisation) par les carbocations qui ont été générés.

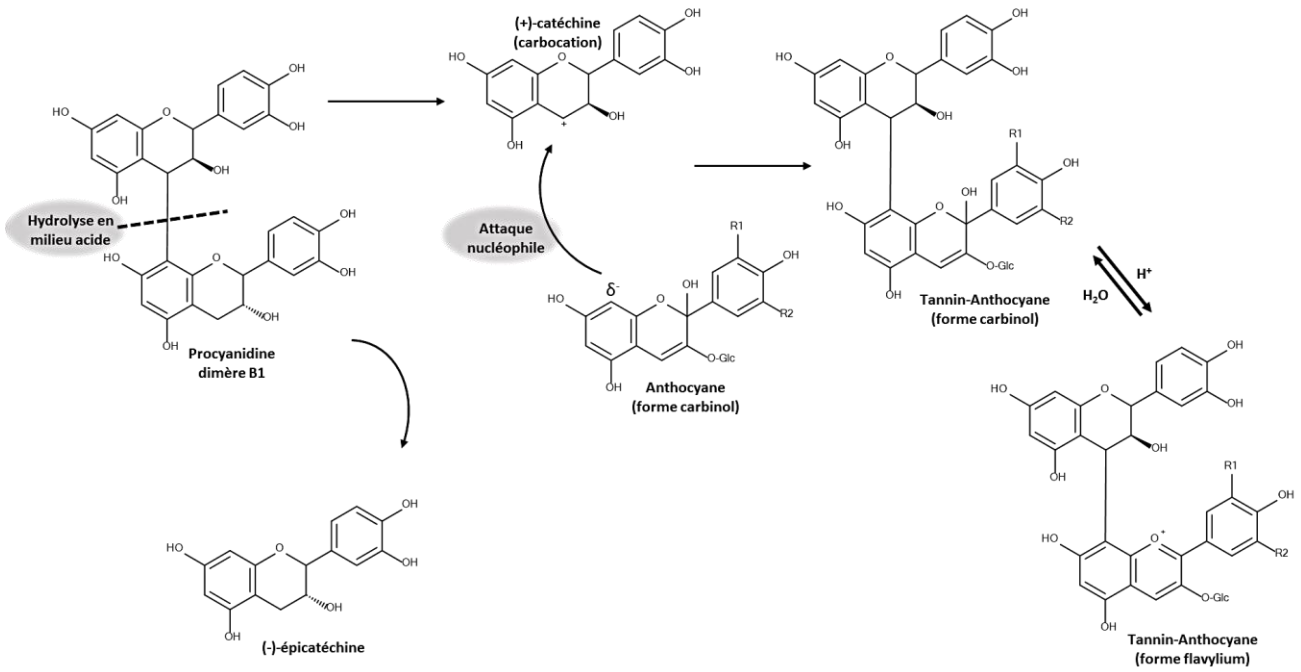


Figure 3 : Condensation directe Tannin-Anthocyane (Haslam, 1980; Monagas et al., 2005). **N.B :** L'anthocyane peut être remplacée par un tannin, donnant une condensation directe Tannin-Tannin.

c) Réactions de condensation entre ellagitannins et polyphénols du vin :

Au cours de la maturation du vin en barriques, les composés extractibles, tels que les ellagitannins présents dans le bois vont progressivement être extraits et se retrouver dans le vin. Comme montré sur la figure 4, les ellagitannins sont présents en quantité maximale après 3 mois de contact entre le vin et la barrique, puis leur teneur diminue progressivement jusqu'à la fin de l'expérimentation (Jourdes et al., 2011).

Une fois extraits, les ellagitannins peuvent ensuite se lier aux polyphénols du raisin présents dans le vin pour aboutir à la formation de nouvelles molécules. Plusieurs études ont pu mettre en évidence et quantifier la présence de nouvelles molécules.

La β-1-*O*-éthylvescalagine est un dérivé d'ellagitannins découlant de la condensation entre la vescalagine et l'éthanol, présent dans le vin. Sa structure est donnée figure 5. De la même façon, la condensation entre la vescalagine et la (+)-catéchine ou la (-)-épicatéchine va donner lieu à des dérivés d'ellagitannins appelés acutissimines A et B, ainsi que les épiacutissimines A et B. Enfin, en dernier lieu, la réaction entre la malvidine-3-*O*-glucoside sous sa forme carbinol et la vescalagine va conduire à la formation d'un anthocyano-ellagitannin. Ce composé a un bathochromisme de 25 nm, ce qui décale sa couleur vers le violet (Chassaing et al., 2010; Quideau et al., 2005; Saucier et al., 2006).

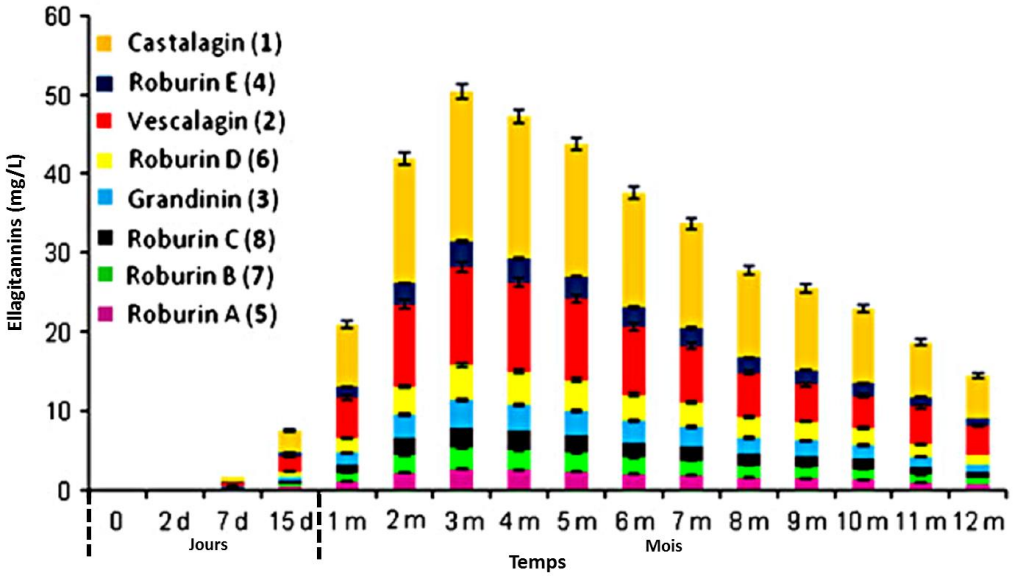


Figure 4 : Cinétique d'extraction des ellagitannins en barrique (Jourdes et al., 2011).

Toutes les réactions chimiques expliquant la formation de ces composés passent par la formation, en milieu acide, de la 1-β-déoxyvescalagine, jouant ainsi le rôle de carbocation (Quideau et al., 2005). La réaction est montrée en figure 6. C'est sur ce carbocation que vont venir se fixer l'éthanol, la (+)-catéchine ou la (-)-épicatéchine, ainsi que la malvidine-3-*O*-glucoside pour former les nouveaux composés tels que décrits figure 5.

Les cinétiques de formation de certains de ces composés ont été évaluées dans une étude menée par Jourdes et al., en 2011. Comme on peut le voir sur la figure 7, il faut attendre 1 mois avant que n'apparaissent les premiers composés. Cependant, les quantités présentes dans ce travail sont faibles, puisque le maximum atteint au bout de 11 mois est de 1,4 mg/L, pour la somme de ces composés (figure 7).

Une étude très récente datant de 2013, menée par Petit et al., a mis en évidence des composés découlant de l'oxydation des acutissimines A et B. Il s'agit des mongolicaïnes A et B, ainsi que des analogues de cameliatannines G. Les mongolicaïnes ont été détectées dans un vin rouge élevé en barrique. Les structures sont données figure 8. Les structures découlant de l'acutissimine B existent aussi. Cependant, il semblerait que celles découlant des épiacutissimines, formées avec une (-)-épicatéchine à la place de la (+)-catéchine, n'aient pu être identifiées.

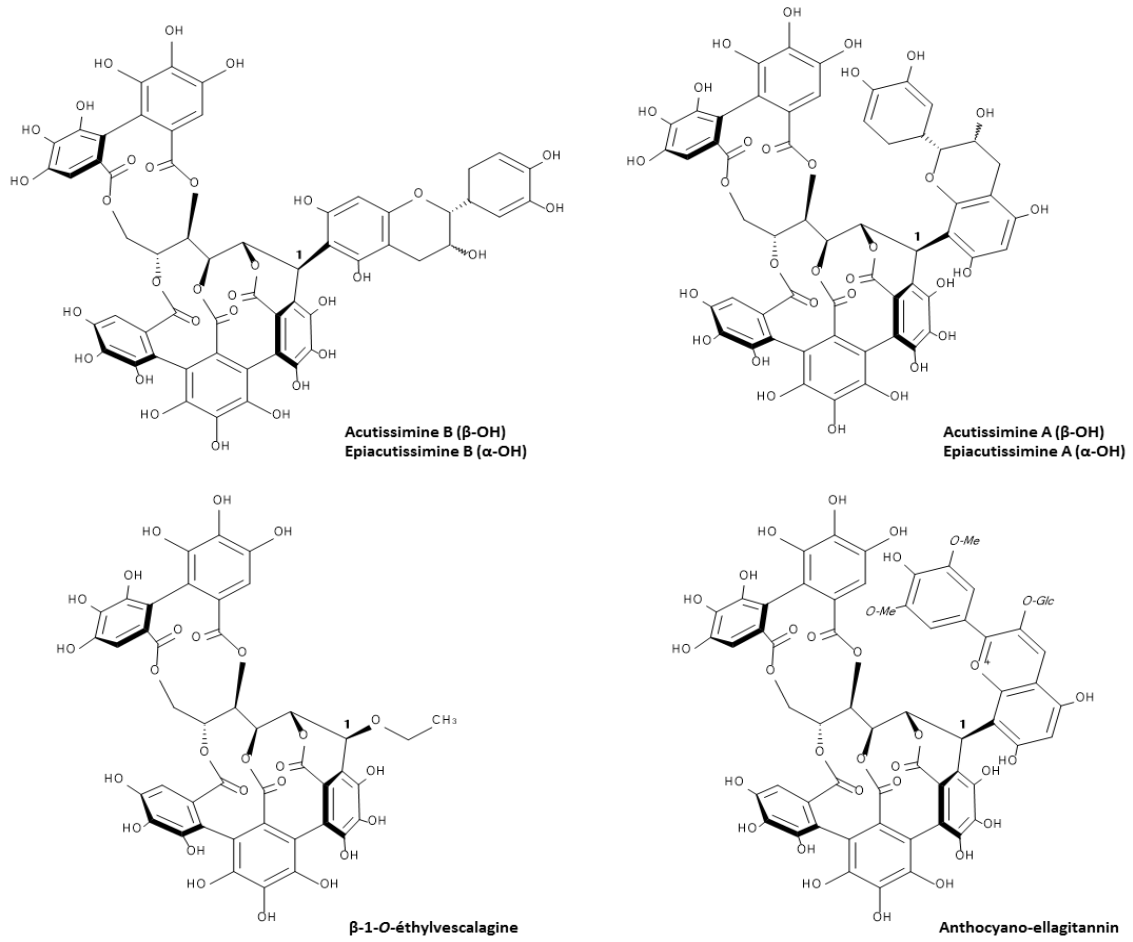


Figure 5 : Structures des différents dérivés d'ellagitannins détectés et quantifiés dans le vin rouge élevé en barrique (Saucier et al., 2006; Chassaing et al., 2010; Jourdes et al., 2011)

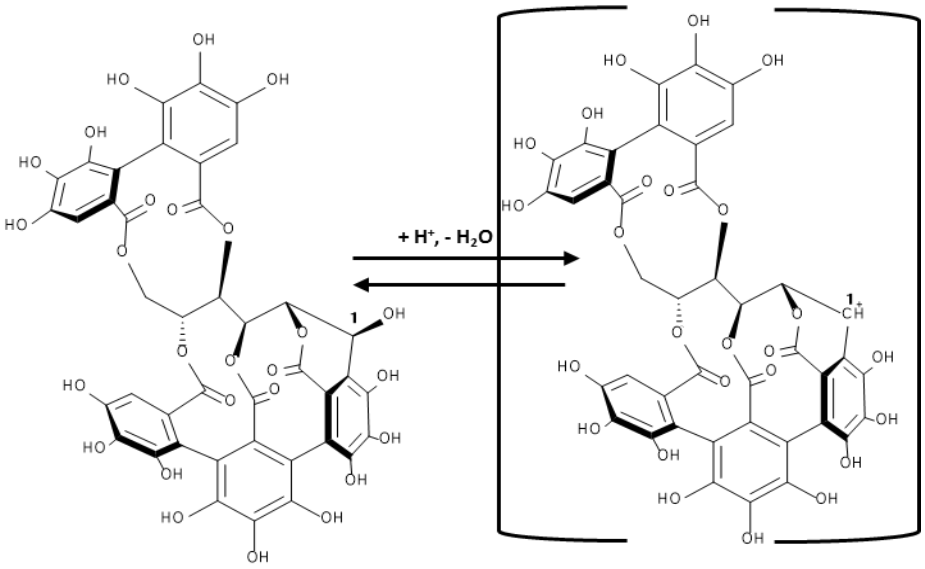


Figure 6 : Transformation de la vescalagine en 1-β-déoxyvescalagine dans un milieu acide (Quideau et al., 2005).

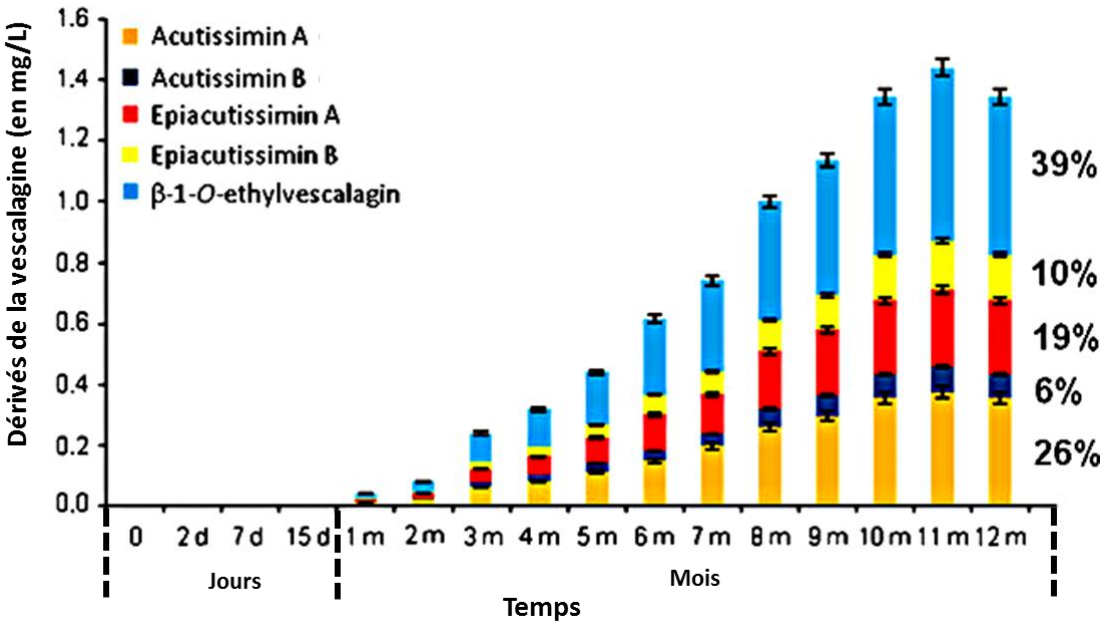


Figure 7 : Cinétique de formation des produits dérivés de la vescalagine dans un vin élevé en fût de chêne français, chauffe moyenne (Jourdes et al., 2011).

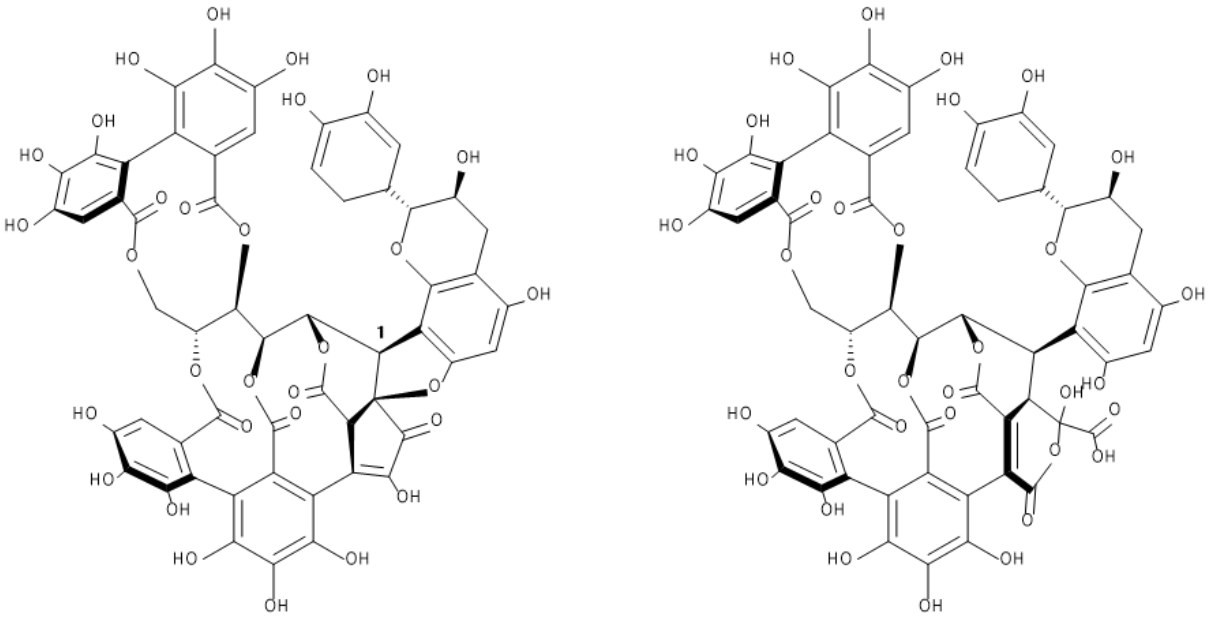


Figure 8 : Structures de la mongolicaïne A (à gauche) et un analogue de la caméliatannine G (à droite) (Petit et al., 2013).

2. Réactions indirectes

Les réactions indirectes font intervenir d'autres composés, comme l'acétaldéhyde et l'acide glyoxylique. Or, ces composés ne sont pas présents à l'état natif mais proviennent d'autres composés : l'acétaldéhyde provient de l'oxydation de l'éthanol, et l'acide glyoxylique de l'oxydation de l'acide tartrique. Ainsi, les réactions indirectes découlent principalement de réactions d'oxydation liées à l'intervention de l'oxygène.

L'éthanol ainsi que l'acide tartrique présents dans le vin ne peuvent pas réagir directement avec l'oxygène. Des intermédiaires échangeurs d'électrons, comme les ions fer Fe^{3+} et cuivre Cu^{2+} sont nécessaires à l'enclenchement de ces réactions d'oxydation.
Comme présenté sur la figure 9, l'ion Fe^{3+} est capable d'arracher un électron aux cycles catéchols présents dans les polyphénols du vin. Le cycle catéchol devient alors instable, et va donc passer sous forme quinone. L'ion Cu^{2+} va ensuite échanger l'électron de l'ion Fe^{2+} pour former l'ion superoxyde HO_2° en milieu acide et en présence d'oxygène, régénérant ainsi l'ion Fe^{3+} de départ. Cet ion superoxyde va à nouveau pouvoir attaquer un cycle catéchol pour créer une autre quinone. Par cette action, le radical superoxyde se transforme en peroxyde d'hydrogène H_2O_2. Le peroxyde d'hydrogène est donc un produit découlant de l'oxydation des cycles catéchols (Danilewicz, 2003).
Le peroxyde d'hydrogène ainsi généré va pouvoir oxyder des composés comme l'éthanol en acétaldéhyde, et l'acide tartrique en acide glyoxylique (figure 9, partie de droite).

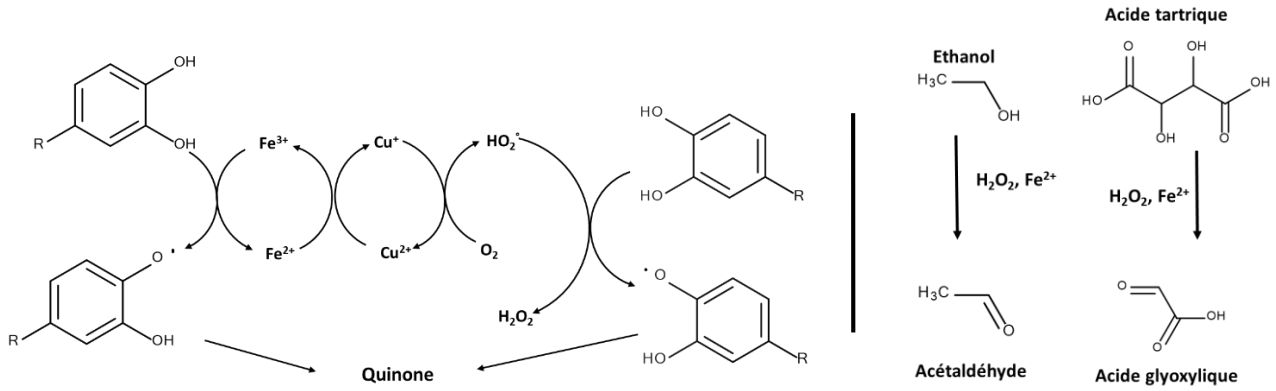


Figure 9 : Mécanismes d'oxydation généraux dans les vins. **A gauche :** formation des quinones. **A droite :** génération de l'acétaldéhyde et de l'acide glyoxylique (Danilewicz, 2003).

Une fois l'acétaldéhyde et l'acide glyoxylique générés, ils vont pouvoir entrer dans des réactions amenant des polymérisations entre anthocyanes et tannins. La figure 10 montre des mécanismes réactionnels engendrés par l'acétaldéhyde.

a) Les polymérisations par ponts éthyl

En milieu acide, l'acétaldéhyde peut se fixer en position C8 sur un tannin. Puis, toujours en milieu acide et par déhydratation, le carbocation ainsi généré va pouvoir réagir avec un électrophile, comme

une anthocyane (exemple figure 10). Cependant, il est aussi possible que la réaction se fasse avec un tannin de la même façon. Au final, les deux composés (Tannin-Anthocyane ou Tannin-Tannin) sont liés par un pont éthyl participant à la polymérisation (Timberlake and Bridle, 1976; Fulcrand et al., 1996a; Es-Safi et al., 1999a; Atanasova et al., 2002; Monagas et al., 2005; Teissedre and Jourdes, 2013).

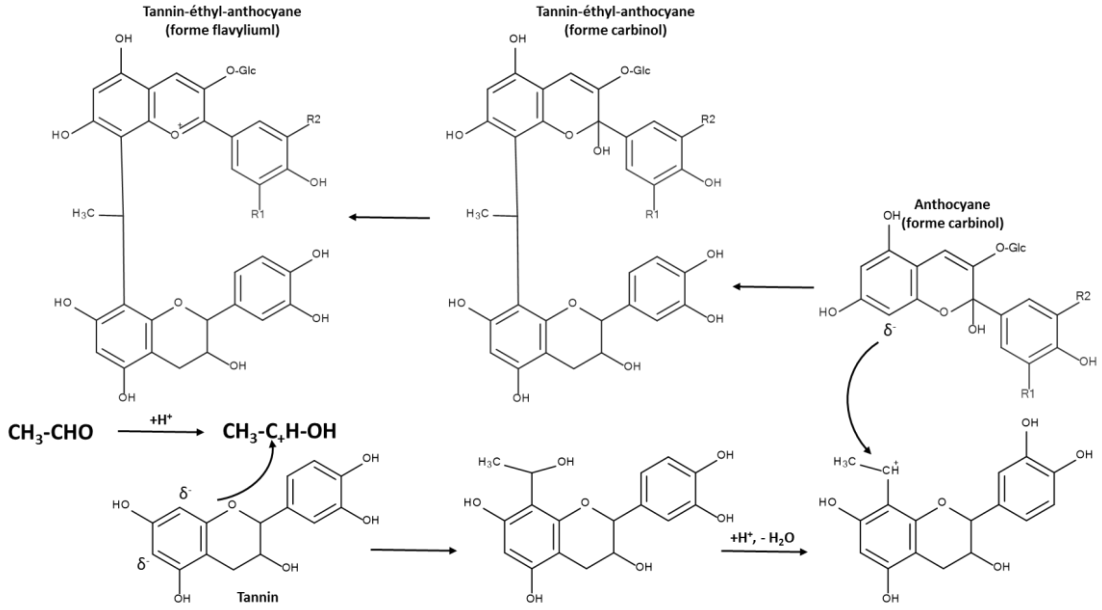


Figure 10 : Formation des ponts éthyl par l'acétaldéhyde (Timberlake and Bridle, 1976; Atanasova et al., 2002; Monagas et al., 2005).

b) Les polymérisations par l'acide glyoxylique

Comme expliqué précédemment, les réactions d'oxydation peuvent entraîner la formation d'acide glyoxylique à partir de l'acide tartrique présent dans le vin. Celui-ci peut, de la même manière que l'acétaldéhyde, se fixer sur des tannins (figure 11) et engendrer des ponts carboxyméthine. Ensuite, par une succession de déshydratation et oxydation, ces deux composés vont aboutir à la formation de sels xanthylium qui absorbent entre 440 et 460 nm (Es-Safi et al., 1999b, 2000; Es-Safı et al., 1999). Ces voies réactionnelles sont intéressantes, car elles mettent en évidence la possibilité pour des flavan-3-ols d'aboutir à des composés colorés que sont les sels xanthylium.
Dans la figure 11, le pont carboxyméthine est formé entre les positions C8 des deux composés. Mais cette liaison peut aussi se faire entre les positions C6, ou encore entre C6 et C8. Or, chacune de ces liaisons va former un sel xanthylium de structure différente en fin de réaction (non montré).

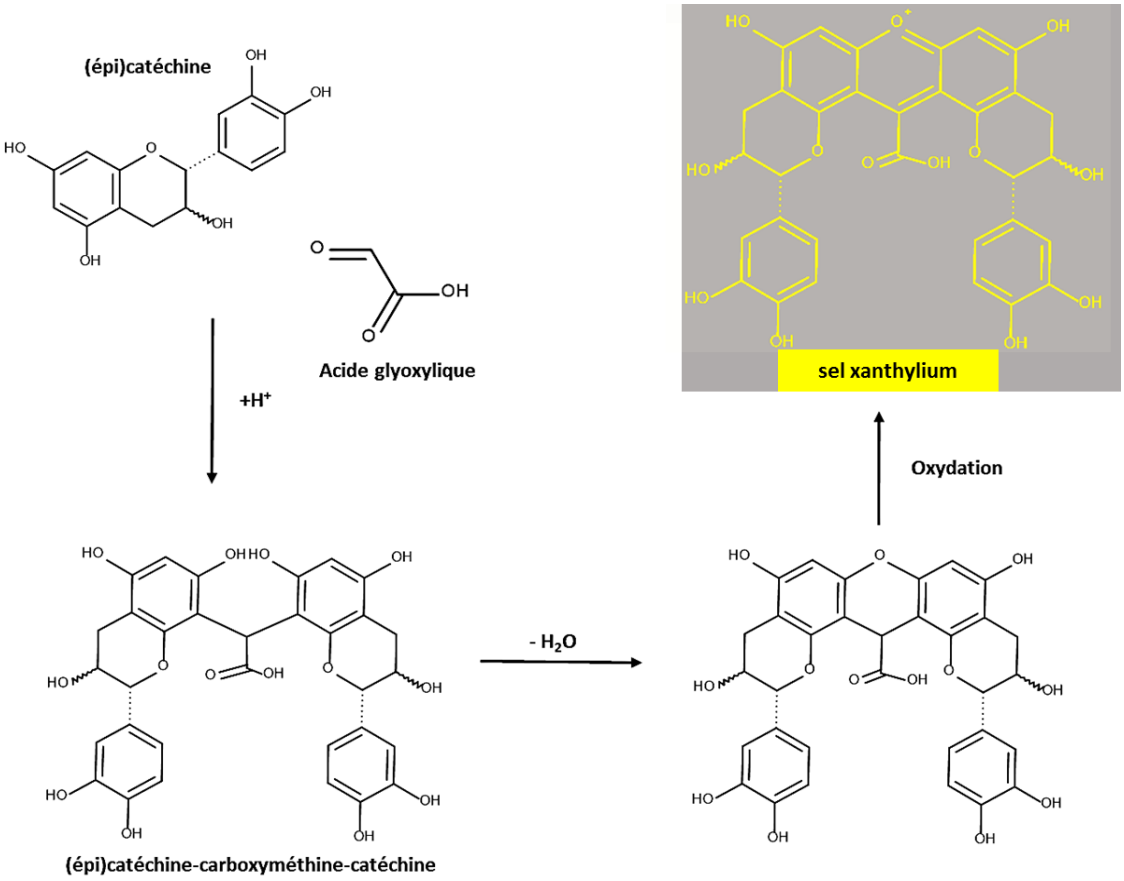


Figure 11 : Polymérisations par l'acide glyoxylique et formation de sels xanthylium (Es-Safi et al., 1999a, 1999b, 2000).

c) Formation et propriété des pyranoanthocyanes

Le dernier type de réactions de réarrangement qui peuvent se produire dans les vins rouges réside dans la formation des pyranoanthocyanes. D'un point de vue structural, une pyranoanthocyane est formée à partir d'une anthocyane, à laquelle un cycle supplémentaire (cycle D) est ajouté entre les cycles A et C (figure 12). Leur formation peut se faire de plusieurs façons. D'une part, au cours de la fermentation alcoolique, les levures génèrent de l'acide pyruvique et de l'acétaldéhyde (ce dernier provenant aussi de l'oxydation de l'éthanol). Ces deux métabolites participent donc à la formation des pyranoanthocyanes, comme cela sera expliqué par la suite. D'autre part, la réaction entre anthocyane et vinylphénols, ou encore entre anthocyane et vinylcatéchols, peut engendrer la formation de pyranoanthocyanes. Cette réaction peut se produire jusqu'au cours de la conservation.

La première voie de réaction exposée ici concerne donc la réactivité directe entre une anthocyane native (telle que la malvidine-3-*O*-glucoside) et un composé carbonylé (acide pyruvique et acétaldéhyde principalement). Le composé carbonylé doit se trouver sous sa forme énol pour réagir avec les positions C4 et C5 de l'anthocyane native. La cyclisation du cycle D se fait ensuite par déshydratation, puis oxydation (figure 13) (De Freitas and Mateus, 2011).

Au cours de la fermentation alcoolique, les carboxypyranoanthocyanes (vitisines A) sont les plus susceptibles d'être formées, puisque l'acide pyruvique est présent en grande quantité au cours de cette période.

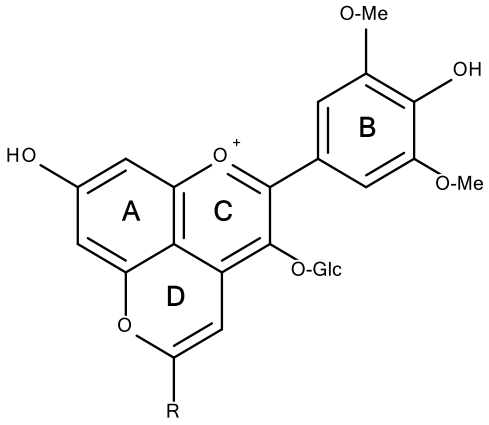
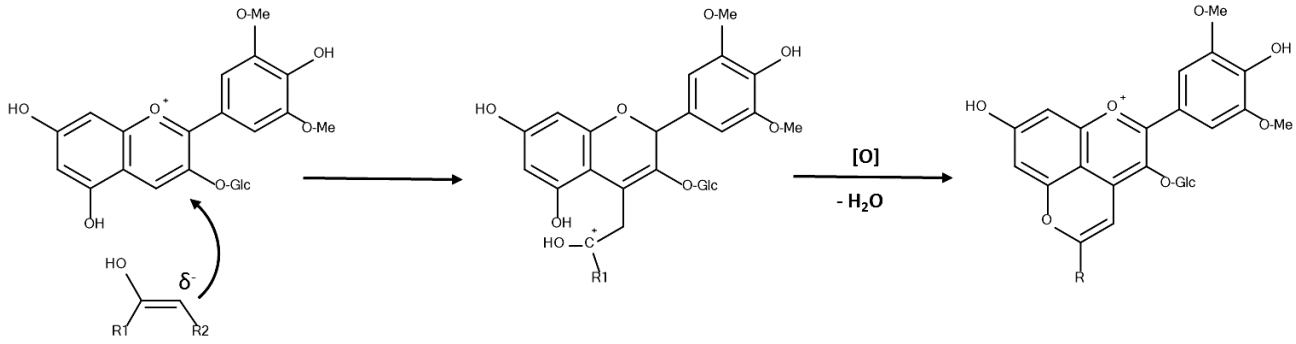


Figure 12 : Structure générale de pyranoanthocyane, sur l'exemple d'une malvidine-3-*O*-glucoside. **R = COOH :** carboxypyranoanthocyane (vitisine A) ; **R = H :** pyranoanthocyane (vitisine B).



Composé carbonylé	R1	R2
Acide pyruvique	COOH	H
Acétaldéhyde	H	H

Type de pyranoanthocyane	R
Pyranoanthocyane (vitisine B)	H
Carboxypyranoanthocyane (Vitisine A)	COOH

Figure 13 : Voie de génération d'une (carboxy)pyranomalvidine.

Des structures plus complexes ont été trouvées dans les vins rouges, comme notamment les pyranoanthocyanes-flavanols (Vivar-Quintana et al., 1999; Monagas et al., 2003; He et al., 2006). Ces composés comprennent une pyranoanthocyane à laquelle sont fixées une, ou plusieurs unités de tannins.

La formation de ces composés se ferait par la réaction entre un vinylflavanol et une anthocyane, toujours entre sa position C4 et C5 pour aboutir à la cyclisation du cycle D (figure 14) (Fulcrand et al., 1996b). Cependant, les vinylflavanols ne sont pas nativement présents dans les baies. Il a donc été postulé que leur apparition serait consécutive à la dégradation de structures liées par un pont éthyl (voir Synthèse bibliographique, partie D, II-2-a).

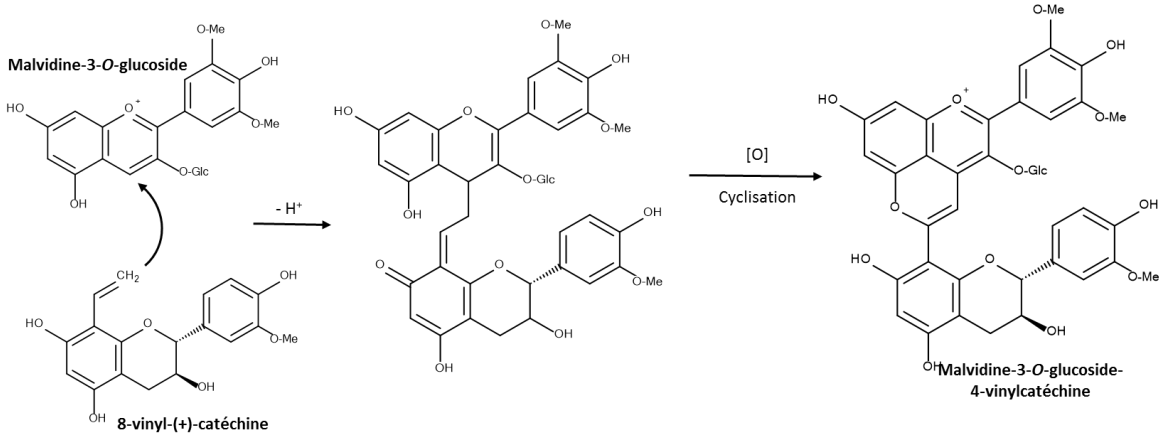


Figure 14 : Réaction de formation des pyranoanthocyanes-vinylflavanols (De Freitas and Mateus, 2011).

La présence de pyranoanthocyanes dans les vins rouges n'a pas un impact négligeable au niveau des propriétés colorimétriques. En effet, plusieurs publications mettent en évidence la capacité qu'ont ces composés à stabiliser la couleur du vin et ceci de plusieurs manières différentes.

Premièrement, comme expliqué précédemment dans la partie consacrée aux anthocyanes (Synthèse bibliographique, partie C-IV-5), ces dernières sont en équilibre sous différentes formes, en fonction du pH et de la présence de SO_2. Seul le cation flavylium A^+ arbore une couleur rouge. Seulement, la proportion d'anthocyanes présentes sous cette forme au pH du vin (entre 3 et 4) varie entre 10 et 30 %.

D'après le tableau 1, à pH 1, la malvidine-3-*O*-glucoside a un coefficient d'extinction molaire de 14 519, tandis qu'à pH 3,6, celui-ci diminue à seulement 3 613, indiquant une baisse importante de pouvoir colorant. Si l'on prend en revanche la carboxypyranomalvidine (vitisine A), à pH 1, son coefficient d'extinction molaire est inférieur à celle de la malvidine-3-*O*-glucoside avec 8 987, mais comme il varie très peu à pH 3,6 avec 8 918, son pouvoir colorant se retrouve supérieur à celui de la malvidine-3-*O*-glucoside native à pH du vin (tableau 1). On remarque aussi que, de façon générale, toutes les pyranoanthocyanes quelle que soit leur nature ont un coefficient d'absorption supérieur à celui de la malvidine-3-*O*-glucoside à pH 3,6. Cependant, leur longueur d'onde d'absorption maximale est inférieure, entre 506 et 514 nm, elles ont donc une couleur tendant plutôt vers l'orange (tableau 1) (Håkansson et al., 2003; He et al., 2010; De Freitas and Mateus, 2011;).

Tableau 1 : Coefficients d'extinction de quelques (carboxy)pyranoanthocyanes comparativement avec la malvidine-3-*O*-glucoside (Håkansson et al., 2003; He et al., 2010; De Freitas and Mateus, 2011)

		ε (en mol^{-1} dm^3 cm^{-1})	
Composé	λ_{Max} (nm)	pH 1	pH 3,6
Mv-3-*O*-Glc	528	14 519	3 613
Carboxypymv-3-*O*-Glc (Vitisine A)	514	8 987	8 918
pyMv-3-*O*-Glc-(+)-catechin	506	14 823	14 855
pyMv-3-*O*-Glc-(-)-epicatechin	506	6 085	8 025
pyMv-3-*O*-Glc-(+)-catechin-(+)-catechin	514	4 511	6 845

En plus d'être plus fortes en pouvoir colorant, les (carboxy)pyranoanthocyanes possèdent une très forte résistance face à la décoloration par le SO_2. En effet, comme montré sur la figure 15 A, avec des concentrations croissantes en SO_2, la malvidine-3-*O*-glucoside finit par être complètement décolorée. En revanche, en ce qui concerne la carboxypyranomalvidine-3-*O*-glucoside (vitisine A), pour la même quantité de SO_2, l'absorbance ne diminue que de 20 % (He et al., 2010) (figure 15 B).

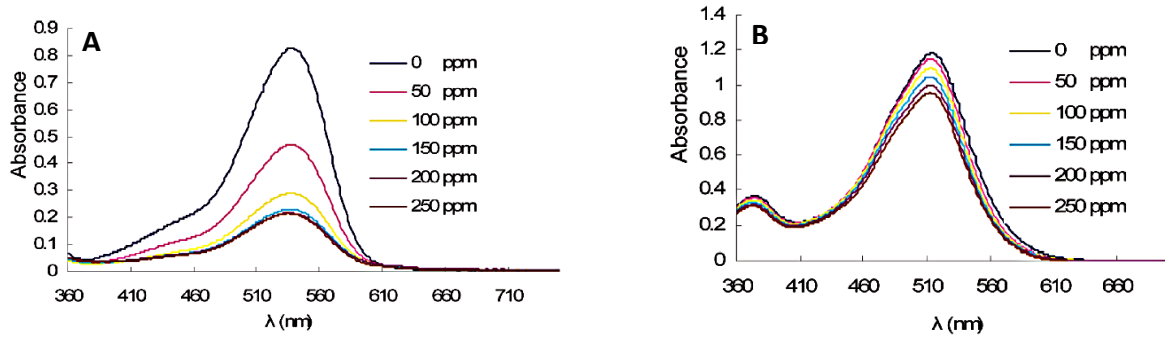


Figure 15 : Absorbances après décoloration croissante au SO_2. **A :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **B :** vitisine A (He et al., 2010)

D'autres formes de pyranoanthocyanes, plus complexes, peuvent se former à partir des structures présentées dans ce chapitre, et ont été mises en évidence dans des vins de Porto, où les conditions oxydatives sont plus extrêmes. Il s'agit de portisines. Succinctement, il s'agit de pyranoanthocyanes de seconde génération, puisque leur synthèse implique la présence d'une carboxypyranoanthocyane à laquelle va venir se fixer un vinylflavanol. Ces pigments possèdent une longueur d'onde d'absorption aux alentours de 570 nm, ce qui conduit à une couleur bleutée (Mateus et al., 2003; Oliveira et al., 2007).

Chapitre II - Utilisation de l'oxygène au cours de la vinification, de l'élevage ainsi que de la conservation du vin

A. L'oxygène : propriétés, comportement et notion de transfert

I. Généralités

L'oxygène est présent dans l'atmosphère ambiante dans une proportion d'environ 20,9 %. La pression atmosphérique étant de 1 013 hPa, sa pression partielle est de 0,209 x 1 013 = 212 hPa. C'est cette pression partielle qui influe sur la vitesse de dissolution de l'oxygène de l'air (ou une bulle d'air) au vin. Ainsi, dans un espace gazeux composé uniquement d'oxygène pur, la dissolution est favorisée, puisque la pression partielle est alors égale à la pression totale. A 20 °C, 1 mL d'oxygène pur équivaut à 1,33 mg et dans du vin, la concentration maximale dissoute peut aller jusqu'à 8,4 mg/L. Cependant, avec une diminution de température, la concentration à saturation augmente, comme le montre le tableau 1 (valeurs mesurées dans de l'eau).

Tableau 1 : Concentrations à saturation de l'oxygène pur dans de l'eau, en fonction de la température (d'après Chiciuc, 2010, adapté de Perry et al., 1999).

Température (°C)	Concentration à saturation (mg/L)	Température (°C)	Concentration à saturation (mg/L)
5	61,1	**30**	37,5
10	54,4	**35**	35,1
15	48,9	**50**	30,3
20	44,4	**70**	26,8
25	40,6	**100**	25,4

En réalité, concernant la vitesse de dissolution de l'oxygène dans un liquide comme le vin, d'autres paramètres entrent en jeu, comme notamment les paramètres chimiques du liquide concerné : teneurs en sucres, en CO_2, en éthanol, ainsi que la viscosité du vin.

II. Notion de transfert d'oxygène

Ce paragraphe a pour but de relater les paramètres qui influent sur la vitesse de dissolution de l'oxygène dans un milieu hydro-alcoolique, en particulier le vin. Cette notion de transfert s'exprime par la quantité d'oxygène transférée par unité de temps, et correspond aux paramètres $k_L.a$, avec k_L le coefficient de transfert en $m.s^{-1}$ et « a », l'aire de contact à l'interface gaz/liquide en $m^2.m^{-3}$. Il est très difficile de connaître la valeur « a » car, expérimentalement, cela supposerait de connaître le diamètre et le nombre de bulles générées en un instant t. De ce fait, la détermination de la vitesse de transfert se fait en traçant la droite :

$$\ln\left[\left(C^*_{O_2} - C_{O_2 i}\right) \Big/ \left(C^*_{O_2} - C_{O_2 t}\right)\right]$$

Avec :

C^*_{O2} la concentration d'oxygène à saturation (8,4 pour du vin)

C_{O2i} la concentration d'oxygène initiale

C_{O2t} la concentration d'oxygène à chaque instant t

Le paramètre kL.a, en s^{-1}, se trouve ensuite par le coefficient directeur de la droite. Plus il est élevé, et plus le transfert d'oxygène est rapide. Cependant, cette vitesse de transfert peut être altérée, comme nous allons le voir dans le paragraphe suivant.

1. Paramètres influant sur le transfert d'oxygène

La température est un paramètre ayant une influence positive sur la vitesse de transfert de l'oxygène dans un liquide. Plus elle augmente, et plus le liquide voit sa viscosité diminuer, ce qui augmente la vitesse de transfert entre l'espace gazeux et le vin (Verhallen et al., 1984; Chiciuc et al., 2010).

De la même manière, ce paramètre de viscosité peut être modifié par la présence de sucres en fortes concentrations, tels que dans les moûts par exemple. Plusieurs études ont démontré que pour des concentrations en sucres supérieures à 250 g/L, la vitesse de transfert diminuait (Farines et al., 2005; Chiciuc et al., 2010). Cependant, comme la plupart des moûts ont une concentration en sucres comprise entre 150 et 250 g/L, ce paramètre est plutôt négligeable dans un cadre pratique de micro-oxygénation pendant la fermentation alcoolique.

Au cours de la fermentation alcoolique, en plus d'une forte teneur en sucres, la présence de dioxyde de carbone (CO_2) est aussi un facteur à prendre en compte, puisque ce dernier est dû à la présence des levures. En effet, il a été démontré qu'au-delà de 700 mg/L de CO_2 présent dans une solution hydro-alcoolique, les vitesses de transfert d'oxygène diminuent progressivement. A 1,4 g/L de CO_2 dissous, la vitesse de transfert est dix fois inférieure par rapport à une solution sans CO_2. L'explication serait que le CO_2 étant plus soluble que l'oxygène, lorsque ce dernier est envoyé dans la solution, il doit d'abord désorber le CO_2 présent afin de le remplacer (Farines et al., 2005; Devatine et al., 2007), diminuant ainsi la vitesse de transfert.

Tous ces paramètres ont donc une influence directe sur la vitesse de transfert de l'oxygène au cours de la vinification, de l'élevage et de la garde du vin. Chacune de ces étapes peut mettre en jeu des besoins en oxygène différents, ce que nous présentons ci-après

B. La macro-oxygénation

Certaines étapes, lors de l'élevage du vin rouge, apportent des quantités assez importantes d'oxygène, puisqu'elles peuvent atteindre plusieurs milligrammes par litre, dans un délai de seulement quelques heures. Ce sont ces quantités que nous classons dans la macro-oxygénation. La figure 1 est issue d'une étude menée par Castellari et al., en 2004. L'auteur a effectué des mesures d'oxygène après différents traitements classiquement réalisés lors d'un élevage de vin rouge, afin d'identifier lesquels apportent le plus d'oxygène dans le vin.

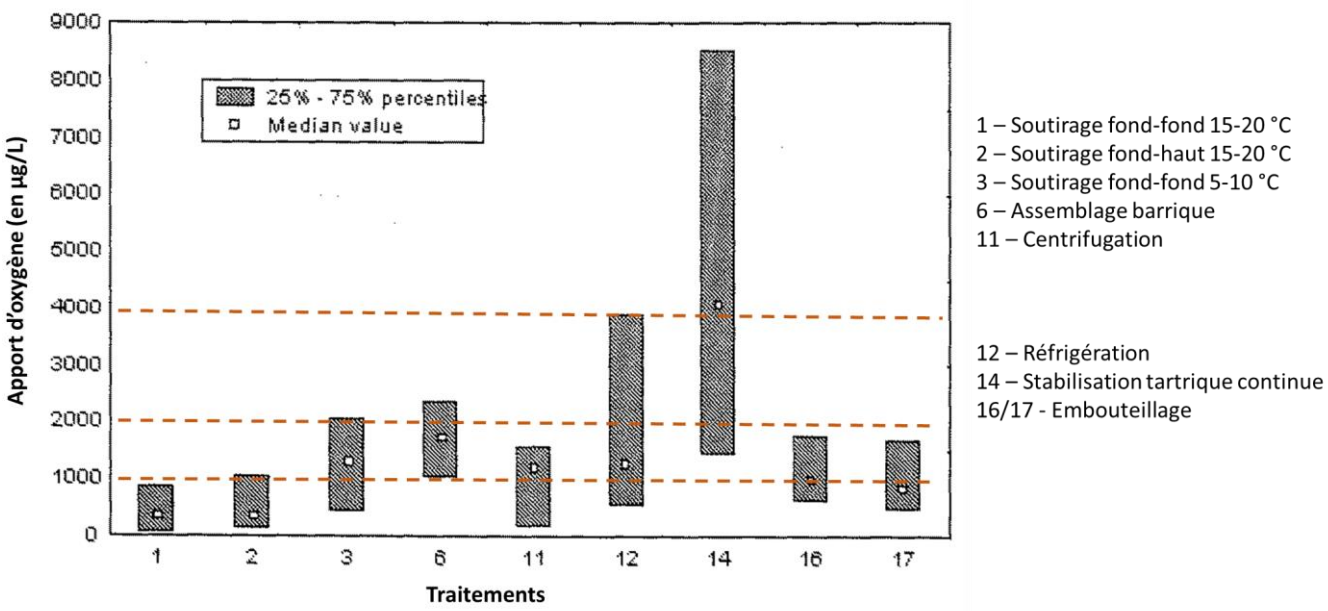


Figure 1 : Apport d'oxygène dans les vins généré par les différents traitements (Castellari et al., 2004).

Au vu de cette figure, il est clair que le procédé qui apporte la plus grande quantité d'oxygène est la stabilisation tartrique continue, avec une médiane de 4 mg/L soit 50 % de la saturation du vin en O_2 à

température ambiante ! L'assemblage barrique est le deuxième procédé apportant le plus d'oxygène, avec une médiane de presque 2 mg/L. Les soutirages entre fonds de cuves à faible température amènent plus d'oxygène qu'à température ambiante, ceci étant dû à une meilleure solubilisation de l'oxygène lorsque la température diminue. La centrifugation et la réfrigération amènent sensiblement la même quantité d'oxygène au vin, un peu plus que 1 mg/L, même si lors de la réfrigération l'apport peut potentiellement aller jusqu'à 4 mg/L. Enfin, les soutirages à température ambiante, ainsi que les embouteillages sont les étapes qui amènent le moins d'oxygène, avec des quantités inférieures à 1 mg/L (figure 1) (Castellari et al., 2004).

C. La micro oxygénation

La micro oxygénation des vins rouges est une technique très répandue, dû aux effets de l'oxygène dans l'amélioration de la qualité des vins rouges. Cette partie a donc pour but d'apporter des éléments au lecteur sur les moyens utilisés pour mettre en œuvre la micro oxygénation lors de la vinification et de l'élevage du vin, ainsi que les quantités d'oxygène et leur durée que l'on peut fournir.

Il faut prendre en compte que l'oxygène peut être apporté tout au long de différentes étapes : pendant la fermentation alcoolique, entre celle-ci et la fermentation malo-lactique, ou bien encore – et plus généralement- après la fermentation malo-lactique.

En réalité, il est difficile d'évaluer les quantités d'oxygène, ainsi que les durées de micro oxygénation à appliquer. Schmidtke et al., en 2011, a synthétisé dans une revue différentes quantités d'oxygène qui ont été apportées à des vins rouges pour des expérimentations scientifiques, ainsi que les différentes durées. L'oxygène a pu être apporté avant ou après la fermentation malo-lactique.
D'une façon générale, les quantités apportées avant la fermentation malo-lactique sont plus importantes, mais sur des durées plus courtes. En effet, les doses rapportées sont comprises entre 1,5 et 120 mg/L/mois, et ce, pour des durées variant de 6 à 112 jours ! (Schmidtke et al., 2011). Comme on peut le voir, les variations sont très élevées, ce qui montre bien que l'apport d'oxygène est extrêmement délicat à maîtriser et déterminer.
Concernant les essais après fermentation malo-lactique, les doses d'oxygène sont plus restreintes, entre 0,7 et 13 mg/L/mois, mais globalement sur des durées plus longues, puisque la durée minimum est de 30 jours, jusqu'à un maximum rapporté de 252 jours. Là aussi, on peut remarquer que les doses d'oxygène sont très variables, et qu'il en est de même pour la durée du traitement.
Dans tous les cas, il est évident que les doses apportées sont en général inférieures à 10 mg/L pour éviter des apports non maîtrisés qui pourraient conduire à une oxydation irrémédiable du vin.

La micro oxygénation peut être réalisée, de façon générale, par deux procédés différents. Le premier, le plus traditionnel et naturel, est l'utilisation de fûts de chêne pour élever le vin. Le deuxième se fait par l'utilisation d'appareillages techniques permettant la diffusion contrôlée d'oxygène pour des vins élevés en cuves inox. Plusieurs sortes d'appareils existent mais généralement, la diffusion se fait par micro-bullage : les bulles d'oxygène, en remontant à la surface, se dissolvent dans le vin. Le but étant

qu'elles n'arrivent jamais à la surface. D'autres technologies/ procédés ont aussi fait leur apparition. Les différents appareillages utilisés pour la micro oxygénation, ainsi que les explications sur les modes de fonctionnement sont l'objet des paragraphes qui suivent.

I. Elevage en fûts de chêne

Les fûts de chêne sont fabriqués à partir de trois espèces principales de chêne : *Quercus robur*, (chêne pédonculé), *Quercus petraea* (chêne sessile, ou rouvre) et *Quercus alba* (le chêne blanc). Les deux premiers se trouvent en Europe, tandis que le chêne blanc provient d'Amérique. L'élevage en fût de chêne permet d'apporter au vin des aspects sensoriels supplémentaires (grâce à la chauffe du bois lors de la réalisation de la barrique) , pouvant faire référence à la vanille, la noix de coco, le fumé, grillé, et l'épicé (Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011b; Chira and Teissedre, 2013). De plus, un élevage en barrique permet l'apport modéré d'oxygène (Moutounet et al., 1998), comme expliqué dans le paragraphe qui suit.

1. L'apport de l'oxygène par la barrique : pourquoi, comment

Le bois, de par ses vaisseaux de croissance, possède une structure perméable. Cette perméabilité du bois entraîne deux conséquences majeures.

La première, est la possibilité qu'a le vin à pouvoir s'évaporer au travers des capillaires. Une étude menée par Moutounet et Mazauric, en 2001, a montré que, chaque semaine, entre 100 et 500 mL de vin peuvent s'évaporer de cette manière : c'est ce qu'on appelle communément « la Part des Anges ». Cette diminution de volume va alors engendrer une sous-pression à l'intérieur de la barrique, favorisant ainsi l'entrée d'air (Flecknoe-Brown, 2006) (figure 1).

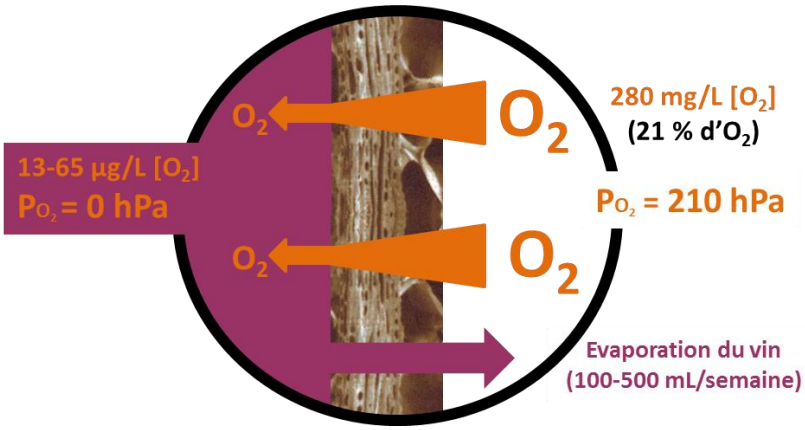


Figure 1 : Différences de pression et entrée d'oxygène dans une barrique (Moutounet and Mazauric, 2001; Flecknoe-Brown, 2006).

Deuxièmement, un vin rouge, de manière générale, est très apte à consommer l'oxygène. De ce fait, la concentration en oxygène dissous est très faible, entre 13 et 65 µg/L, ce qui est largement inférieur à la quantité d'oxygène présente dans l'atmosphère (figure 1). Ces différences de quantité induisent donc des différences en pression partielle qui favorisent un « appel » d'oxygène entre l'air et le vin. Ainsi, une barrique permet la diffusion continue, lente et progressive d'oxygène dans des proportions inférieures à la consommation du vin rouge, évitant ainsi les risques d'oxydation.
Deux co-auteurs, Kelly et Wollan en 2003 , ont calculé le taux de diffusion de l'oxygène à travers le bois d'un fût. Pour une barrique de 225 L et 27 mm d'épaisseur, possédant en moyenne une surface de 2 m^2, ils ont estimé que 3,3 mg/L peuvent, au maximum, se diffuser en un mois dans le vin. Cependant, il semble que le passage de l'oxygène par la bonde n'ait pas été pris en compte, ce qui laisserait supposer que la diffusion de l'oxygène serait supérieure à la valeur estimée proposée par les auteurs. Néanmoins, lorsque les barriques vieillissent, les dépôts (principalement tartriques) formés par le vin obstruent les capillaires du bois, diminuant en moyenne de 10 % par an leur perméabilité à l'oxygène (Flecknoe-Brown, 2006).

2. Systèmes de supplémentation en oxygène

Certains auteurs estiment que l'oxygénation apportée par une barrique est insuffisante comparée aux besoins des vins rouges (Kelly and Wollan, 2003), d'autant plus que, comme expliqué dans le paragraphe précédent, la perméabilité du bois diminue au cours des années. Ils ont donc mis au point un type de diffuseur initialement conçu pour les barriques, appelé TankMate®. Les diffuseurs sont de structure tubulaire et sont perméables à l'oxygène injecté à l'intérieur de par leur structure en polydiméthylsiloxane (silicone). Les avantages de cette technologie se situent au niveau du coût relativement faible, ainsi que la diffusion d'oxygène qui est beaucoup plus fine que les équipements classiques de micro oxygénation tels que décrits dans le paragraphe suivant (Flecknoe-Brown, 2006).

II. Elevages en cuves

La supplémentation en oxygène par micro-oxygénation peut aussi être réalisée de manière contrôlée lors d'un élevage en cuve acier inoxydable. Plusieurs types d'appareillages peuvent être utilisés.

1. Micro oxygénation par procédés de micro bullage

a) Caractéristiques

Cette technique est la méthode la plus répandue. Elle consiste à envoyer des bulles de taille très fine à travers un diffuseur en céramique poreux, qui est placé au fond de la cuve (figure 2). Les pores sont compris entre 1 et 12 µm. Toute la technicité de cette méthode réside dans la capacité des bulles

d'oxygène pur à pouvoir se dissoudre dans le vin avant leur arrivée en surface, afin d'éviter une oxydation ou un développement de bactéries aérobies. De ce fait, une hauteur minimale de cuve est requise, entre 2 m et 2,5 m, afin de donner aux bulles le temps de se dissoudre (Kelly and Wollan, 2003; del Carmen Llaudy et al., 2006; Schmidtke et al., 2011).

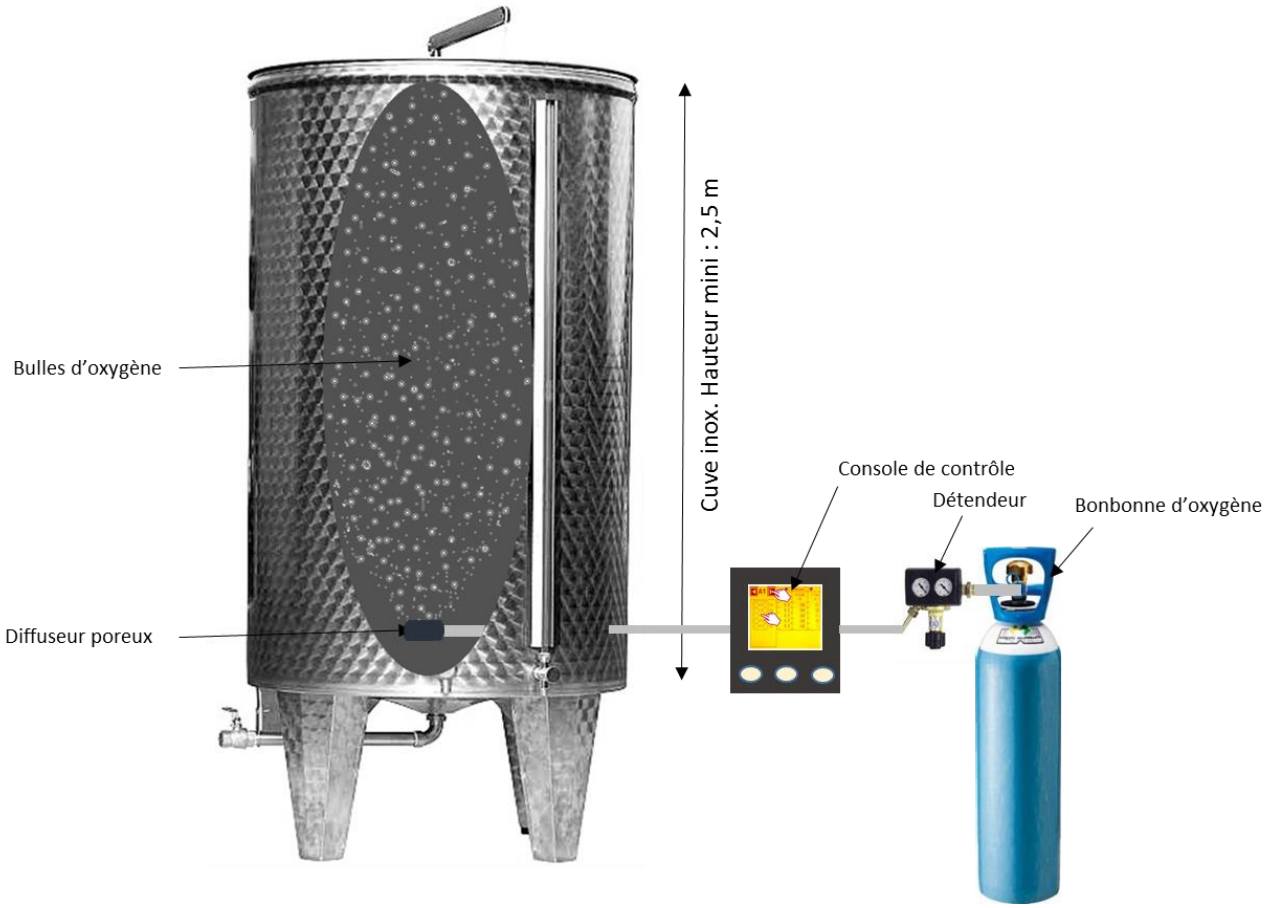


Figure 2 : Appareillage nécessaire à la micro-oxygénation

De plus, il est préférable de générer le plus grand nombre possible de petites bulles, ce qui augmente ainsi la surface de contact gaz/liquide et maximalise la rapidité de dissolution. Il a été déterminé qu'un pore de 1 µm génère une bulle d'un diamètre de 310 µm, et d'un diamètre de 668 µm pour un pore de 10 µm (Dykes and Kilmartin, 2007; Schmidtke et al., 2011).

b) Limitations

Il existe plusieurs limitations à l'application de cette technique. Déjà, la présence d'un seul diffuseur placé sur le fond d'une cuve ne permettrait pas la diffusion de bulles d'oxygène dans tout le volume de vin contenu, à cause de la faible dispersion latérale générée par le diffuseur (Dykes and Kilmartin, 2007; Schmidtke et al., 2011). En effet, il avait déjà été démontré par Moutounet et Mazauric, en 2001, que le vin, au contact de l'atmosphère, ne présente un gradient de concentration en oxygène dissous que pour les dix premiers centimètres au-dessous de sa surface : ceci montre bien que le vin

n'a la capacité de dissoudre l'oxygène que de manière localisée (tableau 1). Bien entendu, lors de la micro oxygénation, c'est de l'oxygène pur qui est utilisé, ce qui pourrait laisser supposer que ce gradient serait plus important, mais tout de même insuffisant au regard des cuves de grande taille utilisées dans les caves (Schmidtke et al., 2011).

Tableau 1 : Gradient de concentration en oxygène d'un vin rouge laissé au contact de l'atmosphère (Moutounet and Mazauric, 2001).

Distance à la surface du vin (cm)	[O2] dissous (µg/L)
0	8400
2	1000
5	100
10	20
[…]	20

Un autre procédé est possible pour la micro oxygénation en cuve. Sa description succinte, fait l'objet du paragraphe suivant.

2. Micro oxygénation par Flextank®

Les cuves Flextank® sont réalisées dans un matériau de polyéthylène à haute densité, catégorie alimentaire. Ce matériau est hydrophobe, ne se colore pas avec les anthocyanes du vin mais, par contre, laisse passer l'oxygène ainsi que le dioxyde de carbone au travers. Elles ont généralement 4 mm d'épaisseur, ce qui leur confère la même perméabilité qu'une barrique de 2-3 ans. L'avantage est qu'il n'y a aucune perte de liquide par évaporation, évitant ainsi les ouillages. Elles ne nécessitent pas de protection au SO_2, et leur perméabilité ne diminue pas au cours du temps (Flecknoe-Brown, 2006). Les différents modèles, ainsi que leur perméabilité associée sont donnés figure 3.

Modèle	Perméabilité
« Rocket » (à gauche) : 1100 L	20,1 mg/L/an
« Soldier » (milieu) : 750 L	18,8 mg/L/an
« Barrel » (à droite) : 300 L	17,3 mg/L/an

Figure 3 : Perméabilités des différents modèles Flextank® proposés

D. La nano oxygénation

Après l'embouteillage, le vin entre en phase de vieillissement. Au cours de cette période, cependant, de l'oxygène est encore capable de passer au niveau des bouchons. Les quantités sont toutefois infimes, puisqu'il faut entre 3 et 12 mois pour atteindre la saturation du vin : on parle de nano oxygénation.

Une étude menée par Lopes et al., en 2005, a montré des variations de perméabilité au niveau des différents types de bouchons présents sur le marché. Les résultats montrent que les bouchons synthétiques sont les plus perméables à l'oxygène, contrairement aux bouchons techniques qui, eux, sont les plus hermétiques. Ceux en liège naturel sont de perméabilité intermédiaire, mais ils présentent cependant une plus grande variation (tableau 1).

Tableau 1 : Perméabilité à l'oxygène de différents types de bouchons (d'après Lopes et al., 2005)

Type	Bouchon	1 mois	2-12 mois	Moyenne
		$[O_2]$ (en mg/L/mois)	$[O_2]$ (en mg/L/mois)	$[O_2]$ (en mg/L/mois)
Technique	Agglomerate	2,5 ± 0,23	0,01 ± 0,02	2,23
	Neutrocork	1,4 ± 0,05	0,1 ± 0,02	
	Twin Top	2,8 ± 0,37	0,02 ± 0,01	
Naturel	First grade (N22)	2,3 ± 0,6	0,37 ± 0,22	3,08
	First grade (N24)	3,8 ± 1,1	0,5 ± 0,3	
	First grade (N26)	3,2 ± 0,4	0,24 ± 0,16	
	Third grade, colmated	3,0 ± 0,4	0,35 ± 0,2	
Synthétique	Supremecorq	4,3 ± 0,17	1,5 ± 0,34	3,95
	Nomacorc	3,6 ± 0,17	0,85 ± 0,25	

Des résultats similaires avaient déjà été obtenus par Godden et al., en 2001, où des quantités de SO_2 plus faibles avaient été trouvées pour les bouchons synthétiques après un temps de stockage de 18 mois, indiquant une plus grande perméabilité à l'oxygène.

Le tableau 1 montre aussi qu'au cours du premier mois, la prise d'oxygène est plus importante par les bouteilles, quels que soient les types de bouchons.

Chapitre III – Les impacts de l'oxygène sur la qualité sensorielle des vins, et les réactions chimiques sous-jacentes.

Les effets de l'oxygène au cours des processus de vinification, ainsi que de maturation du vin sont multiples. Il réduirait le végétal, les odeurs de réduit, ainsi que l'astringence et l'amertume. Il apporterait davantage de souplesse tannique et favoriserait le fruité. Il faut cependant garder à l'esprit qu'un surplus d'oxygène entraîne le vin dans un état oxydé, ce qui peut avoir pour conséquences une sécheresse tannique extrême, ainsi que des notes aromatiques de perte de fraîcheur comme les fruits confiturés. D'autres notes peuvent apparaître telles que la noix, le chocolat et la pomme verte, ou la pomme blette et en fin de réaction un excès d'acide acétique créant le goût de piqué. L'objet de ce chapitre est de rassembler quelques données sur les effets de la micro oxygénation qui ont été observés dans la littérature scientifique, ainsi que les processus de transformations chimiques qui sous-tendent aux modifications organoleptiques observées.

I. Effets sur la couleur

Plusieurs études ont été menées sur les variations induites par la micro oxygénation au niveau des paramètres colorimétriques des vins. Il existe principalement deux paramètres qui sont mesurés de façon générale : l'intensité colorante, qui correspond à la somme des longueurs d'onde d'absorption dans le jaune, le rouge et le mauve (420, 520 et 620 nm respectivement) et la teinte, qui correspond à l'évolution de la couleur vers le jaune (donc l'orange pour un vin rouge).

Caillé et al., en 2010, ont montré que la micro oxygénation augmente l'intensité colorante dans un vin rouge de Grenache. Cette étude va dans le même sens qu'une autre effectuée deux ans après par Wirth et al., 2012. Dans ce cas, il s'agissait de nano oxygénation réalisée en bouteilles sur des vins rosés de Grenache, où les quantités d'oxygène apportées n'excédaient pas les 33 µg/L/jour, ce qui correspond à 1 mg/L/mois. De la même façon, Dykes, en 2008, a aussi observé une augmentation en intensité colorante dans des essais de micro oxygénation faits sur du Cabernet sauvignon. Cependant, ces résultats sont en contradiction avec deux autres études menées par del Carmen Llaudy et al., en 2006 ainsi que Parpinello et al., en 2012, où l'intensité colorante diminue avec la micro oxygénation dans des vins rouges de Cabernet sauvignon.

Les résultats obtenus pour le paramètre de la teinte vont dans le même sens, puisque pour les cinq travaux cités les auteurs ont observé une augmentation de la teinte en fonction des doses d'oxygène fournies (del Carmen Llaudy et al., 2006; Dykes, 2008; Caillé et al., 2010; Parpinello et al., 2011; Wirth et al., 2012).

II. Effets sur les aspects gustatif et olfactif

Certains travaux rapportent des effets positifs assez significatifs en matière d'amélioration de la qualité du vin au niveau de la perception gustative et olfactive du vin, en contexte de micro ou nano oxygénation. Dans l'étude menée par del Carmen Llaudy et al., en 2006, l'apport de 3 mg/L/mois d'oxygène après un passage de huit mois en barrique a permis de réduire l'astringence, tout en augmentant les notes de toasté, épicé et café relatives aux composés du bois. De la même façon, la nano oxygénation de vins rosés de Grenache a induit une diminution du côté animal, ainsi qu'une augmentation des notes fraise et amyl (Wirth et al., 2012). L'expérience de Parpinello et al., 2011 a montré que le vin de Cabernet sauvignon possède plus d'intensité aromatique, avec une rondeur en bouche plus prononcée pour une dose d'oxygène de 25 mL/L/mois. Par contre, le vin traité avec 50 mL/L/mois d'oxygène fut perçu comme plus astringent (Parpinello et al., 2011). D'un autre côté, dans l'étude menée par Caillé et al. en 2010, la micro oxygénation n'a apporté aucun effet significatif dans un vin rouge de Grenache après dix mois de traitement.

Les effets sur les perceptions négatives de réduit semblent en revanche beaucoup plus convergents, puisque plusieurs études semblent montrer des effets similaires à ce niveau. Par exemple, lors d'une étude de nano oxygénation en bouteille réalisée par Lopes et al. en 2009, il a été démontré que le vieillissement opéré en bouteille moins hermétique amenait à la diminution des notes de brûlé et de caoutchouc, qui sont caractéristiques du réduit. De la même manière, lors de la thèse de Maria Silva Monteiro, après 12 et 24 mois, les vins qui sont placés en ampoule scellée ou dans des bouteilles avec des capsules à vis ont davantage tendance à comporter des notes d'œuf pourri et de putréfaction, masquant le fruité du Sauvignon blanc (Silva, 2011). L'oxygène parait donc efficace en matière de diminution des arômes de réduit.

Il est un domaine dans lequel l'oxygène ne semble pas avoir autant d'effets que ce qui est supposé, il s'agit de la réduction des notes végétales. En effet, l'étude menée par Caillé et al. en 2010 a montré que l'oxygène ajouté n'avait pas vraiment d'effet en matière de réduction des notes végétales. De plus, Hernandez-Orte et al. en 2009, indique que les composés volatils ont été quantifiés, il est apparu que ceux responsables du caractère végétal, à savoir l'hexanol et le *trans*-3-hexenol ne diminuent pas après l'apport d'oxygène. Ces observations sont supportées par une autre étude (Heras et al., 2007). En effet, les auteurs indiquent que même si ces composés en C-6 sont responsables du caractère végétal, ce ne sont probablement pas ceux-là qui doivent être à l'origine de la diminution du caractère végétal observée dans d'autres travaux publiés.

III. Effets sur les composés moléculaires et réactions chimiques

1. Génération de l'éthanal

La grande majorité des réactions chimiques aboutissant à des effets sur les composés moléculaires passe par la génération de deux composés clés : les quinones et l'acétaldéhyde (ou éthanal). La formation de ces deux composés nécessite la présence de cycles phénoliques, d'oxygène ainsi que de fer(III) et de cuivre(II), qui vont servir d'échangeurs d'électrons ainsi que de catalyseurs pour aboutir à la formation de peroxyde d'hydrogène H_2O_2. Ce dernier va ensuite oxyder l'éthanol en éthanal (figure 1).

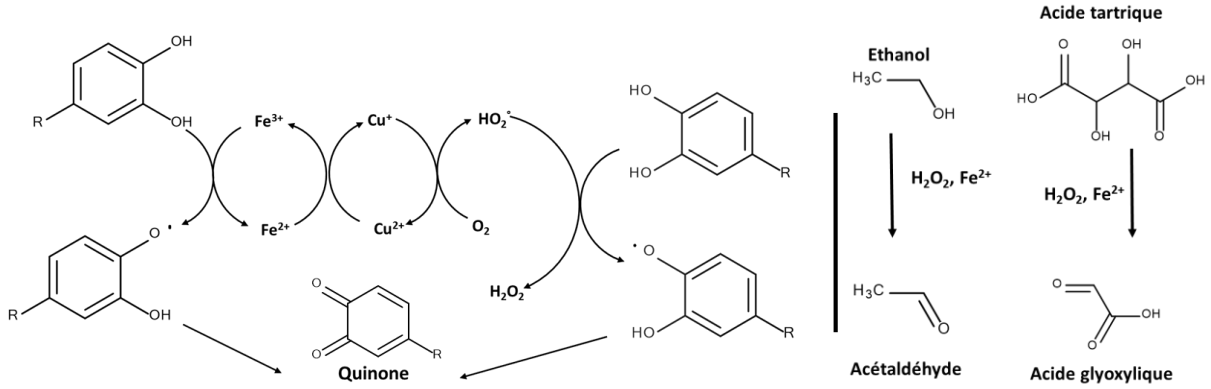


Figure 1 : Mécanismes d'oxydation généraux dans les vins. **A gauche :** formation des quinones. **A droite :** génération de l'acétaldéhyde et de l'acide glyoxylique (Danilewicz, 2003).

2. Evolution des pigments et des tannins

La grande majorité des articles scientifiques rapportent la diminution de la teneur en anthocyanes lorsque les vins sont soumis à la micro oxygénation. Parallèlement à ce phénomène, les pigments polymérisés et/ou non décolorables par le SO_2 augmentent (del Carmen Llaudy et al., 2006; Dykes, 2008; Geldenhuys et al., 2012).

L'augmentation des teneurs en pigments résistants à la décoloration par le SO_2, ou encore en pigments polymérisés est le résultat de la formation de nouvelles structures, tels que les pigments liés par ponts éthyl ou bien encore les pyranoanthocyanes (voir figure 2). Les détails des réactions de formation ont déjà été donnés partie D-II-2. Comme expliqué précédemment, les pyranoanthocyanes ont une longueur d'onde d'absorption inférieure à celle des anthocyanes natives, mais un coefficient d'extinction beaucoup plus important à pH du vin, ce qui explique les augmentations en intensité colorante ainsi que de la teinte observées dans une multitude d'expériences de micro oxygénation.

De plus, il a été montré dans une étude menée par Es-Safi et al., 1999a, que dans une solution modèle contenant anthocyanes, flavan-3-ols et acétaldéhyde, les unités issues de polymérisations par ponts éthyl ne contenaient jamais plus de deux molécules d'anthocyanes, ce qui indiquerait qu'une anthocyane présente à une extrémité de chaîne est capable de stopper le processus de

polymérisation. Or, comme la perception d'astringence est principalement liée à la taille des polymères, la présence d'anthocyanes limitant la polymérisation des tannins en présence d'éthanal serait une explication chimique de la diminution de l'astringence par la micro oxygénation (Es-Safi et al., 1999a; Gómez-Plaza and Cano-López, 2011).

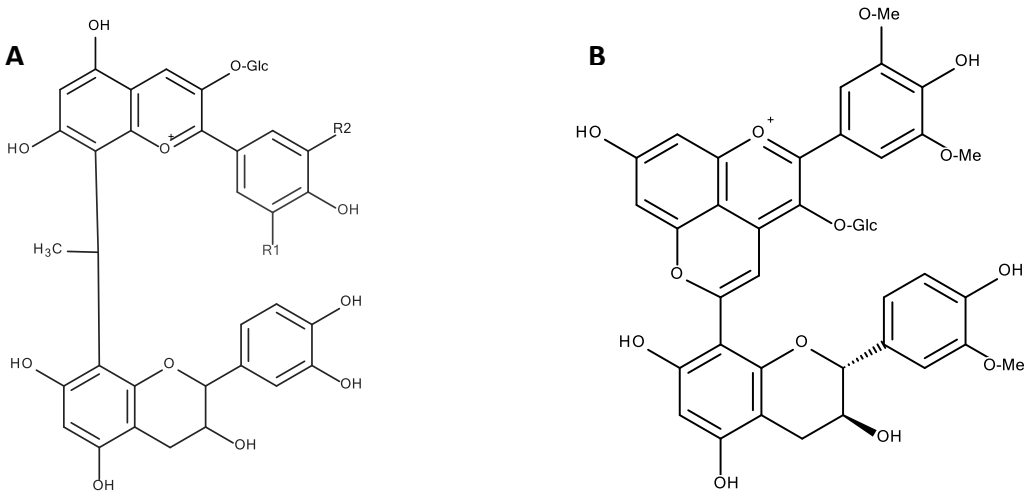


Figure 2 : Structures de nouveaux pigments. **A** : anthocyane liée par pont éthyl. **B** : malvidine-3-*O*-glucoside-4-vinylcatéchine.

3. Effets sur les composés volatils

a) Quantifications

Les études portant sur l'évolution des composés volatils en contexte de micro oxygénation sont moins nombreuses. Une étude exhaustive a été menée par Hernandez-Orte et al., en 2009, où près de cinquante composés ont été dosés dans deux cépages différents : le Cabernet sauvignon et le Tempranillo. La micro-oxygénation a été appliquée juste après la fermentation alcoolique, à raison de 60 mL/L/mois. Les composés volatils ont ensuite été dosés avant et après la fermentation malo-lactique afin d'observer les effets de la micro-oxygénation.

Dans le vin de Tempranillo, 17 composés ont été dosés. Avant la fermentation malo-lactique (FML), les composés qui sont présents en plus grande concentration pour les vins micro-oxygénés sont principalement des esters, à savoir l'acétate d'éthyle, l'acétate de phényléthyle et l'acétate isobutyle, mais aussi le –citronellol, dont la concentration augmente de 30 % (tableau 1). D'autres composés, tels que le vanillate de méthyle, l'isovalérate d'éthyle et le guaïacol sont présents en moindre quantité avec la micro-oxygénation (tableau 1). En revanche, après la FML, tous les composés détectés sont présents en plus faibles quantités pour les vins qui ont été micro-oxygénés. Ici, cette observation montre bien que les effets de la micro-oxygénation sur les composés volatils diffèrent selon le stade de vinification.

Dans les vins de Cabernet Sauvignon, 21 composés ont été dosés. Avant la MLF, la micro-oxygénation permet d'augmenter les concentrations de 7 composés, mais diminue les teneurs sur 9 autres composés (voir tableau 1 pour les valeurs exactes).

Tableau 1 : Quantifications de différents composés volatils pour les cépages de Tempranillo et de Cabernet Sauvignon, pour des vins témoins ou micro-oxygénés.

Tempranillo	Avant FML		Après FML	
	Témoin	Mox	Témoin	Mox
Acétoïne	13,7 ± 9,4	12,8 ± 9,5		
Phénylacétaldéhyde			0,96 ± 0,9	nd
Vanillate de méthyle	4,4 ±0,3	3,8 ± 0,2	3,2 ± 1	1,6 ± 1,0
Vanillate d'éthyle			42,4 ±7,6	23,5 ± 12,6
Isovalérate d'éthyle	6,6 ± 1,2	4,7 ± 1,2		
Acétate d'éthyle	25,6 ± 11,1	40,5 ± 4,3		
Acétate de phényléthyle	102 ± 4,9	109 ± 2,9		
Acétate isobutyle	52,9 ± 6,6	70,0 ± 13,7		
Furoate d'éthyle			4,1 ± 1,1	1,9 ± 1,2
β-citronellol	3,4 ± 0,2	4,1 ± 0,4		
Acide octanoïque	1,6 ± 0,1	1,8 ± 0,1		
γ-nonalactone	24,4 ±1,1	26,3 ± 0,5		
γ-décalactone			2,5 ±0,6	1,8 ± 1,1
Guaïacol	2,8 ± 0,8	1,9 ± 0,1		
4-éthylphénol			9,5 ± 7,8	nd
4-éthylguaïacol			3,3 ± 1,9	0,3 ±0,3
Méthionol	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1		

Cabernet Sauvignon	Avant FML		Après FML	
	Témoin	Mox	Témoin	Mox
Acétoïne	9,8 ± 10	37,9 ± 7,6		
Furfural	25,9 ±1,5	20,7 ± 1,0		
5-méthyl-furfural			7,1 ± 6,4	22,0 ± 4,5
Vanilline			21,3 ± 19,1	57,4 ± 21,2
Vanillate de méthyle	20,0 ±0,8	16,8 ± 2,8		
Lactate d'éthyle	86,1 ± 15	53 ± 11		
3-OH-éthyl-butyrate	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0		
Isobutyrate d'éthyle	49,8 ± 5,7	58,6 ± 7,2		
Butyrate d'éthyle	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0		
Hexanoate d'éthyle	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0		
Décanoate d'éthyle	13,2 ± 0,7	33,6 ± 23,3	26,3 ± 8,7	12,8 ± 6,4
Acide isovalérique	0,22 ± 0,2	0,15 ± 0,0	2,46 ± 0,1	2,6 ± 0,1
γ-butyrolactone	23,1 ± 4,6	12,3 ± 0,9		
Guaïacol	2,0 ± 0,9	0,9 ± 0,2		
Eugénol	4,9 ± 3,4	0,9 ± 0,0		
Cis-Isoeugénol	4,1 ± 3,1	0,6 ± 0,2		
4-allyl-2,6-diméthoxyphénol	23,7 ± 6,0	15,0 ± 1,2		
1-butanol	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1		
Isobutanol	82,0 ± 3,4	92,7 ± 5,3	87,8 ± 4,3	93,1 ± 3,7
Alcool isoamylique	283 ± 33	381 ± 38		

Les unités sont exprimées en µg/L ; **FML :** Fermentation malo-lactique

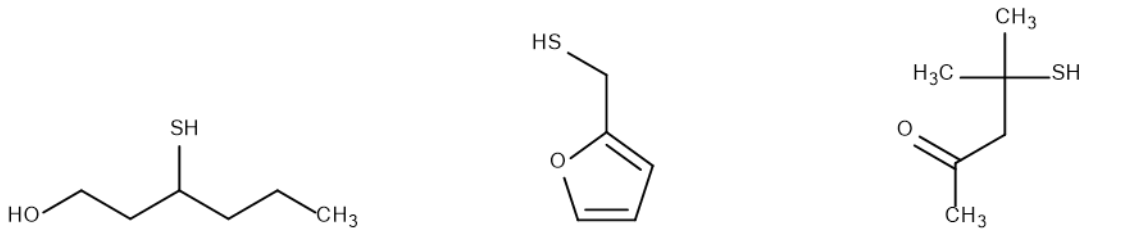
Après la MLF, seuls 5 composés ont pu être quantifiés. Excepté pour le décanoate d'éthyle, tous les autres sont présents en plus grande quantité pour les vins micro-oxygénés (voir tableau 1 pour les valeurs exactes).

Si l'on résume toutes ces informations, il apparait que l'oxygène n'induit pas les mêmes effets selon le stade de vinification. Par exemple pour le cas du décanoate d'éthyle dans le Cabernet Sauvignon, ce composé est présent en plus grande quantité dans les vins micro-oxygénés avant la MLF, mais en plus faible quantité après la MLF. De même pour l'acide isovalérique : avant la MLF, ce composé est présent en plus faible quantité dans le vin micro-oxygéné de Cabernet-Sauvignon, mais après la MLF, l'oxygène augmente sa concentration (tableau 1).

En outre, l'oxygène n'induit pas les mêmes effets selon le cépage, ce qui est très intéressant. Prenons par exemple le cas de l'acétoïne. Dans le Tempranillo, avant la FML, la micro-oxygénation n'a que très peu d'impact sur sa concentration. Par contre, pour le Cabernet Sauvignon, la concentration pour ce composé passe de 10 à 38 µg/L entre le vin témoin et le vin micro-oxygéné (tableau 1). On peut aussi noter que dans le cas des vins de Tempranillo, après la MLF, tous les composés sont présents en plus faibles quantités pour les vins micro-oxygénés (tableau 1). Cependant, pour les vins de Cabernet-Sauvignon, l'oxygène peut augmenter les teneurs de certains composés, tels que le 5-méthyl-furfural, la vanilline, ou encore l'isobutanol (tableau 1). Ici aussi, l'effet céage est visible.

b) Réactions entre thiols volatils, flavan-3-ols et oxygène

Plusieurs études ont démontré que les flavan-3-ols, tels que la catéchine et l'épicatéchine, peuvent diminuer la teneur de certains composés volatils en présence d'oxygène. C'est notamment le cas du 3-mercaptohexanol, responsable du fruité dans le Cabernet sauvignon, le Merlot et le Cabernet franc. Ce composé apparaît au cours de la fermentation alcoolique. Il a été observé par Blanchard et al., en 2004, que ce composé diminuait en concentration dans une solution modèle contenant de l'oxygène et de la catéchine. La présence d'anthocyanes a été capable de ralentir cette diminution. De même, dans un vin rouge, la présence de SO_2 a montré un effet protecteur contre cette diminution (Blanchard et al., 2004). Dans une étude plus récente, Nikolantonaki et al., 2010, a démontré que la (-)-épicatéchine était plus réactive que la (+)-catéchine pour faire diminuer les concentrations en 3-sulfanylhexan-1-ol (3-SH), 2-furanmethanethiol (2-FMT) et 4-methyl-4-sulfanylpentan-2-one (4-MSP). De plus, la présence de fer(III) a eu un rôle catalytique très important dans la solution modèle (éthanol 12 %, eau), contrairement au SO_2 qui a montré un effet protecteur. Un élément intéressant est la différence de réactivité des composés thiols, selon le fait qu'ils soient primaires, secondaires ou tertiaires : en effet, l'ordre de réactivité est 2-FMT (thiol primaire) > 3-SH (thiol secondaire) > 4-MSP (thiol tertiaire).



3-sulfanylhexan-1-ol (3-SH) **2-furanméthanethiol (2-FMT)** **4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one (4-MSP)**

Figure 3 : Structures de composés volatils

Les mécanismes de piégeage des thiols par les polyphénols oxydés ne sont pas clairement élucidés. Il est possible que les quinones puissent tout simplement réagir avec les thiols, puisque ces derniers sont nucléophiles. Le résultat amené serait tout simplement une perte de certaines notes aromatiques, telles que le fruité (Waterhouse and Laurie, 2006).

Matériel & Méthodes

Nous listons ici les réactifs ainsi que les matériels utilisés. En outre, nous présentons les différents plans d'essais et conditions expérimentales, ainsi que les méthodes d'analyses chimiques et sensorielles utilisées afin d'apprécier l'évolution qualitative des vins.

Liste des réactifs utilisés

Acétone (grade technique) : VWR Prolabo

Acétonitrile (99,9 %) : VWR Prolabo

Acide acétique : Fischer

Acide ascorbique (≥ 99,7 %) : Merck

Acide formique (99,3 %) : Fischer

Acide chlorhydrique (≥ 37 %, 12 N) : Sigma-Aldrich

Acide chlorogénique : Sigma-Aldrich

Acide gallique (≥ 98 %, monohydrate) : Sigma-Aldrich

Acide sulfurique (> 95 %) : Fischer

Acide tartrique (99 %) : Sigma-Aldrich

Albumine de Sérum Bovin (fraction n° 5, ≥ 98 %) : Sigma-Aldrich

Bisulfite de sodium (40 %) : Sigma-Aldrich

Cartouches C-18 : Supelco (Saint Quentin Fallavier, France)

Cartouches TSK (HW 50-F) : Toyopearl

Catéchine (≥ 98 %) : Sigma-Aldrich

Chlorure de sodium : Fischer

4-(diméthylamino)cinnamaldéhyde : Sigma-Aldrich

Filtres (0,45 µm) : Whatman

Folin-Ciocalteu (2 N) : Sigma-Aldrich

Hydroxyde de sodium (≥ 98 %) : Sigma-Aldrich

Malvidine-3-*O*-glucoside (oenine chloride) : Extrasynthèse

Métabisulfite de sodium (≥ 99 %) : Sigma-Aldrich

Méthanol (100 %, grade HPLC) : VWR Prolabo

Pholoroglucinol (≥ 99 %, grade HPLC) : Sigma-Aldrich

Appareillage utilisé

Eau distillée : L'eau distillée provient d'un système de purification Elga.

Eau Milli-Q : L'eau Milli-Q provient d'un système Sartorius-Arium 611, possédant un système de purification résine-carbone.

HPLC-UV-ESI-MS Thermo Finnigan Surveyor : chaîne composée d'un détecteur UV à barrette de diodes (Surveyor PDA Plus), d'un passeur d'échantillons (Surveyor Autosampler Plus), et d'un système de pompe quaternaire (Surveyor LC Pump Plus). Le spectromètre de masse couplé à ce système est un Thermo Finnigan LCQ Deca XP Max avec une source d'ionisation ESI et un analyseur de type trappe à ions.

HPLC-UV-ESI-MS Thermo Scientific Accela (355 River Oaks Parkway, San Jose, CA 95 134 USA) : chaîne composée d'un détecteur UV à barrettes de diodes, d'un passeur d'échantillons et d'un système de pompe quaternaire. Le spectromètre de masse couplé à cet appareil est un Thermo Scientific avec une source d'ionisation ESI et un détecteur quadripôle. Le logiciel de contrôle est Xcalibur v. 2.1.0.

UHPLC-UV-ESI-Q-TOF : cette chaîne est composée d'une UHPLC Agilent 1290 Agilent Infinity Series comprenant un système de pompe quaternaire, un dégazeur à solvants, un passeur d'échantillons et un détecteur UV à barrette de diodes. Le spectromètre de masse couplé est un Q-TOF Agilent 6530 Series Accurate doté d'une source ESI de technologie Agilent Jet Stream. Le logiciel utilisé est MassHunter Qualitative Analysis, v. B.06.00.

Lecteur à plaques : BMG Labtech GmBH (77656 Offenburg, Germany). Lecteur à plaques possédant un système de détection UV-visible, ainsi que fluorescence et luminescence. Les absorbances peuvent être lues de 220 à 850 nm, avec une résolution de 1 nm. Un incubateur est incorporé, pouvant chauffer jusqu'à 45 °C. Le logiciel de traitement est Omega, v. 1.30.

pH mètre : Les ajustements de pH ont été faits sur un pH-538, de chez WTW.

Spectrophotomètre : Le spectrophotomètre utilisé est un Jasco V630 à double faisceau, possédant une lampe deutérium pour les longueurs d'onde comprises entre 190 et 350 nm, ainsi qu'une lampe halogène dont la gamme de longueurs d'onde varie de 330 à 1100 nm. Le logiciel utilisé est Spectra Manager, v. 2.09.01.

A. Description des plans d'essai

Au cours de cette thèse, l'évolution de trois vins rouges différents aura été étudiée en contexte d'oxygénation. L'objectif était de déterminer les impacts des différentes intensités d'oxygénation appliquées aux vins rouges sur les plans chimique et sensoriel, et ce, en fonction :

- des différents pH auxquels les vins auront été ajustés

- du temps

- des différents vins utilisés

Les vins ont été suivis sur une période de quatre mois. Afin d'avoir un suivi des cinétiques d'évolutions tant sur les plans chimique que sensoriel, des prélèvements ont été effectués toutes les quatre semaines, prélèvements à partir desquels analyses chimiques et sensorielles ont été réalisées. Les échantillons ont ensuite été gardés en chambre froide (4 °C) le temps que toutes les analyses mensuelles puissent être terminées.

I. Vins utilisés

1. Cépage, millésimes, origine et IPT

Tous les vins étaient de cépage 100 % Merlot, excepté pour le vin de l'expérience préliminaire qui était un Cabernet sauvignon.

L'expérience préliminaire, ainsi que les deux premiers plans d'essai ont été réalisés avec des vins de millésime 2011, provenant de Château Bonnet situé dans l'Entre-deux-Mers (33 420, Grézillac). Les différences entre ces trois vins se situent au niveau de l'Indice de Phénols Totaux (IPT) ; le vin de Cabernet sauvignon a un IPT de 68, et les deux autres vins de Merlot des IPT respectifs de 61 et 76. L'IPT reflète la quantité de phénols totaux présents dans le vin par une simple mesure à 280 nm en cuve quartz, sous 1 cm de parcours optique. Pour cette raison, le premier vin d'IPT 61 est qualifié de « faible » alors que le deuxième, d'IPT 76, sera qualifié de « fort ». Le troisième vin de Merlot, quant à lui, est de millésime 2012 et provient de la cave coopérative de Rauzan (33 420, l'Aiguilley). Ce vin possède un IPT de 53. De par sa teneur relativement faible en composés phénoliques totaux, il aura été décidé de rajouter 1 g/L de fraction de composés phénoliques, afin de remonter son IPT à 63.

2. Caractéristiques chimiques

Une fois en possession des vins, ceux-ci ont été analysés afin d'en déterminer les caractéristiques chimiques. Les résultats sont donnés dans les tableaux 1 et 2. Il est à noter que le vin d'IPT 53 a été enrichi à l'aide de deux fractions. La première était une fraction d'anthocyanes provenant de marc. En

réalité, cette fraction avait pour objectif de supplémenter le vin d'IPT 53 en composés phénoliques et donc, de « doper » l'IPT du vin. Cette fraction contient en effet 82 % de tannins et 9,8 % d'anthocyanes (voir tableau 2). Ainsi, cette fraction a été ajoutée à raison de 1 g pour 1 litre de vin. Les valeurs données dans le tableau sont celles obtenues après enrichissement par cette fraction. Après enrichissement, la valeur d'IPT était de 63, soit la même que le vin d'IPT 61.

Tableau 1 : Caractéristiques et composition chimique des vins utilisés

Vin	Millé-sime	pH	Tannins totaux (g/L)	DPm	Prodelphi-nidines (%)	Anthocyanes totals (mg/L)
IPT 68	2011	3,75	3,7 ± 0,1	4,1 ± 0,2	28,0 ± 1,0	434,2 ± 3,7
IPT 61	2011	3,78	3,2 ± 0,3	3,1 ± 0,1	17,0 ± 0,1	602,9 ± 1,2
IPT 76	2011	3,78	4,2 ± 0,1	3,7 ± 0,1	25,1 ± 1,9	604,2 ± 13,0
IPT 63	2012	3,52	3,4 ± 0,1	3,4 ± 0,1	16,9 ± 0,2	415,1 ± 3,6

Vin	Df-3-Glc	Cy-3-glc	Pt-3-Glc	Pn-3-Glc	Mv-3-Glc	Pn-3-ac-Glc	Mv-3-ac-Glc	Pn-3-cm-Glc	Mv-3-cm-Glc	TOTAL (mg/L)
IPT 68	38,2 ± 2,5	1,5 ± 4,7	32,6 ± 2,1	16,6 ± 2,1	220,8 ± 12,6	6,5 ± 2,0	94,1 ± 5,5	2,5 ± 0,3	21,4 ± 1,5	**434,2 ± 33,4**
IPT 61	26,7 ± 2,4	3,1 ± 0,4	30,3 ± 0,3	17,6 ± 0,2	178,2 ± 4,3	6,4 ± 0,5	57,4 ± 3,4	4,2 ± 0,1	23,0 ± 0,1	**346,9 ± 12,0**
IPT 76	13,8 ± 2,5	2,6 ± 0,3	12,6 ± 1,7	7,6 ± 0,8	66,5 ± 5,3	2,6 ± 0,2	16,1 ± 0,1	1,8 ± 0,1	6,6 ± 0,9	**130,2 ± 11,8**
IPT 63	21,1 ± 0,1	3,9 ± 0,1	20,4 ± 0,6	14,2 ± 0,4	92,0 ± 0,3	4,0 ± 0,1	26,3 ± 0,6	2,6 ± 0,1	12,9 ± 0,3	**197,3 ± 2,5**

Tableau 2 : Composition chimique de la fraction d'anthocyanes utilisée dans les solutions modèles

DPm	Prodelphinidines (%)	Tannins totaux (en mg/g)	Anthocyanes totales (mg/g)
3,7 ± 0,3	6,7 ± 0,1	822 ± 26,8	97,5 ± 0,5

De plus, le plan d'expérience lancé avec ce vin avait aussi pour objectif de suivre l'évolution d'ellagitannins provenant du bois de chêne. Afin de parvenir à ce but, 130 mg/L d'ellagitannins provenant d'une fraction de cœur de chêne ont été ajoutés au vin. La caractérisation de la fraction contenant ces ellagitannins est donnée figure 1. Les quatre composés majoritaires sont la castalagine, la vescalagine, la grandinine et la roburine E avec, respectivement, des quantités de l'ordre de 340, 180, 170 et 125 mg/g de fraction. Les quantités de roburine A, B, C et D ne dépassent pas les 50 mg/g chacune (figure 1).

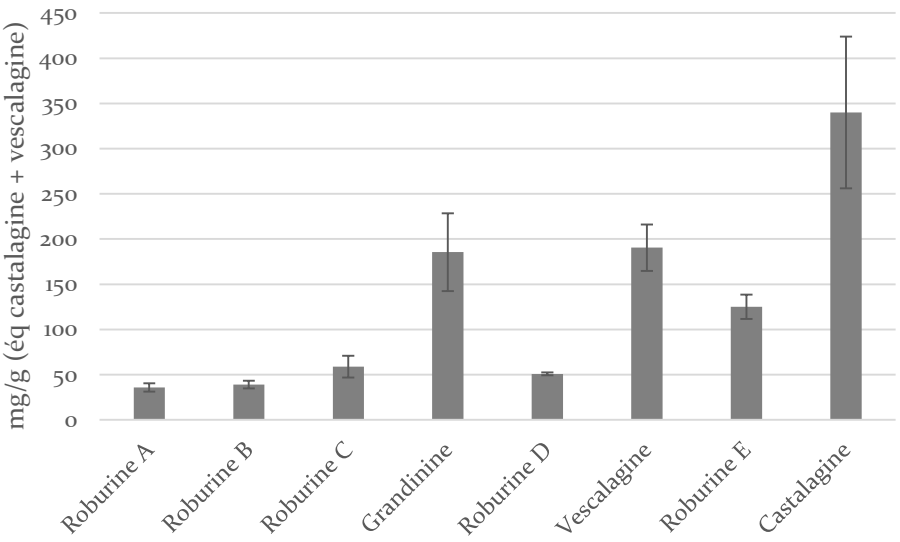


Figure 1 : Teneur en ellagitannins moléculaires de la fraction d'ellagitannins

II. Modalités et conditions expérimentales

Afin d'apprécier l'impact de l'oxygénation sur les vins rouges jeunes, et ce, en fonction du temps et du pH, il a été choisi de suivre les évolutions de trois vins, âgés de moins d'un an, sur quatre mois. Les valeurs choisies sont 0, 2, 8 et 20 mg/L d'O_2. L'effet de chaque quantité d'oxygène ajoutée au vin aura été étudié sur 3 pH : pH 3, pH 3,5 et pH 4. De plus, chaque modalité (un pH et une quantité d'oxygène) a été réalisée soit en triplicat biologique, soit en duplicat biologique (tableau 3).

Tableau 3 : Nombre de réplicats biologiques utilisés pour chaque modalité

	0 mg/L O_2	**2 mg/L O_2**	**8 mg/L O_2**	**20 mg/L O_2**
pH 3	x 2	x 3	x 3	x 3
pH 3,5	x 2	x 3	x 3	x 3
pH 4	x 2	x 3	x 3	x 3

1. Montage et disposition des bonbonnes en verre

Dans la volonté de pouvoir déterminer à tout instant la quantité d'oxygène présente dans le vin, une pastille photosensible a été collée à l'intérieur de chaque bonbonne. De plus, les bonbonnes ont été réalisées en verre blanc transparent non fumé, afin d'éviter toute perturbation du signal lumineux entre la fibre optique reliée à la sonde à oxygène et la pastille, collée à l'intérieur de la paroi en verre de la bonbonne. Une des difficultés résidait dans l'usage double des bonbonnes, puisqu'elles devaient, d'une part, permettre l'étanchéité et la protection du vin qu'elles contenaient vis-à-vis de l'oxygène présent à l'extérieur et, d'autre part, permettre le prélèvement de vin d'une manière rapide et aisée. Pour répondre à cette problématique, les bonbonnes ont été fermées à l'aide de bouchons en caoutchouc comportant deux orifices, dans lesquels deux pipettes, entourées de Parafilm afin d'assurer l'étanchéité, ont été insérées. L'une, allant jusqu'au fond de la bonbonne, devait permettre le prélèvement tandis que la deuxième, s'arrêtant au niveau de l'espace de tête, devait permettre l'ajout d'oxygène. Le système d'ouverture/ fermeture des pipettes a été réalisé à l'aide de cônes 200 µL brûlés au feu, entourés d'une gaine faisant office d'étanchéité entre le cône et la pipette. Une fois remplies de vin, les bonbonnes ont été mises en position couchée sur des valets en liège, ceci ayant pour but de limiter l'entrée d'oxygène présent à l'extérieur *via* le système d'ouverture/fermeture.

2. Démarrage des plans d'expérience

Les vins ont été suivis dans des bonbonnes en verre de 5 litres chacune. De par la réalisation de réplicats biologiques en triple, ou en double pour les témoins (vin sans oxygène), cela fait un total de 33 bonbonnes, soit 165 litres de vin au total. Ainsi, les plans d'expérience ont été lancés un pH après l'autre. Comme il faut 55 litres de vin pour chaque pH, et que les fûts à bière en inox utilisés ont une capacité de 50 litres, chaque pH a été lancé en deux fois. Les ajustements de pH ont été réalisés à l'aide d'un pH-mètre re-calibré avant chaque utilisation. Les vins à pH 3 et 3,5 ont été ajustés avec de l'acide sulfurique (environ 55 mL pour les 55 L), tandis que les vins à pH 4 l'ont été avec de la soude très concentrée (environ 55 mL pour 55 L). Puisque les quantités ajoutées au vin (environ 1 pour 1000) étaient minimes, il a été reconnu négligeable l'utilisation d'un facteur de dilution pour les quantifications d'analyses chimiques. Au vu du volume de vin à ajuster et homogénéiser pour chaque pH, de l'azote a été envoyé par le fond du fût à bière pour créer de l'agitation d'une part, et protéger d'une éventuelle entrée d'oxygène d'autre part, le temps que l'ajustement de pH soit bien homogène. Chaque bonbonne en verre a ensuite été remplie totalement par pressurisation du fût à bière avec de l'azote.

Comme expliqué précédemment, une particularité a été opérée sur le vin d'IPT 53 afin de remonter son IPT à 63, puisque 1 g/L de fraction d'anthocyanes issue de marc a été ajouté. Afin d'optimiser la solubilisation de la fraction, cette opération a été réalisée en plusieurs étapes. Premièrement, 30 g de fraction ont été ajoutés dans une bonbonne contenant 5 L de vin. Six bonbonnes ont été préparées de cette manière, puis laissées reposer pendant vingt-quatre heures afin de solubiliser et « fondre » les tannins et anthocyanes ajoutés. Lors du lancement de ce plan d'essai, le vin aura été préparé par

volumes de 30 L : 25 L de vin, plus une bonbonne de 5 L contenant les 30 g de fraction (soit 1 g/L final). Les 130 mg/L de fraction d'ellagitannins (3,9 g pour 30 L) ont ensuite été ajoutés.

L'ajout d'oxygène contrôlé, à savoir 0, 2, 8 et 20 mg/L a ensuite été opéré, puis chaque bonbonne a été couchée sur son valet (figure 2).

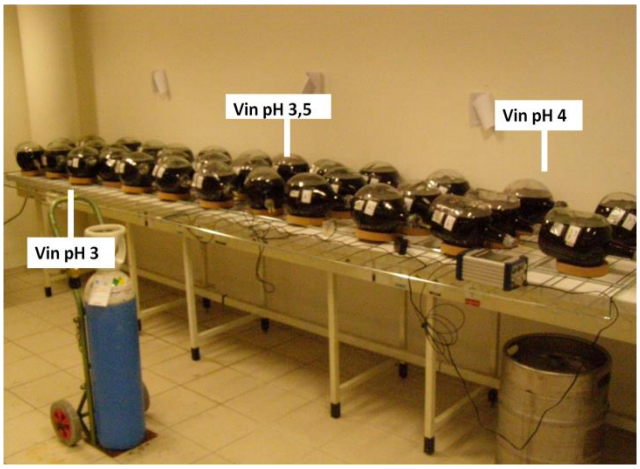


Figure 2 : Présentation des bonbonnes sur leur valet

3. Ajouts contrôlés d'oxygène

L'appareil utilisé pour mesurer les quantités d'oxygène présentes dans le vin (oxygène dissous) ainsi que dans l'espace de tête de chaque bonbonne, est une sonde optique Presens Pst3 (figure 3 A). Les sondes optiques utilisent le principe de luminescence pour quantifier l'oxygène présent dans l'échantillon : une lumière est émise *via* la fibre optique (figure 3 A). La pastille collée dans la bonbonne en verre contient un complexe ruténium, excitable, qui va renvoyer de la lumière. En présence d'oxygène, la quantité de lumière réémise diminue, permettant ainsi de connaître la quantité d'oxygène présente (figure 3 B).

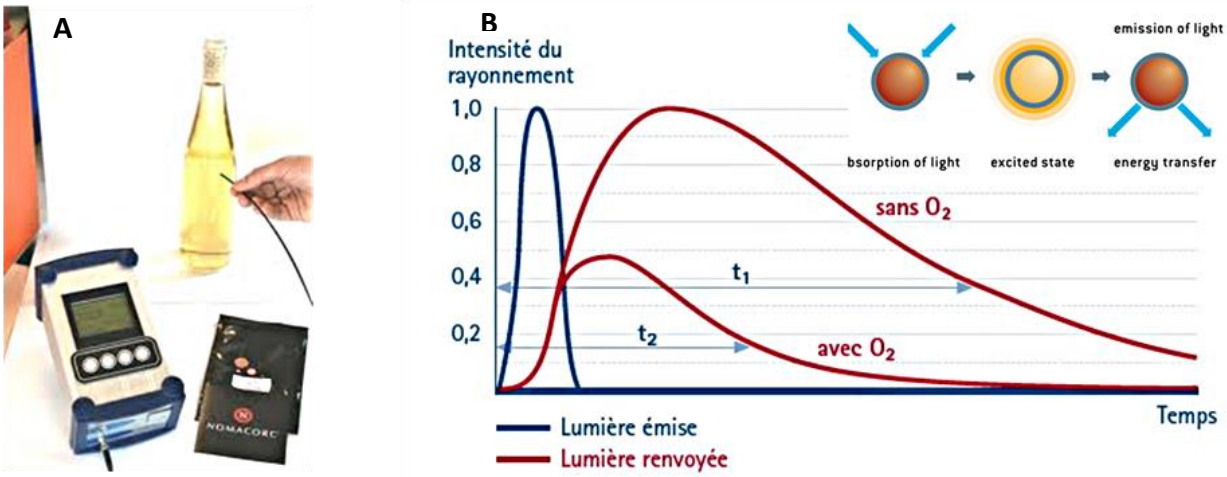


Figure 3 : Fonctionnement d'une sonde optique Pst3. **A :** mesure dans une bouteille. **B :** principe de luminescence.

Les avantages d'utilisation de cette sonde optique sont multiples. D'une part, contrairement aux sondes de type polarographique, la détermination de l'oxygène présent n'implique aucune réaction chimique de la part de ce dernier, ce qui induit qu'il n'est pas consommé au cours de la mesure. La présence de la pastille à l'intérieur de chaque bonbonne permet une mesure sans nécessité d'ouvrir les bonbonnes (ce qui aurait pour conséquence inévitable une entrée d'oxygène non contrôlée). Enfin, la mesure est effectuée en 2 secondes, et la fourchette de mesures se situe entre 0 et 45 mg/L d'O2 dissous (avec une limite de détection de 15 µg/L).

L'oxygène a été ajouté individuellement dans chaque bonbonne à l'aide d'une seringue et d'une bouteille d'oxygène pur. Le montage est réalisé de manière à ce que l'oxygène soit diffusé dans l'espace de tête. Comme expliqué précédemment, l'objectif de ces ajouts d'oxygène était de maintenir les bonbonnes aux niveaux choisis (0, 2, 8 et 20 mg/L) chaque semaine. En d'autres termes, la quantité à rajouter correspond à la quantité consommée par le vin, au cours d'une semaine. Les quantifications de l'oxygène présent ont été faites à l'aide de la sonde optique Presens Pst 3, telle que décrite précédemment. L'oxygène étant présent à la fois dans le vin (oxygène dissous) et dans l'espace de tête (oxygène gazeux), il a été nécessaire d'effectuer deux mesures pour chaque bonbonne. L'oxygène dissous a été mesuré en premier, puis la bonbonne a été tournée afin de situer la pastille au niveau de l'espace de tête. En effet, il faut un certain temps (environ deux minutes) pour que la pastille soit sèche, et que la mesure effectuée soit ainsi correcte.

La quantité d'oxygène totale présente dans chaque bonbonne est déterminée par la formule suivante :

$$[O_2]_{Total} = [O_2]_d \times \left(5 - \frac{VHSp}{1000}\right) + [O_2]_{HSp} \times \frac{VHSp}{100} \times 1{,}33$$

avec :

- **$[O_2]_{Total}$**, la quantité totale d'oxygène (mg)
- **$[O_2]_d$**, l'oxygène dissous mesuré (mg/L)
- **5**, le volume de la bonbonne (litres)
- **V_{HSp}**, le volume de l'espace de tête (= head space) (mL)
- **$[O_2]_{HSp}$** la quantité d'oxygène dans l'espace de tête mesurée (%)
- **1,33** la conversion de mL à mg pour l'oxygène à 20 °C

Comme on peut le remarquer dans cette formule, il est nécessaire de connaître le volume d'espace de tête afin de connaître la quantité d'oxygène présente. Or, les bonbonnes étant fermées hermétiquement, pour chaque ajout d'oxygène hebdomadaire, une certaine quantité de vin doit sortir. Afin d'avoir un suivi relativement précis de l'accroissement du volume de l'espace de tête, la quantité de vin perdue a été mesurée et prise en compte pour les ajustements suivants.

4. Prélèvements

Chaque mois, les prélèvements ont été réalisés afin de permettre les analyses chimiques et sensorielles. Pour ce faire, le vin a été prélevé sous flux d'azote. Pour les analyses chimiques, des flacons en verre fumé de 100 mL ont été utilisés. Les bouchons avaient un revêtement de caoutchouc afin d'améliorer l'étanchéité vis-à-vis de l'oxygène. Un flacon supplémentaire en plastique de 55 mL a été rempli pour chaque échantillon, afin de réaliser les analyses de SO_2 libre et total. Pour les analyses sensorielles, des petites bouteilles de 375 mL ont été utilisées. Les bouteilles ont été jaugées en trois segments de 120 mL, pour un total de 360 mL (ou deux fois 180 mL pour les modalités sans oxygène). Lors des prélèvements, comme nous avions trois réplicats de chaque modalité (deux sans oxygène), il a été décidé de les rassembler toutes : en effet, il aurait été trop contraignant, pour nous et pour les dégustateurs, de déguster 33 vins. Les échantillons ont ensuite été conservés en chambre froide à 4 °C le temps des analyses.

B. Statistiques, jeu de données et analyses

Cette partie décrit les modes opératoires suivis pour la réalisation des analyses sensorielles et chimiques, ainsi que les tests statistiques utilisés. L'ensemble des analyses chimiques effectuées est synthétisé dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Suivis et analyses chimiques effectués

Anthocyanes	Tannins	Indices chromatiques			Autres	
Anthocyanes moléculaires						
Anthocyanes totales	Bate-Smith					
Anthocyanes libres (%)	DMACH		A_{420} (%)	Luminosité (L)	Folin-ciocalteu	SO_2 libre
Anthocyanes + oligomères (%)	DPm	Intensité Colorante (IC')	A_{520} (%)	Composante rouge (a)	Consommations d'oxygène mensuelles	SO_2 total
Anthocyanes + polymères (%)	Prodelphini-dines (%)	Teinte	A_{620} (%)	Composante jaune (b)	Consommations d'oxygène cumulées	SO_2 combiné
Anthocyanes polymérisées		Absorptions à 420, 520 et 620 nm			Paramètres CIELab	

I. Analyses sensorielles

Chaque mois, les dégustations ont permis de suivre l'évolution sensorielle des vins étudiés. Au niveau olfactif, l'intensité fruitée et le degré d'oxydation ont été suivis. Sur le plan gustatif, les paramètres suivants ont été demandés : amertume, astringence, acidité, équilibre. Enfin, un classement de préférence a été proposé. De plus, les parties olfactive et gustative comprenaient une zone de descripteurs libres. La fiche de dégustation utilisée est donnée en figure 1.

Les analyses sensorielles ont été réalisées dans une salle de dégustation prévue à cet effet. Les dégustateurs sont séparés les uns des autres. Les échantillons (50 mL) sont disposés dans des verres noirs spécial dégustation INAO, afin d'éviter toute influence due à la couleur des échantillons. De plus, les échantillons sont codés par un nombre aléatoire à 3 chiffres.

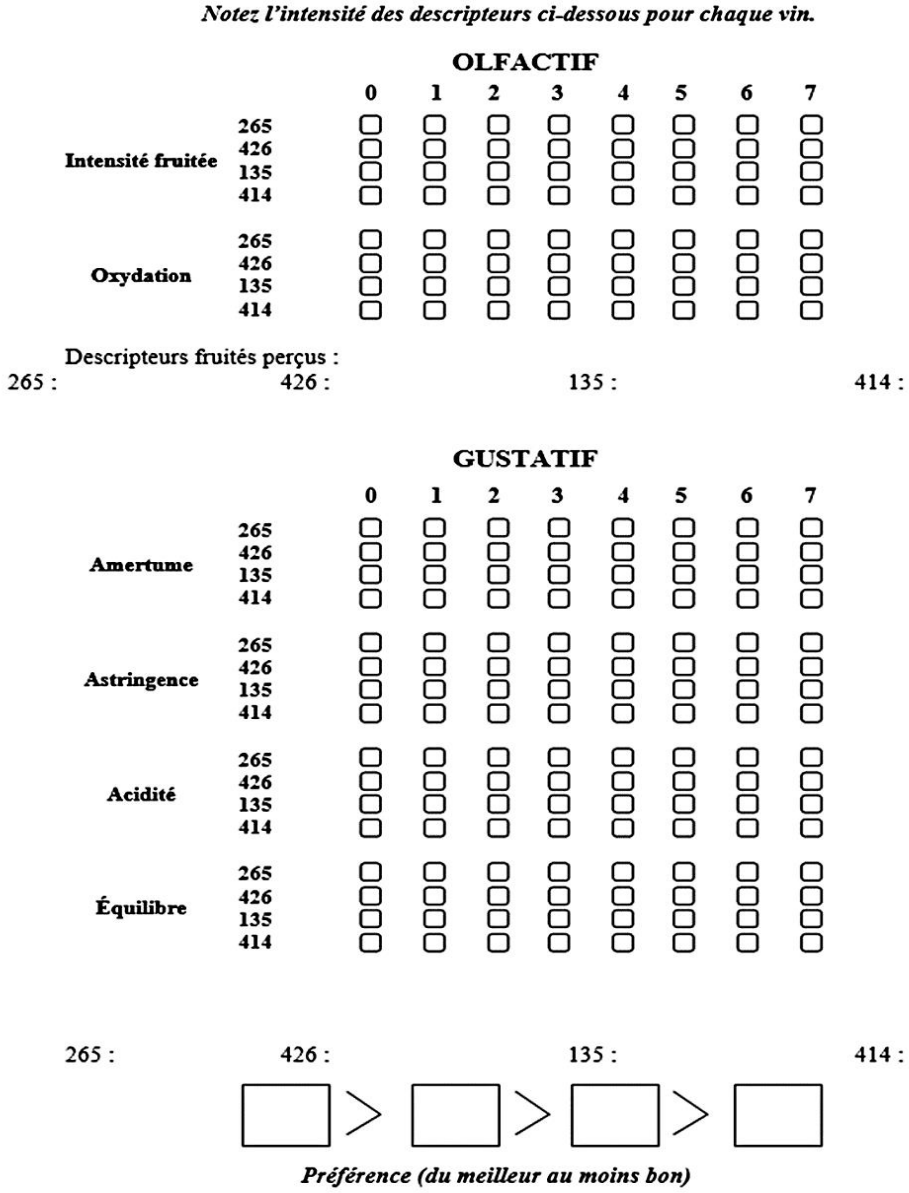


Figure 1: Fiche de dégustation utilisée

II. Analyses colorimétriques

Les analyses colorimétriques ont été réalisées dans une cuve en quartz, sous un parcours de 1 mm. Le spectrophotomètre utilisé est un Jasco V630 à double faisceau, possédant une lampe deutérium pour les longueurs d'onde comprises entre 190 et 350 nm, ainsi qu'une lampe halogène ayant une gamme allant de 330 à 1100 nm. Le logiciel utilisé est Spectra Manager, version 2.09.01.

1. Analyses classiques

Le premier type d'analyse colorimétrique utilise l'absorbance (A) du vin rouge, sous les trois longueurs d'onde suivantes : 420 nm (jaune), 520 nm (rouge) et 620 nm (mauve). Différents calculs permettent l'obtention d'indices chromatiques, à savoir l'intensité colorante (IC') et la teinte (T).

a) Intensité colorante (IC')

L'intensité colorante représente l'importance de la couleur. Elle est déterminée par la formule suivante (Glories, 1984) :

$$IC' = A_{420} + A_{520} + A_{620}$$

b) A_{420} (%), A_{520} (%) et A_{620} (%)

Les valeurs exprimées sous cette forme indiquent le pourcentage de contribution de chaque longueur d'onde d'absorption dans l'intensité colorante IC' expliqué précédemment. Les formules sont les suivantes (Glories, 1984) :

$$A_{420}\,(\%) = \frac{A\,420}{IC'}\,x\,100 \qquad A_{520}\,(\%) = \frac{A\,520}{IC'}\,x100 \qquad A_{620}\,(\%) = \frac{A\,620}{IC'}\,x100$$

c) Teinte (T)

La teinte correspond à une augmentation de la composante jaune, ce qui induit une évolution vers l'orange pour un vin rouge. Elle est calculée à l'aide de la formule suivante (Sudraud, 1958) :

$$T = A_{420}/A_{520}$$

Cependant, pour déterminer la couleur d'objets transparents, il a été recommandé par la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) l'utilisation d'une méthode se basant sur l'absorption de tout le spectre visible.

2. Système CIELab

La mesure s'effectue par balayage entre 380 et 770 nm avec des intervalles de 1, 5 ou 10 nm (Ayala et al., 1997; CIE, 1986). Cette méthode a été adoptée par l'Organisation Internationale des Vins (OIV) (OIV, 2009).

Plus concrètement, les valeurs obtenues permettent de représenter la couleur du vin selon un modèle à trois axes orthogonaux (figure 1), qui comprend :

- la luminosité (L) : varie de 0 à 100. La valeur 0 correspond à du noir, tandis que la valeur 100 correspond à du blanc.

- la composante rouge/vert (a) : peut varier de négatif à positif, pour indiquer respectivement une couleur verte ou rouge (les vins rouges possèdent bien évidemment des valeurs positives).

- la composante bleu/jaune (b) : peut varier de négatif à positif, pour indiquer respectivement une couleur bleue ou jaune.

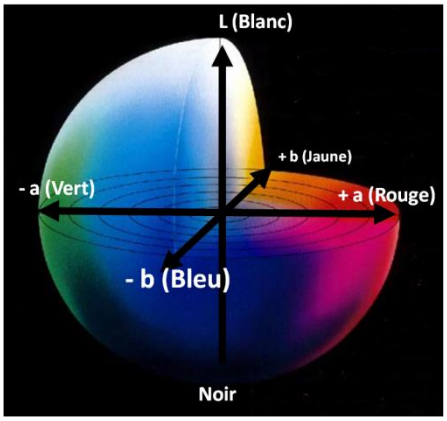


Figure 1 : Représentation du modèle CIELab

III. Analyses chimiques

1. Mesures du SO_2

a) SO_2 libre (méthode de Ripper)

A 20 mL de vin sont ajoutés 2 mL d'acide sulfurique au 1/3. La titration se fait avec de l'iode N50. Pour un vin rouge, à la quantité de SO_2 libre lue sur la burette, 6 doivent être retranchés du fait de la réactivité de l'iode titrante avec les polyphénols présents en grande quantité dans le vin rouge, ainsi que l'acide ascorbique.

b) SO_2 total

A 20 mL de vin sont ajoutés 2 mL de NaOH. Après 5-10 min d'attente, on ajoute 4 mL de H_2SO_4 au 1/3. La titration se fait avec de l'iode N50.

c) SO_2 combiné

Le SO_2 combiné correspond au SO_2 lié à l'acétaldéhyde et aux composés carbonylés présents dans le vin. La valeur se calcule par la relation suivante :

$$SO_2 \text{ combiné} = SO_2 \text{ total} – SO_2 \text{ libre}$$

2. Dosage des composés phénoliques totaux

La méthode de Folin-Ciocalteu est basée sur l'oxydation des composés phénoliques présents dans l'extrait à tester par le réactif Folin-Ciocalteu. Celui-ci est composé d'un mélange d'acide phosphotungistique ($H_2PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 760 nm, proportionnelle au taux de composés phénoliques. La teneur en composés phénoliques totaux est exprimée en concentration d'équivalent acide gallique.

Les échantillons ont été dilués au 1/20ème. Le réactif Folin-Ciocalteu a été dilué au 1/10ème dans de l'eau. Comme gamme étalon, de l'acide gallique a été utilisé (6 concentrations de 6 à 200 mg/L). Dans chaque puits, 20 µL d'eau (blanc), de standard ou d'échantillon ont été mis avec 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu, ainsi que 80 µL d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Après 30 min d'attente, l'absorbance a été mesurée à 760 nm sur un lecteur à plaques. Des absorbances des échantillons, est soustrait l'absorbance du blanc. La valeur ainsi obtenue est reportée à la droite d'étalonnage, donnant lieu à la quantité de phénols totaux en mg/L, en équivalent acide gallique.

3. Dosage des tannins totaux (méthode Bate-Smith)

Le dosage des tannins facilement extractibles est réalisé en utilisant la réaction de Bate - Smith. Cette méthode est basée sur la propriété qu'ont les proanthocyanidines à se transformer, lors d'une hydrolyse acide, en anthocyanidines par rupture de la liaison interflavane (Ribéreau-Gayon and Stonestreet, 1966).

2 mL de vin dilué au 50ème sont mis dans 2 tubes à essai, auxquels sont ajoutés 1 mL d'eau distillée et 3 mL d'acide chlorhydrique 12N. L'un des deux tubes est chauffé pendant 30 min au bain marie à 100 °C. Pour finir, 0,5 mL d'éthanol sont ajoutés dans chaque tube. La densité optique (DO) est mesurée à 550 nm dans une cuve de 1 cm de parcours optique. La différence de DO entre le tube hydrolysé et le témoin donne la quantité de tannins totaux présents dans le vin rouge par la relation suivante :

$$\text{Tannins totaux (g/L)} = 19{,}33 \times (DO_{hydrolyse} – DO_{témoin})$$

4. Indice DMACH (diméthylaminocinnamaldéhyde)

Le diméthylaminocinnamaldéhyde est un composé réagissant spécifiquement avec la première unité des tannins. Les dosages sont donnés en équivalent catéchine (Wallace and Giusti, 2010; OIV, 2012).

100 mg de diméthylaminocinnamaldéhyde sont solubilisés dans 10 mL d'acide chlorhydrique à 12 M, puis complétés à 100 mL par du méthanol.
Pour la gamme étalon, 10 mg de (+)-catéchine sont solubilisés dans 50 mL d'H_2O distillée (soit 200 mg/L). 4 dilutions successives au ½ sont réalisées (500 µL + 500 µL d'H_2O) afin d'avoir une gamme de concentrations allant de 12,5 à 200 mg/L. Pour les échantillons, 100 µL de vin sont dilués dans 900 µL d'H_2O distillée.
Le dosage est ensuité réalisé en ajoutant 5 mL de solution de réactif pour 1 mL d'échantillon ou de standard. Après homogénéisation et 10 min d'attente, la lecture est faite à 640 nm sous 1 cm de parcours optique.

5. Degré de Polymérisation moyen (DPm) et pourcentage de prodelphinidines

Les approches utilisées pour déterminer la composition des tannins polymériques reposent sur des procédés de dégradation chimique. Une de ces approches est basée sur la dépolymérisation des tannins par rupture des liaisons interflavanes en milieu acide et à chaud en présence d'un agent nucléophile, le phloroglucinol. La technique permet de récupérer l'unité terminale et de bloquer chaque unité d'extension sous la forme d'un monomère substitué par l'agent nucléophile (le phloroglucinol) en position C_4 du flavan-3-ol. La solution est alors analysée par HPLC en phase inverse. Il est ainsi possible, dans la mesure où la dépolymérisation est totale, de déterminer la composition en monomères et le degré de polymérisation moyen (DPm) (Kennedy and Jones, 2001; Peyrot des Gachons and Kennedy, 2003; Drinkine et al., 2005; Chira, 2009).

Le DPm a été évalué par phloroglucinolyse en utilisant comme agent nucléophile le phloroglucinol. Pour les procyanidines, les unités terminales sont la (+)-catéchine (C), la (-)-épicatéchine (EC) et la (-)-épicatéchine gallate (ECG). Les unités d'extension sont sous la forme d'adduit de phloroglucinol : adduits (+)-catéchine-phloroglucinol (C-P) 1 et 2, (-)-épicatéchine phloroglucinol (EC-P) et (-)-épicatéchine gallate phloroglucinol (ECG-P). Les prodelphinidines libèrent en plus la (-)-epigallocatéchine (EGC) et son adduit phloroglucinol (EGC-P).

Les échantillons sont préparés comme suit : 2,5 mL de vin ont été évaporés à sec sous pression réduite, puis repris dans 10 mL d'H_2O distillée. Une étape de purification sur cartouche C18 (12 g) a ensuite été réalisée. Après activation de deux cartouches avec du méthanol (1 v) et avec de l'eau distillée (1 v), les 10 mL d'échantillon ont été déposés en tête de la colonne. Après un lavage à l'eau (50 mL), l'élution a été réalisée avec 50 mL de méthanol. La fraction méthanolique est ensuite évaporée à sec sous pression réduite, et reprise dans 1 mL de méthanol, ce qui revient à une concentration de 2,5 fois par rapport au vin de départ. Les échantillons sont conservés sous cet état à -24 °C.

Pour la réaction de dépolymérisation, le mélange réactionnel composé de 100 µL d'échantillon et 100 µL de réactif de phloroglucinolyse a été chauffé à 50°C pendant 20 min. Cinq volumes de la solution aqueuse d'acétate de sodium (40 mmol/L) sont ensuite ajoutés pour arrêter la réaction. Pour la solution réactionnelle, 2,5 g de phloroglucinol, 0,5 g d'acide ascorbique ainsi que 493 µL d'acide chlorhydrique ont été mis dans 50 mL de méthanol. La solution stop, quant à elle, se composait de 544 mg d'acétate de sodium solubilisés dans 100 mL d'H_2O.
Les produits de la réaction ont été analysés au moyen du système de chromatographie HPLC Thermo scientific Accela. La colonne est une phase inverse Xterra RP18 (100 x 4,6 mm, 3,5 µm) équipée d'une pré-colonne de la même phase. Le débit est fixé à 1 mL/min, le volume d'injection est de 20 µL et la longueur d'onde de détection est de 280 nm. Les analyses ont été réalisées à température de 15°C. Le solvant A est un mélange eau-acide acétique (99:1, v/v) et le solvant B du méthanol. Le gradient d'élution est le suivant (tableau 2).

Tableau 2 : Gradient d'élution pour le DPm et le pourcentage de prodelphinidines

Temps (min)	0	25	45	60	62	67	68	71
% solvant A	95	95	80	68	0	0	95	95
% solvant B	5	5	20	32	100	100	5	5

Grace aux coefficients d'extinction molaire spécifiques de chaque produit de réaction, les concentrations ont été calculées, exprimées en mol/L avec la formule :

$$C = \frac{\text{Aire}}{\text{Coefficient d'extinction molaire}}$$

L'identification des composés se fait par recherche de leur masse moléculaire d'ionisation spécifique (tableau 3).

Tableau 3 : Composés formés lors de la phloroglucinolyse et masses moléculaires d'ionisation spécifique.

Composés	Masses $[M-H]^-$
(-)-épigallocatéchine	305
adduit (-) –épigallocatéchine-phloroglucinol	429
adduit (+)-catéchine-phloroglucinol	413
adduit (-)-épicatéchine-phloroglucinol	413
(+)-catéchine	289
(-)-épicatéchine	289
Adduit (-)-épicatéchine gallate-phloroglucinol	565
(-)-épicatéchine gallate	441

Le dosage des produits de la dégradation par HPLC en phase inverse permet le calcul du Degré de Polymérisation moyen (DPm) et du pourcentage de prodelphinidines (% P) tels que :

$$\mathrm{DPm} = \frac{\text{Concentrations en unités totale (terminales + extension)}}{\text{Concentrations en unités terminales}}$$

$$\%\ \mathrm{P} = \frac{\text{Concentrations en unités EGC + EGCP}}{\text{Concentrations en unités totales (terminales + extension)}}$$

6. Anthocyanes moléculaires

Les anthocyanes monoglucosides (cyanidine-3-*O*-glucoside, delphinidine-3-*O*-glucoside, péonidine-3-*O*-glucoside, malvidine-3-*O*-glucoside, pétunidine-3-*O*-glucoside) et les anthocyanes acylées (péonidine-3-*O*-glucoside, malvidine-3-*O*-glucoside) et coumaroylées (paeonidine-3-*O*-glucoside, malvidine-3-*O*-glucoside) ont été identifiées et quantifiées par CLHP-UV.

Les échantillons de vins ont été injectés directement après filtration (diamètre de pores 0,45 µm). Les analyses ont été réalisées sur le système de chromatographie liquide haute performance Finnigan, la longueur d'onde de détection en UV-vis est de 520 nm.

La colonne utilisée est une phase inverse Agilent Nucleosil C18 (250 mm × 4 mm, 5 µm). Le débit est fixé à 1 mL/min, le volume d'injection est 20 µL, à 15°C. Le solvant A est un mélange eau-acide formique (95:5, v/v) et le solvant B acétonitrile-acide formique (95:5, v/v). Le gradient d'élution est présenté ci-après (Tableau 4) (Chira, 2009).

Tableau 4 : Gradient d'élution pour l'identification et la quantification des anthocyanes

Temps (min)	0	25	35	40	41	45
% de solvant A	90	65	0	0	90	90
% de solvant B	10	35	100	100	10	10

Les concentrations ont été exprimées en équivalent de malvidine-3-*O*-glucoside. Les concentrations des échantillons ont été déterminées à partir des équations de régression. Le seuil de détection et de quantification ainsi que la répétabilité et la reproductibilité de la méthode ont été évalués selon la résolution OIV OENO 7/2000 (2000) (tableau 5).

Tableau 5 : Limites de détection et quantification des composés étudiés, répétabilité et reproductibilité de la méthode CLHP-UV

Composés	Limite de détection (mg/L)	Limite de quantification (mg/L)	Répétabilité (%) (n=10)	Reproductibilité (%) (n=10)
Dp-3-Glc	2,85	9,50	1,97	3,65
Cy-3-Glc	0,64	2,13	1,98	4,38
Pt-3-Glc	2,12	7,07	2,36	3,90
Pn-3-Glc	1,04	3,47	1,70	4,27
Mv-3-Glc	1,12	3,73	2,65	3,77

Dp, delphinidine-3-*O*-glucoside ; Cy, cyanidine-3-*O*-glucoside ; Pt, petunidine-3-*O*-glucoside, Pn, paeonidine-3-*O*-glucoside; Mv, malvidine-3-*O*-glucoside ;

7. Dosage des anthocyanes totales

Le dosage des anthocyanes totales permet de connaître la quantité d'anthocyanes présentes dans un échantillon et ce, qu'elles soient à l'état libre ou polymérisé (Ribéreau-Gayon and Stonestreet, 1965). Ceci est rendu possible par la propriété qu'ont les anthocyanes à se décolorer en présence de bisulfite de sodium.

Pour ce faire, dans un tube à essai, 1 mL de vin sont ajoutés avec 1 mL d'éthanol à 0,1 % d'acide chlorhydrique ainsi que 20 mL d'eau distillée à 2 % d'acide chlorhydrique. Après homogénéisation, 10 mL de cette solution sont mis dans deux autres tubes (soit 20 mL). Dans l'un de ces deux tubes servant de témoin, 4 mL d'eau distillée sont ajoutés. Dans le deuxième, ce sont 4 mL d'une solution de bisulfite de sodium à 15 % qui sont ajoutés. Cette solution a pour conséquence de décolorer les anthocyanes présentes dans l'échantillon.

Les deux tubes sont, après homogénéisation, passés au spectrophotomètre en cuve de 1 cm de trajet optique. Le calcul de la concentration est fait par la différence de DO à l'aide de la formule suivante :

$$[C] = DO_{témoin} - DO_{bisulfite} \times 875 \quad \text{(en mg/L)}$$

8. Dosage des anthocyanes polymérisées

Le dosage des anthocyanes polymérisées est rendu possible par l'utilisation d'une méthode qui combine à la fois la décoloration au bisulfite comme décrit précédemment, et la propriété qu'ont les structures hautement polymérisées à précipiter après s'être liées aux protéines (Harbertson et al., 2003).

Une solution tampon contenant 200 mM d'acide acétique et 170 mM de chlorure de sodium est préparée. Afin d'optimiser les interactions entre structures polymériques et protéines lors de l'analyse, le pH est ajusté à 4,9 avec de l'hydroxyde de sodium.

Tout d'abord, 1 mL de vin est dilué au ½ dans de l'eau distillée. Puis, dans un tube de 1,5 mL, 500 µL de vin sont mélangés avec 1 mL de solution tampon. 1 mL sont transférés dans une cuve de 1 cm, puis une première lecture est faite à 520 nm : Lecture **A**. 120 µL de métabisulfite de sodium à 40 % sont ajoutés dans la cuve. Après 10 min sous agitation, une deuxième lecture est faite à 520 nm : Lecture **B**. 500 µL de vin sont à nouveau mélangés avec, cette fois, une solution de tampon contenant 1 g/L de BSA (Sérum d'Albumine Bovine) dans un tube Eppendorf de 1,5 mL. Après agitation à température ambiante pendant 15 min, les tubes sont centrifugés pendant 5 min à 13 500 g. C'est cette étape qui permet la précipitation des polymères après avoir réagi avec la BSA. 1 mL de surnageant sont donc transférés dans une cuve de 1 cm. Après avoir ajouté 120 µL de métabisulfite de sodium à 40 % et laissé agiter pendant 10 min à température ambiante, une troisième lecture est faite à 520 nm : Lecture **C**.

Les pourcentages d'anthocyanes libres, d'anthocyanes liées à des tannins possédant jusqu'à 3 unités (que nous appellerons oligomères) ainsi que d'anthocyanes incluses dans des structures polymériques de plus de 4 unités (que nous appellerons polymères) sont déterminés par les formules suivantes :

$$\text{Anthocyanes libres (\%)} = \text{Lectures } \frac{A-B}{A} \text{ x } 100$$

$$\text{Anthocyanes + oligomères (\%)} = \text{Lectures } \frac{C}{A} \text{ x } 100$$

$$\text{Anthocyanes + polymères (\%)} = \text{Lectures } \frac{B-C}{A} \text{ x } 100$$

9. Cinétiques de pyranoanthocyanes

a) Dosage

Les pyranoanthocyanes ont été dosées par HPLC-UV-MS sur l'HPLC Surveyor. Le passeur d'échantillons a une température de 10 °C. La colonne utilisée est une Lichrospher RP 18 (250 x 4,6 mm, 5 µm), dans laquelle 20 µL d'échantillon ont été injectés. Le débit est fixé à 1 mL/min, pour une pression moyenne de 120 bars. Les solvants utilisés sont de l'eau milliQ à 0,5 % d'acide formique (A), et de l'acétonitrile à 0,5 % d'acide formique (B) selon le gradient suivant :

Tableau 6 : Gradient de solvants utilisé

Tps (min)	0	5	35	50	51	57	58	62
A (%)	100	85	70	50	0	0	100	100

Le spectromètre de masse utilisé est un Finnigan LCQ Advantage, avec un voltage de spray de 5 kV, une température de capillaire de 300 °C ainsi qu'un voltage de capillaire de 5 V.

Afin de pallier à de possibles variations dans la quantité d'échantillon passant entre le détecteur UV et la masse, de l'acide chlorogénique a été utilisé en tant qu'étalon interne pour la courbe de

calibration, ainsi que pour les échantillons. Concrètement, une solution mère d'acide chlorogénique à 500 mg/L a été préparée, dans de l'eau distillée. Ensuite, 100 µL de cette solution ont été ajoutés à 900 µL de standard ou d'échantillon. Les échantillons ont été filtrés à 0,45 µm avant l'ajout d'acide chlorogénique.

b) Identification

L'identification des pyranoanthocyanes a été rendue possible grâce à l'utilisation d'un spectromètre de masse à haute résolution de type Q-TOF (Quadripôle-Time Of Flight), couplée à une chaîne UHPLC Agilent 1 290 Infinity (voir partie). Les injections ont été réalisées sur une colonne Eclipse Plus C18 (2,1 x 100 mm, 1,8 µm). Le solvant A est de l'eau à 0,1 % d'acide formique, le B du méthanol 0,1 % d'acide formique. Le débit est de 400 µL/min, selon le gradient suivant (tableau 7) :

Tableau 7 : Gradient d'élution pour les analyses Q-TOF

Tps (min)	0,5	14	17	17,1	20
% A	94	5	5	94	94

Le spectromètre de masse est utilisé en gamme dynamique de 2 GHz, allant jusqu'à 1 700 Thompson. Le débit de gaz de séchage est de 9 L/min, avec une température de 300 °C. La pression du nébuliseur est de 25 psi. Le débit et la température du [sheath gas] sont réglés à 11 L/min et 350 °C, respectivement. Le voltage de capillaire est de 4 kV. Les masses de références utilisées sont $[M+H]^+$ = 121,050873, $[M+H]^+$ = 322,048121 et $[M+H]^+$ = 1221,990637.

L'identification des pyranoanthocyanes a été faite par recherche ciblée. Pour cela, une base de données comprenant les formules brutes des 13 molécules à doser a été crée. Les pics d'intérêt correspondant aux masses recherchées sont analysés par le logiciel. De cette analyse, deux informations ressortent :

- **la différence de masse moléculaire**. Cette valeur correspond à la différence entre la masse théorique, ou exacte, de la formule brute, et la masse mesurée par l'appareil. Généralement, elle doit être inférieure à 6 ppm.

- **le score**. Cette valeur représente le pourcentage de ressemblance entre les formules brutes et les pics détectés lors de l'injection. Cette valeur est le fruit de 3 paramètres, ayant chacun un coefficient différent. Le premier, est le score de masse, entre la masse théorique et celle mesurée. Ce score possède par défaut un coefficient de 100. Le deuxième paramètre est l'abondance isotopique. En effet, dans la nature, les atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène sont présents sous plusieurs isotopes, résultant d'une variation dans le nombre de neutrons présents dans le noyau. Chaque isotope est présent en quantité différente (voir tableau 8). Ainsi, plus les molécules sont grosses, de même que plus elles sont présentes en grande quantité, et plus il y a de molécules contenant un, ou plusieurs isotopes. De ce fait, connaissant l'abondance relative des différents isotopes de chaque

atome, la présence d'isotopes participe à la détermination et l'identification des molécules. Le paramètre « abondance en isotopes » a, par défaut, un coefficient de 60. Le dernier paramètre pris en compte est l'espacement d'isotopes. Il correspond aux différences de masse entre la molécule recherchée sans isotope, et celles contenant des isotopes. Les différences de masse sont calculées entre les valeurs théoriques, et celles obtenues lors de l'analyse. Le coefficient par défaut est de 50.

Tableau 8 : Abondances relatives des différents isotopes (Couchoud, 2008)

Isotopes	^{12}C	^{13}C	^{1}H	^{2}H	^{16}O	^{17}O	^{18}O
Distribution (%)	98,89	1,11	99,98	0,003-0,018	99,763	0,0375	0,1995

IV. Analyses statistiques

Des suivis et des analyses chimiques réalisés chaque mois ont permis de déterminer les évolutions des différentes modalités (une quantité d'oxygène pour un pH donné) au cours du temps. Chaque analyse a été faite au départ (arbitrairement T0), puis à chaque mois pendant quatre mois (arbitrairement de T1 à T4).

Comme indiqué dans le tableau 1, 23 paramètres relatifs à l'évolution chimique du vin ont été suivis. Chaque paramètre a été suivi dans chaque bonbonne (33) au cours du temps (5 points). Toutes ces analyses ont été effectuées pour chaque vin (3). Ainsi, au cours de cette thèse, un total de (33 x 23 x 5 x 3) 11 385 valeurs ont été mesurées au niveau des paramètres chimiques et colorimétriques, réplicats compris.

Les analyses chimiques permettent d'obtenir des cinétiques d'évolution pour les doses d'oxygène, en fonction du temps et des pH. Il est donc possible d'étudier les différences selon 3 facteurs : temps, oxygène et pH. Pour plus de clarté, nous avons donc choisi de suivre les cinétiques des différentes doses d'oxygène pour chaque pH pris séparément. Ainsi, pour chaque pH, nous avons étudié les effets liés au temps ou à l'oxygène, de manière séparée. Les tests ont été réalisés sous Statistica© version 10. Un test de Levene a été réalisé afin de savoir si les distributions des valeurs suivent une loi normale. Lorsque c'est le cas, les différences ont été calculées par ANOVA. Lorsque ce n'était pas le cas, c'est le test de Kruskal-Wallis qui a été utilisé.

Dans cette thèse, une partie consacrée à l'étude statistique comparative des 3 vins simultanément a été effectuée. Cette partie comprend des tests de corrélation, une ACP (Analyse en Composantes Principales) ainsi que des analyses de SOM (Self-Organizing Maps). Le SOM (plus rarement appelée carte auto-adaptative en français) repose sur des méthodes d'apprentissage non-supervisées, donc sans à priori. Cette approche, appliquée à ce jeu de données, permet de comparer des cinétiques d'évolution de paramètres chimiques au cours du temps, et de regrouper entre elles les cinétiques

qui présentent une évolution similaire. Cette approche permet ensuite de tester statistiquement (Khi^2) si les groupes formés sans à priori sont liés aux différents facteurs testés (oxygene, pH, vin). Tous ces tests ont été réalisés sou R, avec le package SOM.

Pour les analyses sensorielles, les tests statistiques permettant de connaître les différences significatives entre les différents échantillons ont été faits par ANOVAs sous Statistica© version 10. Afin d'éviter d'avoir des effets juges significatifs (certaines personnes ne notant pas les échantilllons de la même manière que la plupart des autres dégustateurs), les données ont été centré-réduites au préalable.

Résultats & Discussion

A. Essais préliminaires sur un vin rouge de Cabernet sauvignon d'IPT 68 (« moyen »), solutions modèles anthocyanes-monomères de tannins et solutions modèles anthocyanes-tannins oligomères à pH 3,5

Cette partie traite des premiers essais menés de façon préliminaire en contexte de micro oxygénation. Les essais ont été réalisés simultanément sur un vin de Cabernet sauvignon millésime 2011 d'IPT 68 (qualifié de « moyen ») et deux types de solutions modèles différentes. Les deux contenaient 4 g/L de fraction enrichie à 10 % d'anthocyanes. La première contenait aussi 1 g/L de monomères de tannins, tandis que la deuxième contenait 1 g/L de tannins oligomères. Les compositions de départ sont données dans le tableau 1. Toutes les solutions sont ajustées à pH 3,5.

Tableau 1 : Composition de départ des différentes solutions

	Anthocyanes – Monomères (4 :1)	Anthocyanes – Oligomères (4 :1)	Vin CS IPT 68
DPm	**1,98 ± 0,2**	**3,47 ± 0,1**	**4,10 ± 0,1**
Tannins totaux (g/L)	**4,26 ± 0,2**	**4,95 ± 0,3**	**3,69 ± 0,2**
Dimère B1	46,38 ± 3,2	52,73 ± 13,5	24,18 ± 0,4
Dimère B3	11,43 ± 4,2	13,30 ± 5,3	7,13 ± 1,6
Catéchine	142,03 ± 8,3	98,51 ± 7,3	51,25 ± 0,6
Dimère B4	7,38 ± 1,3	9,16 ± 14,6	3,25 ± 0,6
Dimère B2	48,23 ± 3,1	58,07 ± 11,6	18,50 ± 0,1
Epicatéchine	121,06 ± 7,9	86,89 ± 6,4	37,99 ± 0,8
Total (mg/L)	**376,51 ± 28,0**	**318,66 ± 58,7**	**142,31 ± 4,1**
Anthocyanes totales (mg/L)	**379,42 ± 14,9**	**390,05 ± 1,9**	**434,21 ± 3,7**

Les valeurs sont la moyenne de deux échantillons.

Le vin possède des tannins avec le plus grand DPm. La solution avec les monomères de tannins a un DPm de 2,91, car la fraction enrichie en anthocyanes contient elle-même des tannins. Les teneurs en anthocyanes totales sont proches dans les trois milieux.

Le suivi a été mené sur trois mois. Les légendes notées S0, S1, S2, S3, S4 etc signifient semaine 0, semaine 1, semaine 2, semaine 3, semaine 4 etc.

I. Indices colorimétriques

Les indices colorimétriques constituent des paramètres importants dans le vin rouge, puisqu'ils permettent de déterminer les variations de couleur, notamment l'intensité colorante et l'évolution vers l'orange, due au vieillissement.

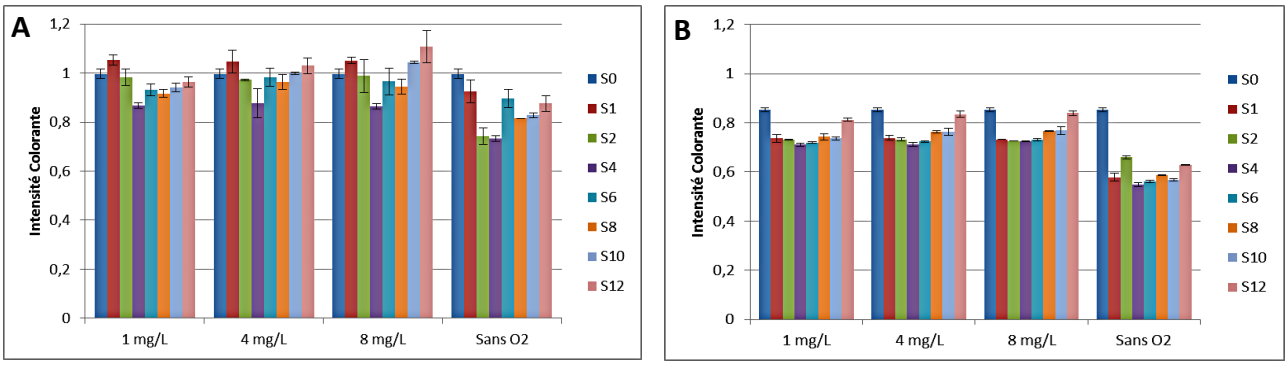


Figure 1 : Evolutions des intensités colorantes pour différents apports d'oxygène. **A :** Anthocyanes + monomères ; **B :** Anthocyanes + oligomères.

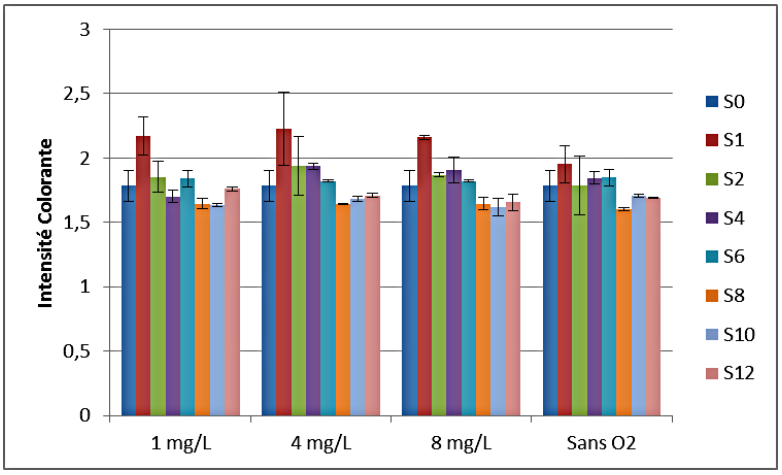


Figure 1 bis : Evolution de l'intensité colorante du vin rouge pour différents apports d'oxygène.

Dans toutes les solutions modèles, les modalités sans oxygène montrent une intensité colorante (IC) moins forte (figure 1). Les solutions modèles contenant les anthocyanes + oligomères montrent une diminution dès la première semaine d'environ 12 %. Dans les modalités avec oxygène, la valeur initiale est stable à la semaine 12 (figure 1). Dans les anthocyanes + monomères, l'IC augmente après une nette diminution à la semaine 4 d'environ 12 % (figure 1). Dans le cas du vin, les IC sont plus élevées (figure 1 bis). Si l'on fait abstraction des valeurs plus hautes à la première semaine, on peut dire que l'IC ne montre guère d'évolution ni au cours du temps, ni en fonction des doses d'oxygène. Pour ce vin rouge testé, 12 semaines ne permettraient pas d'établir de différences marquées pour l'IC (figure 1 bis).

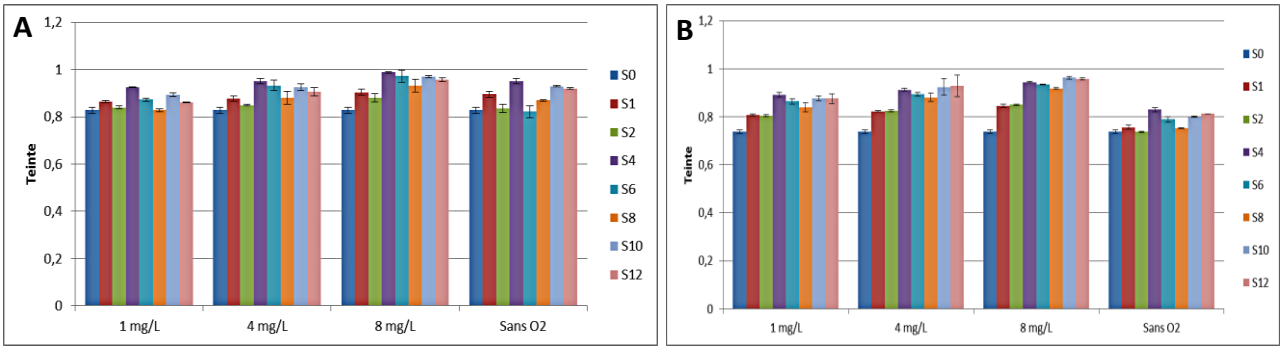


Figure 2 : Evolutions de la teinte pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines). **A :** Anthocyanes + monomères ; **B :** Anthocyanes + oligomères

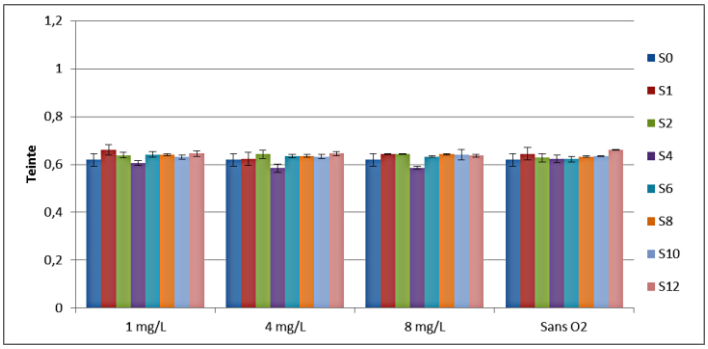


Figure 2 bis : Evolution de la teinte du vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).

Le vin rouge ne montre pas d'augmentation de la teinte, qui correspond à l'évolution vers l'orange (figure 2bis). Les solutions modèles, en revanche, montrent une augmentation graduelle de la teinte au cours du temps et ce, de manière plus marquée pour les bonbonnes avec oxygène (jusqu'à +20%). Les anthocyanes + oligomères ont une tendance plus marquée que les anthocyanes + monomères (figure 2).

II. Evolution des phénols totaux

Les phénols totaux ont été dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats sont donnés dans la figure 3 et 3 bis.

Parmi les matrices modèles, celle avec les anthocyanes + oligomères présente le plus de changements dans l'évolution des phénols totaux, avec une augmentation jusqu'à la semaine 4 de presque 50 % avec oxygène, puis une diminution. La modalité sans oxygène ne semble pas évoluer. L'autre solution modèle, ainsi que le vin rouge ne présentent pas de réelle évolution (figures 3 et 3 bis).

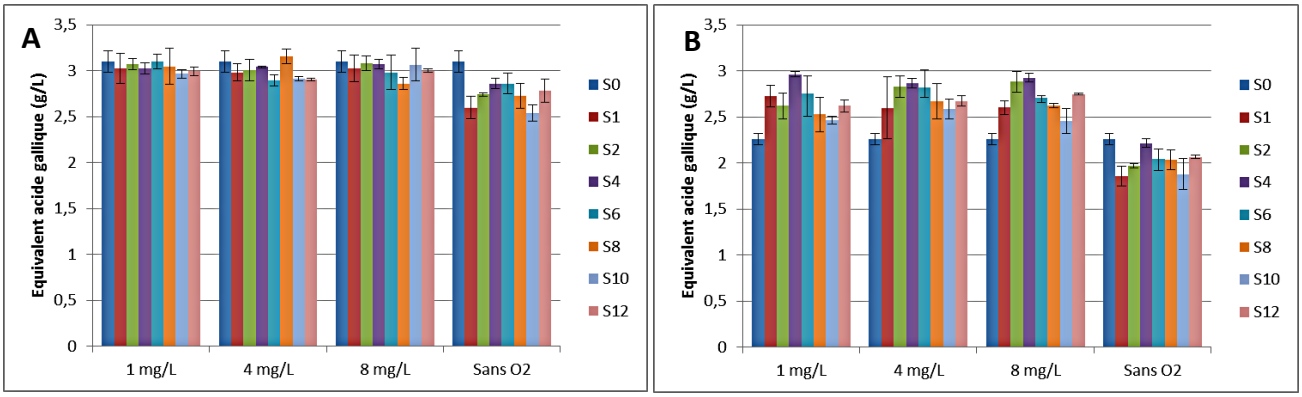


Figure 3 : Evolutions des phénols totaux par dosage de Folin-Ciocalteu pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines). **A:** Anthocyanes + monomères. **B :** Anthocyanes + oligomères

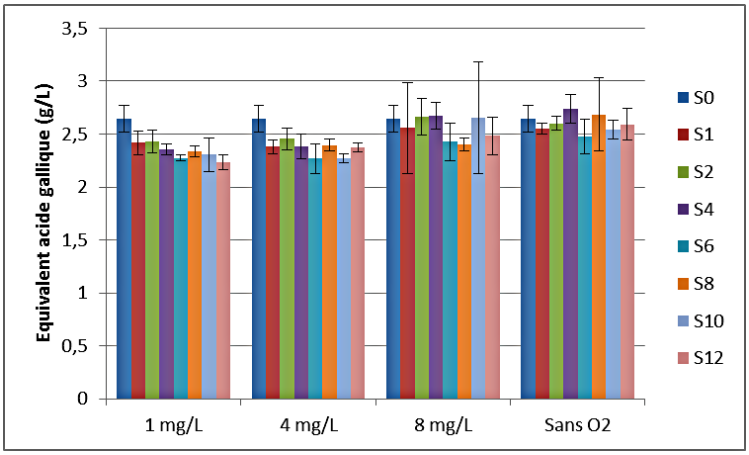


Figure 3 bis : Evolution des phénols totaux par dosage de Folin-Ciocalteu dans le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).

Cependant, l'on notera que les modalités sans oxygène des deux solutions modèles montrent des teneurs en phénols totaux plus basses. En réalité, cela peut être dû à une erreur de préparation au moment du lancement de l'expérience, car les modalités sans oxygène qui constituent le témoin ont été préparées séparément.

III. Evolutions des tannins

1. Tannins totaux

Les tannins sont responsables des propriétés gustatives des vins rouges (Arnold et al., 1980; Peleg et al., 1999; Vidal et al., 2004). Pour cette raison, l'évolution de ces composés est suivie par plusieurs techniques d'analyses afin de voir si l'oxygène peut induire des modifications notables au sein de leurs teneurs, ainsi que leurs qualités.

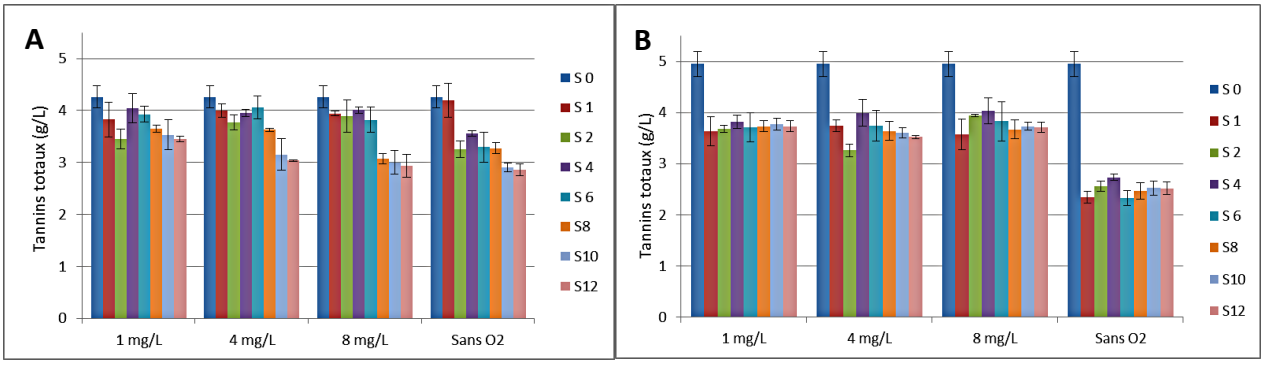


Figure 4 : Evolution des tannins totaux pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines). **A :** Anthocyanes + monomères. **B :** Anthocyanes + oligomères

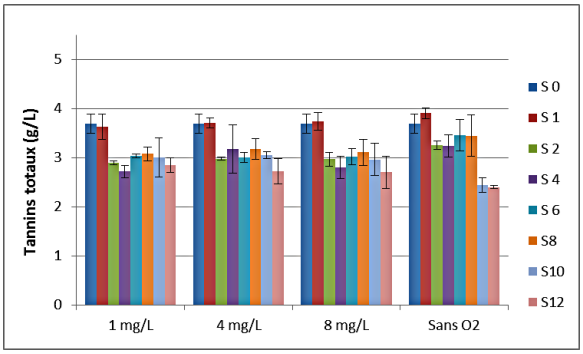


Figure 4 bis : Evolution des tannins totaux sur le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).

L'on observe que les évolutions des solutions modèles en tannins totaux sont différentes. En effet, la solution avec anthocyanes + oligomères montre une plus grande stabilité dans la teneur en tannins totaux que celle avec les monomères, même s'il y a une forte diminution lors de la première semaine d'un peu plus de 20 %. Une fois encore, on observe une teneur plus faible pour les modalités sans oxygène (figure 4). Dans le vin rouge, les teneurs en tannins totaux ont diminué dès la deuxième semaine et ce, quelles que soient les quantités d'oxygène présentes dans les bonbonnes (figure 4 bis). Il apparaît que c'est la solution modèle anthocyanes + monomères qui se comporte de façon plus proche du vin rouge.

2. Indice DMACH

L'indice DMACH représente la quantité de réactif qui a réagi avec l'unité supérieure des tannins condensés. Ainsi, pour une même quantité de tannins, si l'indice diminue, il indique une plus grande polymérisation des tannins.

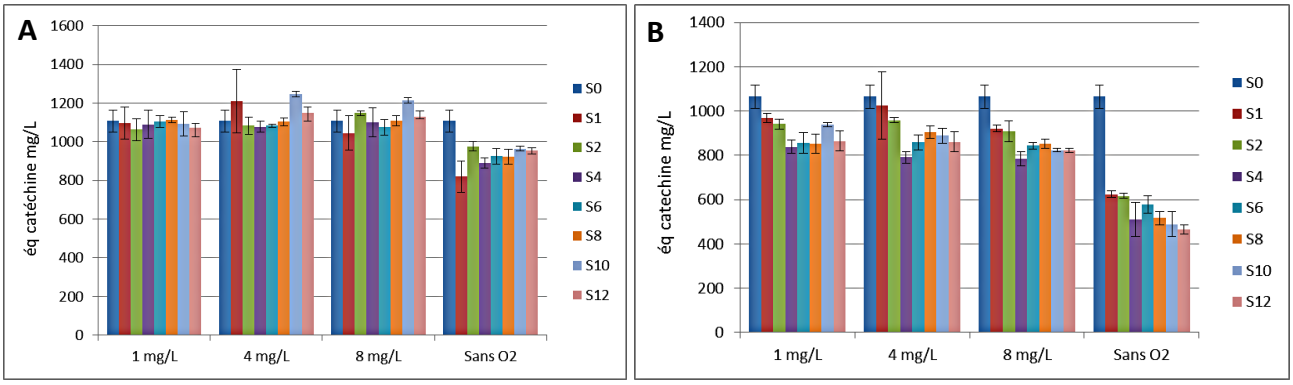


Figure 5 : Evolutions de l'indice DMACH pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines). **A :** Anthocyanes + monomères. **B :** Anthocyanes + oligomères.

Dans le cas des solutions modèles, celle contenant anthocyanes + monomères de tannins ne montre aucune variation, si ce n'est une légère augmentation dans la modalité sans oxygène, ce qui reviendrait à une légère dépolymérisation (figure 5 A). La solution modèle avec anthocyanes + oligomères montre une diminution (donc polymérisation) de l'ordre de 20 % jusqu'à la semaine 4, puis une stabilisation dans les modalités avec oxygène. La modalité sans oxygène indique une polymérisation graduelle des tannins au cours du temps, avec une augmentation d'environ 25 % entre S1 et S12 (figure 5 B).

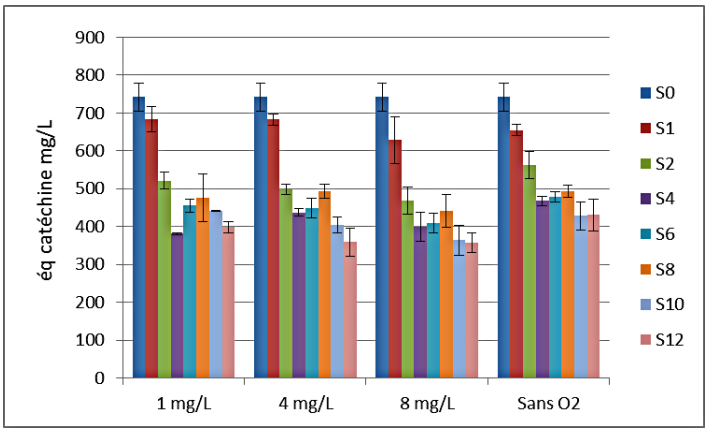


Figure 5 bis : Evolution de l'indice DMACH sur le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).

Le vin rouge en revanche, montre une diminution constante de l'indice DMACH, soit une polymérisation continue (figure 5 bis). Cette diminution est de l'ordre de 50 % à S12 quelles que soient les modalités.

3. Degré de Polymérisation moyen (DPm)

Les évolutions des DPm sont donnés dans les figures 6 et 6 bis.

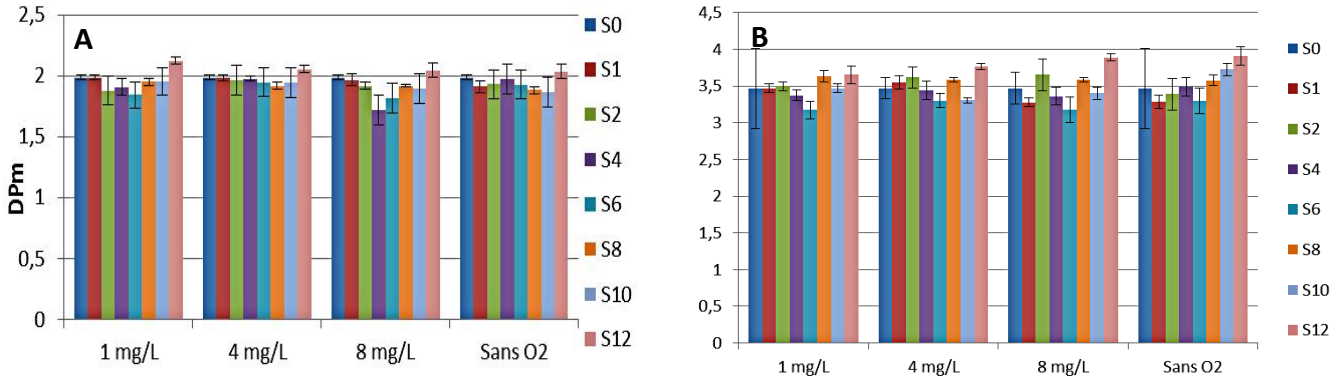


Figure 6 : Evolutions du DPm pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines). **A :** Anthocyanes + monomères. **B :** Anthocyanes + oligomères.

En ce qui concerne les évolutions du DPm, il est clair que les deux solutions modèles ne montrent pas de réelles variations (figure 6 A et B). On notera cependant que pour la modalité sans oxygène de la matrice modèle avec anthocyanes + oligomères, les tannins polymérisent à partir de S8. A S12, le gain de polymérisation est d'environ 10 % par rapport au départ (figure 6 B).

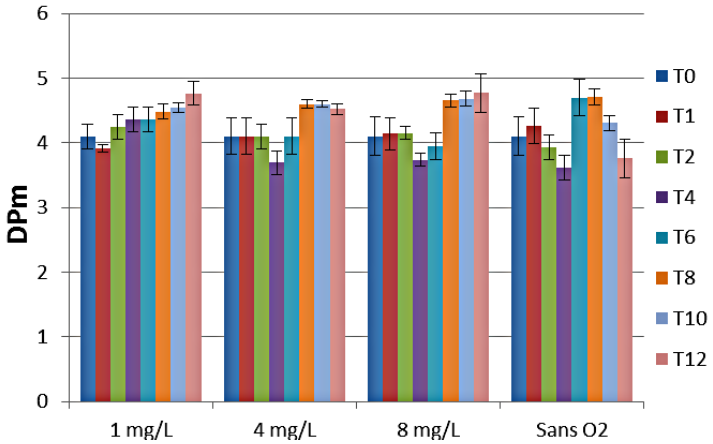


Figure 6 bis : Evolution du DPm dans le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).

Les évolutions du vin rouge pour l'analyse du DPm montrent que la modalité se différenciant des autres est la 1 mg/L d'oxygène, car elle est la seule à montrer une polymérisation aussi constante et régulière au cours du temps, de 4 à presque 5 (gain de 20 %) (figure 6 B). Les modalités 4 et 8 mg/L d'oxygène montrent une polymérisation accrue à partir de la semaine 8, avec un gain de 20 %. La différence se situe au niveau de la modalité sans oxygène, où la polymérisation (DPm) diminue à la semaine 10 pour atteindre le niveau de départ à S12 (figure 6 bis).

4. Tannins moléculaires

Les tannins moléculaires ont été dosés par HPLC-UV-fluorescence. La méthode permet de quantifier les monomères de tannins (catéchine et épicatéchine), ainsi que les dimères B1, B2, B3 et B4.

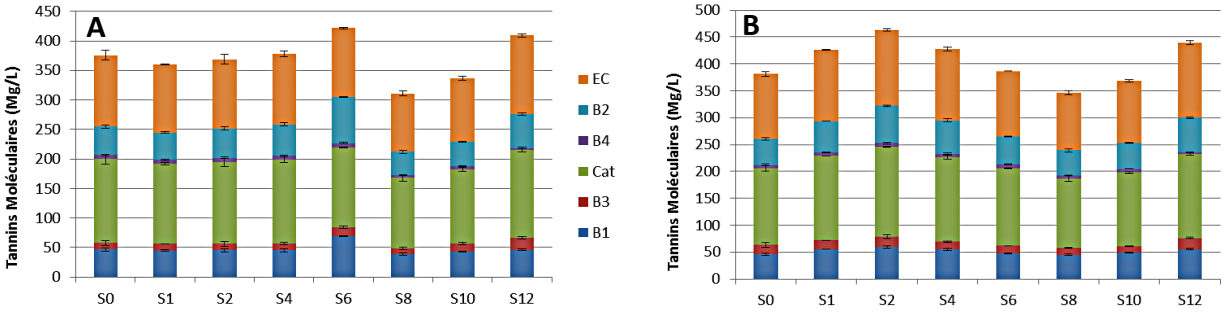


Figure 7 : Evolution des tannins moléculaires dans la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines). **A :** sans oxygène. **B :** 8 mg/L.
EC : (-)-épicatéchine ; **C** : (+)-catéchine ; **B1** : dimère B1 ; **B2** : dimère B2 ; **B3** : dimère B3 ; **B4** : dimère B4.

Dans la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins, les tendances d'évolution sont similaires quelles que soient les quantités d'oxygène ajoutées.

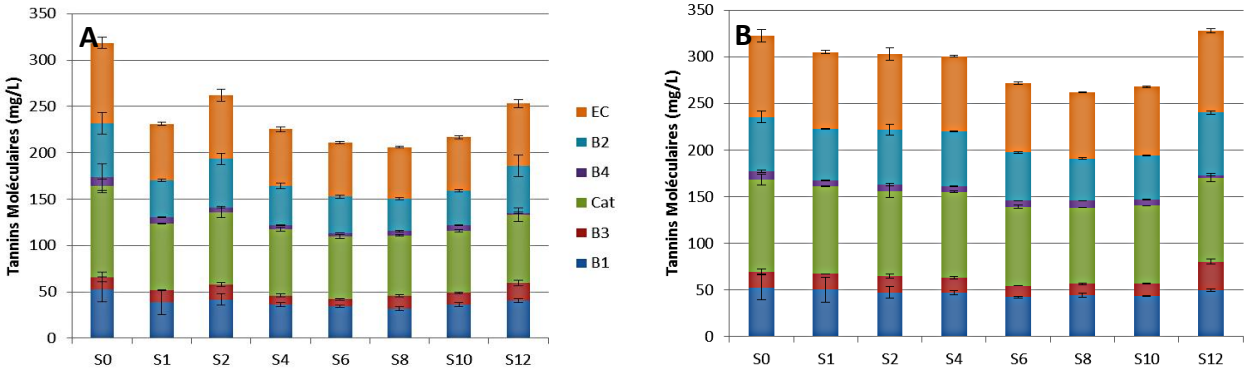


Figure 8 : Evolution des tannins moléculaires dans la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines). **A :** sans oxygène. **B :** 8 mg/L d'O_2.
EC : (-)-épicatéchine ; **C** : (+)-catéchine ; **B1** : dimère B1 ; **B2** : dimère B2 ; **B3** : dimère B3 ; **B4** : dimère B4.

Dans la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères, les tannins moléculaires ne montrent pas de grande variabilité quelles que soient les doses d'oxygène (figure 8). En revanche, dans le vin, des évolutions de teneurs en tannins moléculaires apparaissent par rapport aux solutions modèles. En effet, à partir de la semaine 8 les quantités de tous les tannins moléculaires diminuent assez fortement de l'ordre de 50 à 60 % (figure 9).

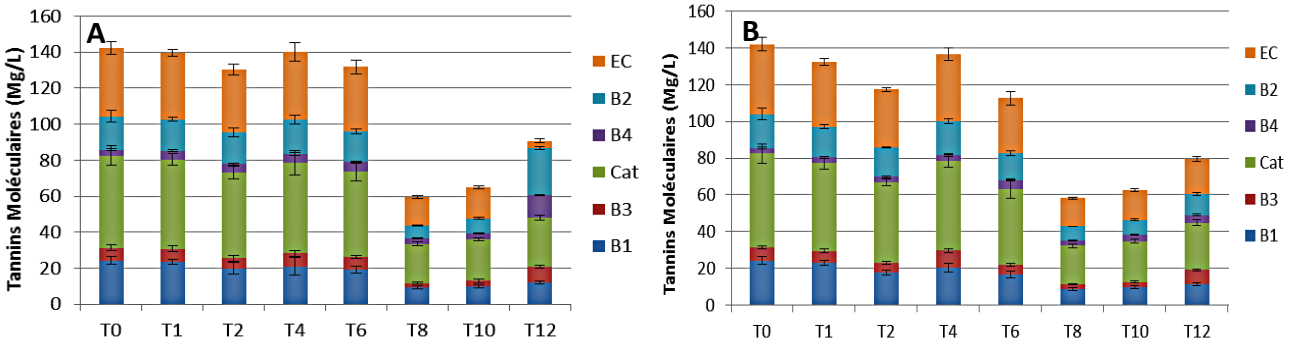


Figure 9 : Evolution des tannins moléculaires dans le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines). **A :** sans oxygène. **B :** 8 mg/L.

EC : (-)-épicatéchine ; **C** : (+)-catéchine ; **B1** : dimère B1 ; **B2** : dimère B2 ; **B3** : dimère B3 ; **B4** : dimère B4.

Si l'on compare avec l'évolution du DPm (figure 6 bis), on peut dire qu'une corrélation existe puisque le DPm montre une augmentation à partir de la semaine 8 pour les modalités à 4 et 8 mg/L d'oxygène, et à partir de la semaine 6 pour la modalité sans oxygène.

IV. Evolutions des anthocyanes

Les anthocyanes sont les pigments responsables de la couleur des vins rouges (Brouillard and Dubois, 1977). Leur analyse au cours de l'expérimentation permet d'apprécier l'évolution de leurs teneurs, et d'éventuellement relier celle-ci aux indices chromatiques.

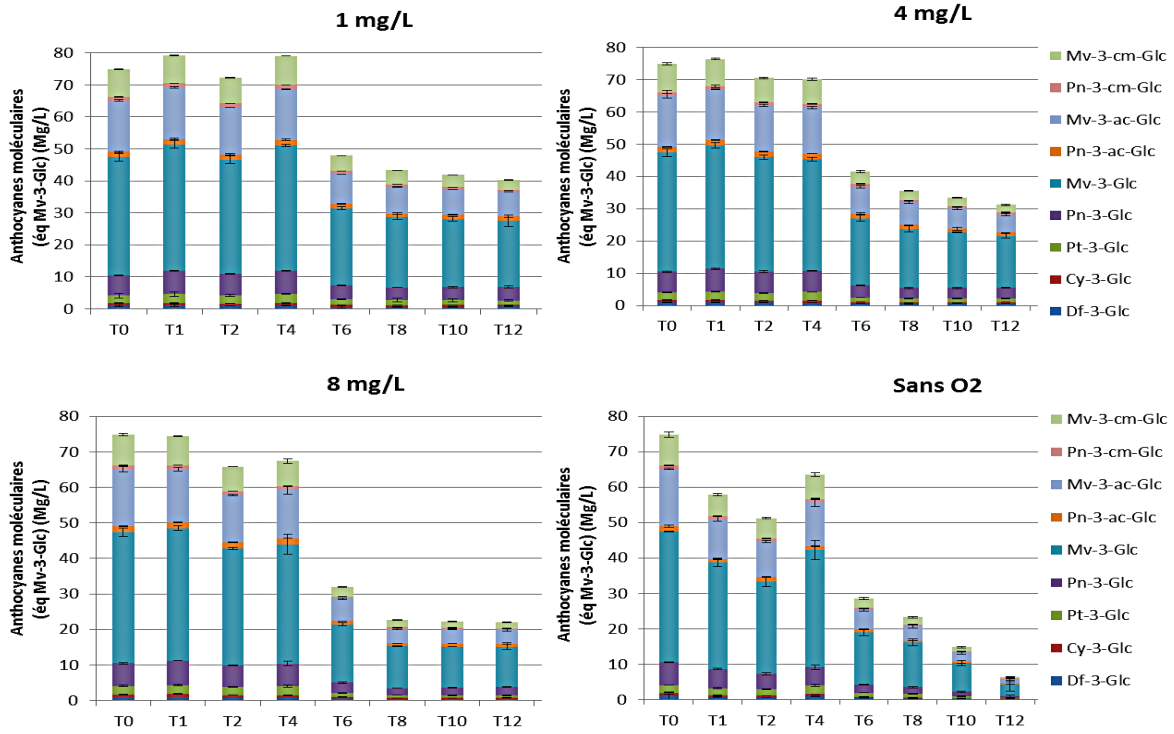


Figure 10 : Evolution des anthocyanes moléculaires dans la solution anthocyanes + monomères de tannins pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

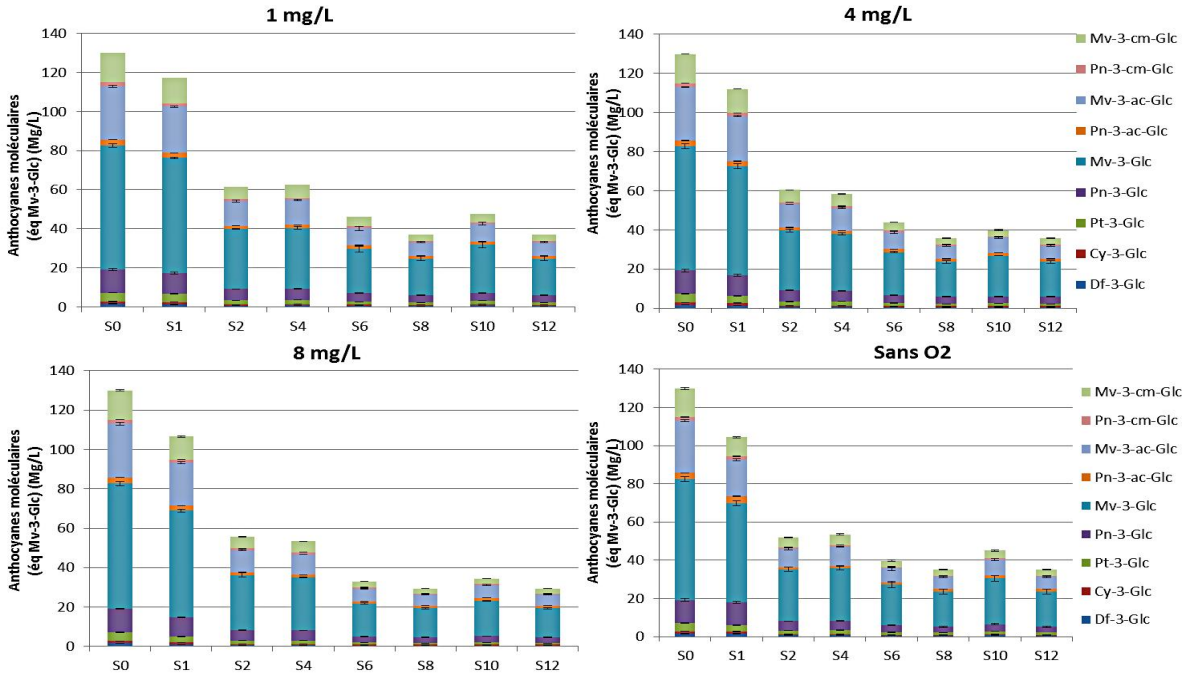


Figure 11 : Evolution des anthocyanes moléculaires dans la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

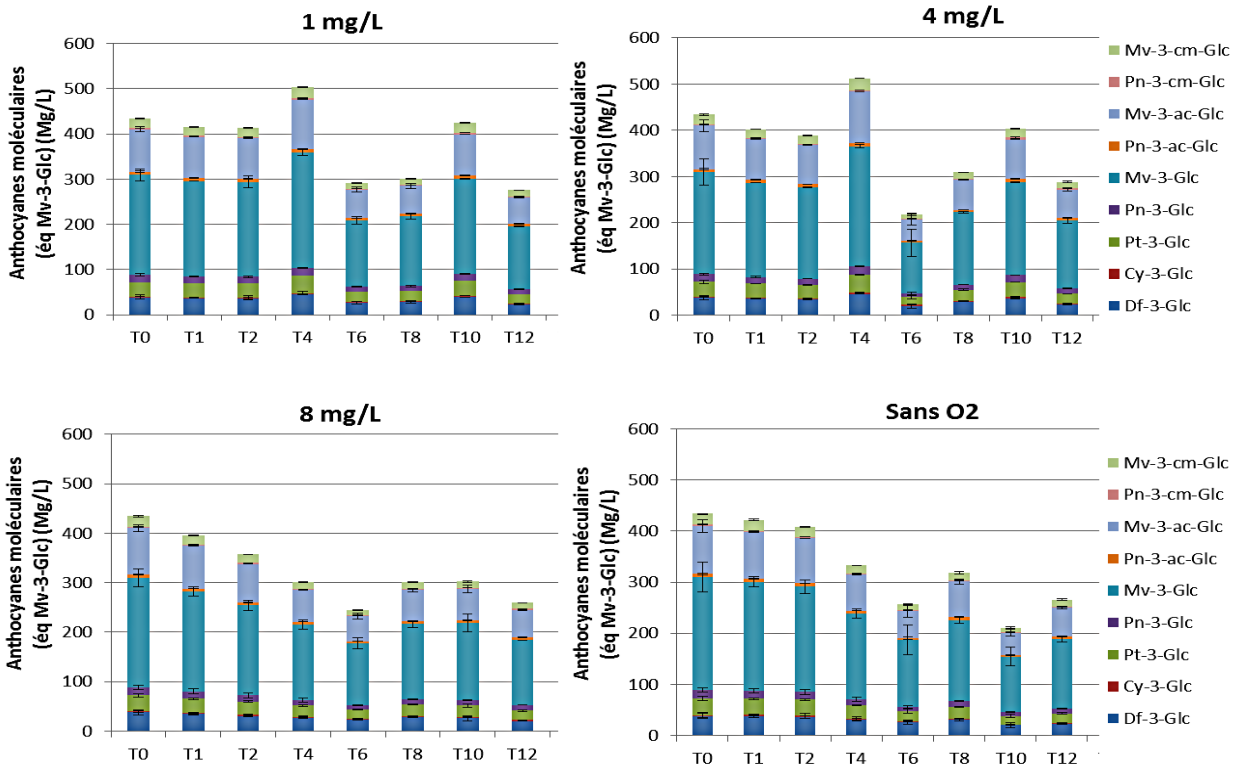


Figure 12 : Evolution des anthocyanes moléculaires dans le vin rouge pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

Les anthocyanes moléculaires, dosées par HPLC-UV, montrent des tendances d'évolution différentes selon le type de matrices modèles. Le vin rouge montre une diminution graduelle en anthocyaes moléculaires au cours du temps, et ce quelles que soient les quantités d'oxygène ajoutées. La diminution des teneurs est pertinente pour les bonbonnes ayant reçu de l'oxygène, puisque les teneurs en anthocyanes moléculaires diminuent plus vite en présence d'oxygène (figure 12). En revanche, la bonbonne sans oxygène semble montrer une évolution similaire à celle contenant 8 mg/L d'oxygène (figure 12). Parmi les deux solutions modèles, celle contenant anthocyanes + monomères de tannins montre une plus grande stabilité dans la teneur en anthocyanes moléculaires, puisque la diminution n'est observable qu'à partir de la sixième semaine (figure 10), alors que dans la solution anthocyanes + oligomères, la diminution est observable dès la deuxième semaine (figure 11) pour atteindre - 60 à – 70 %.

Ces résultats indiquent, en comparaison avec les solutions modèles, que pour la S12, la matrice du vin rouge (plus complexe) conduit à des diminutions plus graduelles de teneurs en anthocyanes moléculaires que dans les solutions modèles. D'autre part, dans le cas de la solution modèle avec anthocyanes + monomères de tannins, il semble que les anthocyanes soient moins réactives car leur diminution n'est franchement observable qu'à partir de la semaine 6 (figure 10), contrairement à la solution modèle avec anthocyanes + oligomères où la diminution est observable dès la semaine 2 (figure 11).

V. Analyses sensorielles

Les analyses sensorielles ont été réalisées tous les mois par au moins 15 personnes habituées à effectuer des dégustations. Lors du premier mois, l'astringence, l'amertume, l'équilibre et l'acidité ont été évalués. Le niveau d'oxydation ainsi que le fruité ont été rajoutés à partir du deuxième mois.

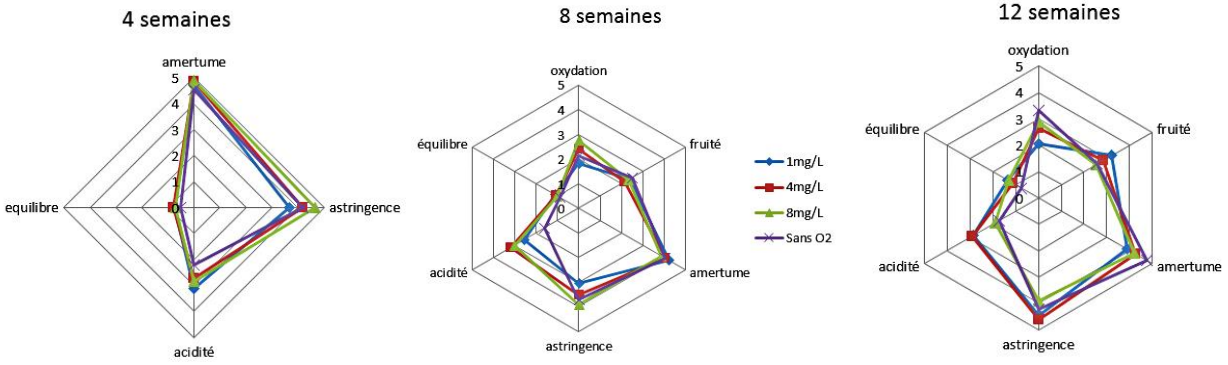


Figure 13 : Analyses sensorielles pour la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins.

Tableau 2 : Résultat des ANOVAs à 4 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	4,68 ± 0,19 a	3,65 ± 0,22 a	3,12 ± 0,24 a	0,75 ± 0,11 a
4 mg/L	4,86 ± 0,20 a	4,19 ± 0,19 a	2,72 ± 0,18 a	0,81 ± 0,12 a
8 mg/L	4,91 ± 0,23 a	4,63 ± 0,23 a	2,86 ± 0,25 a	0,71 ± 0,12 a
Sans O_2	4,52 ± 0,39 a	4,16 ± 0,37 a	2,21 ± 0,43 a	0,53 ± 0,19 a

Tableau 3 : Résultat des ANOVAs à 8 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Oxydation	Fruité	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	1,83 ± 0,38 a	2,39 ± 0,32 a	4,22 ± 0,21 a	3,06 ± 0,33 a	2,56 ± 0,46 a	1,11 ± 0,24 a
4 mg/L	2,42 ± 0,36 ab	2,14 ± 0,36 a	4,06 ± 0,40 a	3,5 ± 0,37 ab	3,19 ± 0,44 a	1,06 ± 0,24 a
8 mg/L	2,78 ± 0,42 b	2,33 ± 0,38 a	3,86 ± 0,33 a	3,92 ± 0,33 b	3,03 ± 0,45 a	1 ± 0,21 a
Sans O_2	2,14 ± 0,36 ab	2,5 ± 0,35 a	4,06 ± 0,53 a	3,69 ± 0,46 ab	1,61 ± 0,37 b	0,89 ± 0,30 a

Tableau 4 : Résultat des ANOVAs à 12 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Oxydation	Fruité	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	2,05 ± 0,35 a	3,21 ± 0,54 a	3,89 ± 0,42 a	4,47 ± 0,38 a	2,84 ± 0,47 b	1,37 ± 0,37 a
4 mg/L	2,63 ± 0,45 ab	2,84 ± 0,54 a	4,26 ± 0,45 a	4,63 ± 0,45 a	2,89 ± 0,44 b	1,11 ± 0,31 ab
8 mg/L	2,89 ± 0,56 ab	2,53 ± 0,53 a	4,21 ± 0,54 a	3,89 ± 0,46 a	1,89 ± 0,37 a	1,32 ± 0,32 a
Sans O_2	3,31 ± 0,53 b	2,58 ± 0,52 a	4,74 ± 0,54 a	4,21 ± 0,42 a	1,74 ± 0,33 a	0,74 ± 0,25 b

Les analyses sensorielles réalisées au premier mois montrent que les panélistes n'ont pas su distinguer les différentes modalités d'oxygène dans la solution modèle, puisque il n'y a pas de distinction ni sur le graphique, ni avec l'analyse statistique (figure 13, tableau 2). Au bout de deux mois, la modalité à 8 mg/L d'O_2 a été perçue comme la plus oxydée et la plus astringente. Celle sans oxygène la plus acide (figure 13, tableau 3). Il est assez surprenant de constater que la modalité sans oxygène a été perçue comme la plus oxydée et la plus équilibrée à 12 semaines. Celles à 1 et 4 mg/L d'O_2 sont perçues comme plus acides (figure 13, tableau 4).

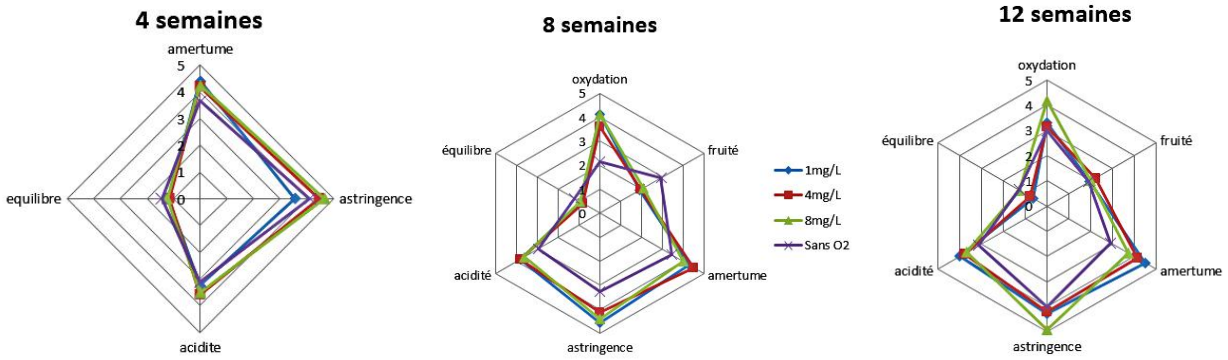


Figure 14 : Analyses sensorielles pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères.

Tableau 5 : Résultat des ANOVAs à 4 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	4,4 ± 0,39 a	3,55 ± 0,44 a	3,25 ± 0,51 a	1,2 ± 0,36 a
4 mg/L	4,20 ± 0,41 a	4,45 ± 0,29 b	3,6 ± 0,42 a	1,15 ± 0,29 a
8 mg/L	4,25 ± 0,40 a	4,65 ± 0,31 b	3,5 ± 0,44 a	1,25 ± 0,35 a
Sans O_2	3,65 ± 0,42 a	4,1 ± 0,41 ab	3,1 ± 0,43 a	1,45 ± 0,39 a

Tableau 6 : Résultat des ANOVAs à 8 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Oxydation	Fruité	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	4,11 ± 0,44 a	1,92 ± 0,35 a	4,28 ± 0,48 ab	4,5 ± 0,35 a	3,81 ± 0,43 a	0,89 ± 0,25 a
4 mg/L	3,61 ± 0,46 a	1,97 ± 0,38 a	4,53 ± 0,37 b	4,11 ± 0,36 a	3,8 ± 0,42 a	0,83 ± 0,27 a
8 mg/L	4,1 ± 0,44 a	2,11 ± 0,42 a	4 ± 0,40 ab	4,42 ± 0,34 a	3,64 ± 0,39 ab	0,94 ± 0,23 a
Sans O_2	2,17 ± 0,44 b	2,94 ± 0,45 b	3,4 ± 0,38 a	3,28 ± 0,45 b	2,97 ± 0,38 b	1,22 ± 0,27 a

Tableau 7 : Résultat des ANOVAs à 12 semaines sur les différents descripteurs pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Oxydation	Fruité	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	3,31 ± 0,55 a	1,95 ± 0,48 a	4,53 ± 0,40 a	4,26 ± 0,43 a	4 ± 047 a	0,63 ± 0,19 b
4 mg/L	3,16 ± 0,48 a	2,21 ± 0,42 a	4,16 ± 0,45 a	4,21 ± 0,38 a	3,79 ± 0,53 a	0,79 ± 0,24 ab
8 mg/L	4,16 ± 0,57 b	2 ± 0,46 a	3,74 ± 0,50 ab	4,89 ± 0,42 a	3,68 ± 0,52 a	1,26 ± 0,34 a
Sans O_2	3 ± 0,59 a	1,92 ± 0,53 a	2,93 ± 0,55 b	4 ± 0,51 a	3,14 ± 0,36 b	1,29 ± 0,30 a

Au premier mois, les analyses sensorielles de la solution anthocyanes + tannins oligomères (figure 14) montrent des résultats comparables à ceux observés dans le cadre de la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins (figure 13). Les quantités d'oxygène ajoutées ne permettent pas réellement de faire de différence sur les paramètres étudiés, sauf au niveau de l'astringence où les quantités de 4 et 8 mg/L d'oxygène augmenteraient la perception de ce critère (figure 14, tableau 5). Au deuxième mois, la modalité sans oxygène se distingue assez bien des autres modalités, puisque elle est moins amère, moins astringente, moins acide, moins oxydée et plus fruitée (figure 14, tableau 6). Les écarts se resserrent au troisième mois, puisque la modalité sans oxygène se différencie seulement par une diminution de l'amertume et de l'acidité. La modalité avec 8 mg/L est perçue plus oxydée (figure 14, tableau 7).

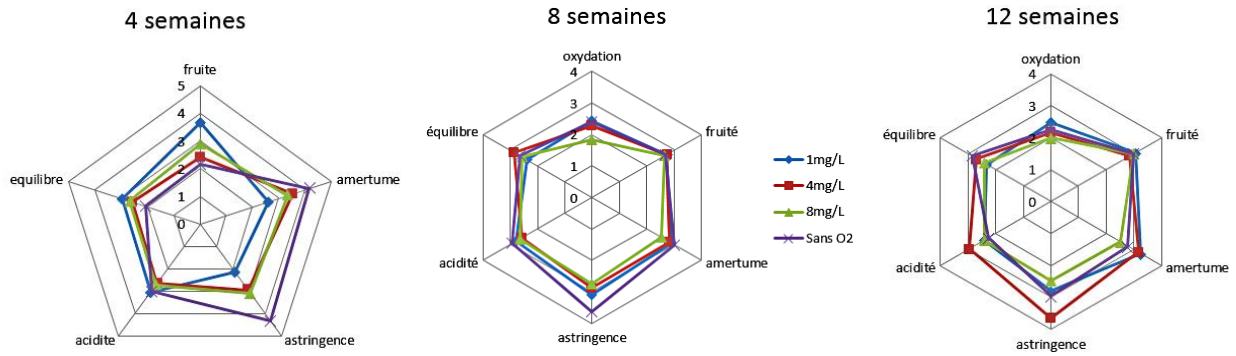


Figure 15 : Analyses sensorielles sur le vin rouge.

Tableau 8 : Résultat des ANOVAs à 4 semaines sur les différents descripteurs pour le vin rouge avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Fruité	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	3,67 ± 0,32 b	2,61 ± 0,34 a	2,17 ± 0,33 a	3,06 ± 0,28 a	2,94 ± 0,32 a
4 mg/L	2,42 ± 0,31 a	3,53 ± 0,33 ab	2,95 ± 0,32 a	2,63 ± 0,27 a	2,58 ± 0,31 a
8 mg/L	2,89 ± 0,32 ab	3,33 ± 0,34 ab	3,11 ± 0,33 a	2,72 ± 0,28 a	2,67 ± 0,32 a
Sans O_2	2,17 ± 0,32 a	4,17 ± 0,34 b	4,33 ± 0,33 b	3,00 ± 0,28 a	2,06 ± 0,32 a

Tableau 9 : Résultat des ANOVAs à 8 semaines sur les différents descripteurs pour le vin rouge avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Oxydation	Fruité	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	2,42 ± 0,23 a	2,74 ± 0,30 a	2,89 ± 0,38 a	3,11 ± 0,33 ab	2,79 ± 0,24 a	2,37 ± 0,36 a
4 mg/L	2,26 ± 0,34 a	2,74 ± 0,37 a	2,82 ± 0,46 a	2,8 ± 0,33 ab	2,56 ± 0,29 a	2,84 ± 0,40 a
8 mg/L	1,84 ± 0,31 a	2,66 ± 0,29 a	2,53 ± 0,33 a	2,74 ± 0,40 a	2,63 ± 0,33 a	2,58 ± 0,33 a
Sans O_2	2,39 ± 0,45 a	2,68 ± 0,38 a	3,03 ± 0,44 a	3,63 ± 0,41 b	2,92 ± 0,37 a	2,63 ± 0,37 a

Tableau 10 : Résultat des ANOVAs à 12 semaines sur les différents descripteurs pour le vin rouge avec des apports d'oxygène variables

Echantillon	Oxydation	Fruité	Amertume	Astringence	Acidité	Equilibre
1 mg/L	2,47 ± 0,38 a	3,05 ± 0,36 a	3,26 ± 0,47 a	2,79 ± 0,27 a	2,42 ± 0,34 a	2,32 ± 0,30 a
4 mg/L	2,16 ± 0,40 a	2,84 ± 0,42 a	3,16 ± 0,46 a	3,63 ± 0,36 b	2,95 ± à,42 a	2,68 ± 0,31 a
8 mg/L	2 ± 0,36 a	3 ± 0,32 a	2,53 ± 0,40 b	2,47 ± 0,30 a	2,42 ± 0,35 a	2,42 ± 0,31 a
Sans O_2	2,26 ± 0,41 a	3 ± 0,36 a	2,79 ± 0,48 ab	2,95 ± 0,34 a	2,26 ± 0,32 a	2,84 ± 0,28 a

Au premier mois, la modalité à 1 mg/L d'oxygène est perçue plus fruitée et moins amère, tandis que la modalité sans oxygène est plus astringente (figure 15, tableau 8). Ces données montrent que le vin rouge se comporte de façon différente par rapport aux solutions modèles, puisque dans ces dernières, les différences observées au premier mois étaient relativement faibles. Au deuxième mois, la modalité sans oxygène est plus astringente. C'est la seule différence notable qui apaprait (figure 15, tableau 9).

Au troisième mois, la modalité à 4 mg/L est perçue comme la plus astringente, tandis que celle à 8 mg/L est la moins amère (figure 15, tableau 10).

Le vin semble se comporter de façon différente que les solutions modèles. En effet, les impacts sensoriels ne sont pas les mêmes au cours du temps. Il semble donc qu'au niveau gustatif, l'impact de l'oxygène soit plus ardu à déterminer dans le vin rouge que dans les solutions modèles. Il est de toute manière évident qu'une solution modèle ne peut imiter la complexité d'un vin rouge : cette différence de comportement n'est donc pas surprenante.

VI. Quantités d'oxygène présent dans les bonbonnes

Comme cette expérience constitue des essais préliminaires, la présence d'oxygène dans les bonbonnes a été suivie chaque semaine afin d'avoir une idée sur la consommation d'oxygène, ainsi que le niveau d'étanchéité au niveau des bouchons.

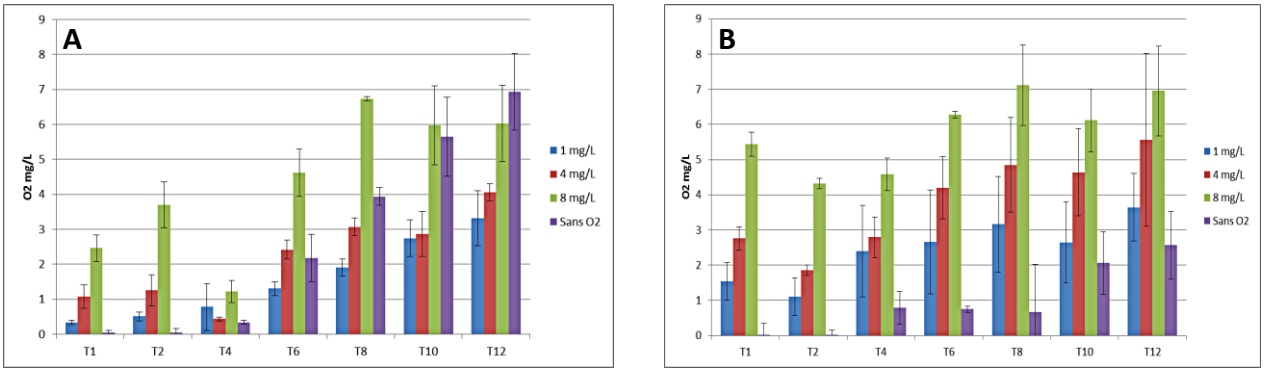


Figure 16 : Quantités d'oxygène présentes dans les bonbonnes pour différents apports d'oxygène en fonction du temps (semaines).. **A :** Anthocyanes + monomères de tannins. **B :** Anthocyanes + tannins oligomères.

Les mesures d'oxygène dans les solutions modèles indiquent des profils différents. Pour la solution avec anthocyanes + monomères de tannins, on remarque que les quantités d'oxygène augmentent graduellement au cours du temps. Cette tendance est moins marquée pour la solution avec anthocyanes + oligomères (figure 16). En réalité, ces suivis démontrent des problèmes d'étanchéité puisque, pour la solution anthocyanes + monomères (figure 16, à gauche), les modalités sans oxygène se retrouvent avec autant d'oxygène que les modalités à 4 mg/L à partir de la semaine 6. Dans la solution anthocyanes + oligomères, la situation semble meilleure, avec des modalités sans oxygène n'excédant pas les 2 mg/L d'oxygène (figure 16, à droite).

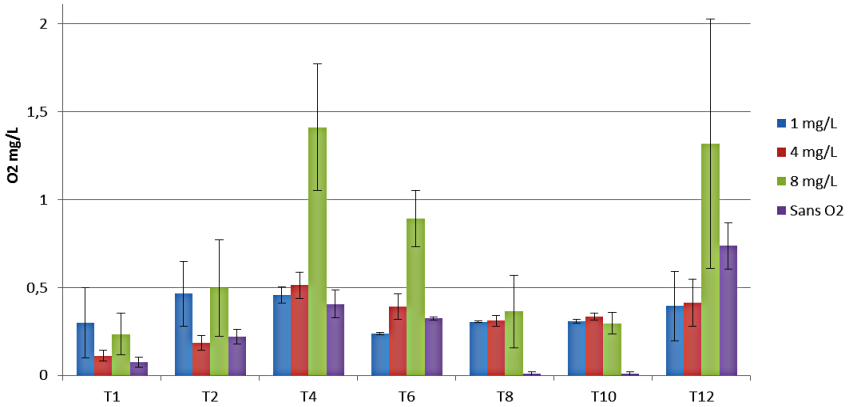


Figure 17 : Quantités d'oxygène présentes dans le vin rouge en fonction du temps (semaines). pour différents apports d'oxygène.

Dans le vin rouge, les quantités d'oxygène présentes au cours des mesures sont nettement plus faibles que pour les solutions modèles précédemment décrites. En effet, la quantité maximale d'oxygène présente au cours des trois mois n'excède pas les 1,5 mg/L, contre 7 mg/L pour les solutions modèles (figures 16 et 17). Ceci s'explique par la plus grande complexité du vin rouge ainsi que sa plus grande richesse en polyphénols, qui sont consommateurs d'oxygène. La présence de SO_2 est aussi un facteur déterminant, puisque ce dernier est capable de limiter les oxydations dues à l'oxygène lorsqu'il est présent (Danilewicz, 2007a).

Ces suivis mettent donc en évidence une lacune en matière d'étanchéité au niveau des bouchons insérés dans les bonbonnes en verre. La présence de grandes quantités d'oxygène dans la modalité « sans oxygène » de la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins montre bien ce problème. En réalité, comme nous l'avons vu sur tous les résultats des analyses précédemment décrits, la solution contenant anthocyanes + monomères de tannins est celle qui subit le moins de variations sur les paramètres chimiques étudiés, et ce particulièrement pour les phénols totaux (figure 3), l'indice DMACH (figure 5) ainsi que les DPm (figure 6). L'hypothèse serait donc que l'entrée d'oxygène soit devenue à un moment donné plus importante que la consommation, induisant de ce fait, au bout de quelques semaines, une quantité non négligeable dans les bonbonnes « sans oxygène » de cette solution modèle (figure 16). Cette hypothèse est soutenue par le fait que dans le vin, où les consommations sont connues pour être supérieures à une solution modèle du fait de sa complexité, les quantités d'oxygène présentes ne dépassent pas les 1,5 mg/L (figure 17).

VII. Améliorations apportées pour les essais suivants

Comme nous l'avons vu, plusieurs défauts sont apparus au cours de ce test préliminaire, à savoir un déficit en étanchéité entre les bouchons et les bonbonnes, ainsi qu'une quantité de fractions (tannins/anthocyanes) plus faible dans la modalité « sans oxygène » des solutions modèles. Ces défauts ont été améliorés et corrigés au cours des expérimentations suivantes.

Pour pallier au problème d'étanchéité, des valets ont été disposés sous chaque bonbonne, permettant de les coucher. C'est donc le vin qui est ainsi en contact avec le bouchon, et non pas l'espace de tête, réduisant ainsi la possibilité d'entrée d'air. De plus, les bouchons ont été enduits de graisse à vide afin d'augmenter l'étanchéité entre le bouchon en caoutchouc et le verre de la bonbonne. Ils ont aussi été enfoncés plus profondément.

La préparation des solutions, que ce soit les solutions modèles ou le vin rouge, n'est pas aisée du fait des grandes quantités de volume (presque 60 L pour chaque pH). Pour cette raison, la préparation de chaque pH se fait en deux fois. Lors de cette expérience préliminaire, les solutions sans oxygène ont été faites lors de la deuxième préparation. Il semblerait donc que les diminutions en teneurs de certains composés soient liées à cet aspect. Pour les expériences suivantes, nous avons ainsi procédé différemment : la deuxième préparation a été faite pour certains réplicats, et non pas pour une seule modalité, réduisant ainsi la possibilité que des variations observées lors des analyses découlent de la préparation elle-même et non de la teneur en oxygène.

Conclusion

Les résultats de ce plan d'expérience ont permis de mettre en évidence les différences de réactivité et d'évolution entre la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins, anthocyanes + tannins oligomères et le vin rouge Cabernet sauvignon d'IPT 68. Au niveau des paramètres colorimétriques, l'intensité colorante conduit à plus de variations dans la solution d'anthocyanes + monomères de tannins, avec une diminution au premier mois. Sur le paramètre de la teinte, qui correspond à l'évolution de la couleur vers l'orange, celle-ci était la plus forte pour la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères, avec une augmentation de 20 % en 3 mois. Pour la solution modèle avec anthocyanes + monomères de tannins, l'évolution était moins importante, pour devenir pratiquement inexistante dans le vin rouge. Ces résultats laissent supposer que les anthocyanes réagiraient davantage avec les tannins oligomères, tandis que la plus grande complexité du vin rouge ne permettrait pas de voir une évolution de la teinte en seulement trois mois.

Les analyses des teneurs en phénols totaux (Folin-Ciocalteu) montrent aussi une différence de réactivité dans les différentes solutions étudiées : la solution modèle avec anthocyanes + tannins oligomères conduit à la plus grande variation, avec une augmentation de près de 40 % au premier mois. Les quantifications des tannins moléculaires dosés par HPLC-UV montrent une grande stabilité des teneurs dans les deux types de solutions modèles. En revanche dans le vin, la diminution de la somme des tannins moléculaires avoisine les 60 % au deuxième mois. De la même façon, les analyses de DPm montraient que les variations étaient quasiment nulles dans les solutions modèles ; dans le vin en revanche, les modalités avec oxygène montraient une augmentation avoisinant les 20 % en 3 mois. Ici, ces résultats suggèrent que les tannins ont plutôt tendance à évoluer dans une matrice complexe, telle que le vin. L'indice DMACH montrait très peu de variations dans la solution modèle anthocyanes + monomères de tannins, alors que la diminution est de l'ordre de 20 % au cours du premier mois dans la solution modèle anthocyanes + tannnins oligomères, et d'environ 40 % en 3 mois dans le vin rouge. Concernant les anthocyanes moléculaires dosées par HPLC-UV, leur évolution

montre la plus grande stabilité dans le vin rouge. Par contre, dans la solution modèle avec anthocyanes + tannins oligomères, les teneurs en anthocyanes moléculaires montrent la plus forte diminution, avec près de 60 % au cours des 3 mois.

Au niveau des analyses sensorielles, les solutions modèles avec anthocyanes + monomères de tannins montrent peu de variations au niveau des descripteurs. Seule l'acidité augmente légèrement avec l'oxygène. Les solutions modèles contenant anthocyanes + tannins oligomères montrent que l'astringence est plus importante avec l'oxygène au cours des deux premiers mois. De plus, les bonbonnes sans oxygène semblent mieux notées au cours des deux premiers mois, avec moins d'oxydation, moins d'amertume et d'astringence, moins d'acidité et plus d'équilibre. Les différences disparaissent au troisième mois. En ce qui concerne le vin, la modalité sans oxygène montre plus d'amertume et plus d'astringence au premier mois. Les modalités sont davantage homogènes àà partir du deuxième mois.

Dans le cas de cette première étude préliminaire, nous pouvons voir des différences de comportement pour les matrices étudiées. On peut retenir que les tannins sont les composés qui montrent le plus de variations dans le vin, notamment sur les analyses de DPm, DMACH et tannins moléculaires. En revanche, les anthocyanes montrent des évolutions plus importantes dans la solution modèle anthocyanes + tannins oligomères, où les anthocyanes moléculaires diminuent le plus fortement, ce qui va de pair avec une augmentation de la teinte dans cette matrice. Les anthocyanes moléculaires sont en revanche beaucoup plus stables dans le vin rouge étudié. Ces résultats suggèrent ques les anthocyanes seraient bien plus réactives en présence de tannins oligomères que de monomères de tannins. De plus, il est possible que la matrice plus complexe qu'est le vin rouge conduise à retarder les réactions avec les anthocyanes moléculaires par rapport aux solutions modèles.

B. Consommations d'oxygène en solutions modèles

Un essai portant sur les différences de consommation d'oxygène par différentes fractions de tannins, d'anthocyanes, ainsi que d'ellagitannins a été réalisé. Les essais ont été faits en réacteurs de contenance 5 L à pH 3 et pH 4. Les cinétiques des teneurs en oxygène ont été suivies.

I. Caractéristiques des fractions utilisées

Les fractions utilisées sont une fraction d'anthocyanes, une de monomères de tannins, une de tannins oligomères ainsi qu'une dernière d'ellagitannins. La fraction d'anthocyanes a été extraite à partir d'un marc. Les autres fractions proviennent de la société Laffort ; la fraction de monomères de tannins est commercialisée sous l'appellation VRColor® et peut être extraite à partir de bois, de raisin ou de noix de galle. La fraction de tannins oligomères est appelée Biotan® et est extraite à partir de raisin. Quant à la fraction d'ellagitannins, elle est issue de cœur de chêne et commercialisée sous l'appellation Quertan®.

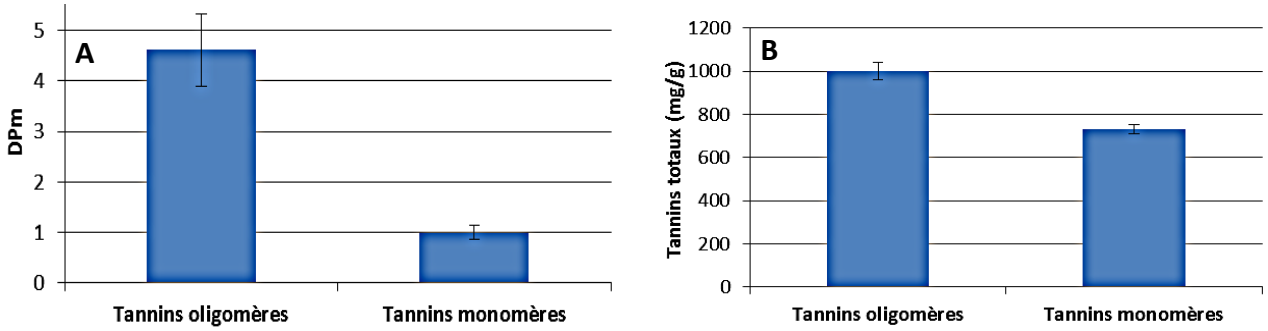


Figure 1 : Caractéristiques des deux fractions de tannins. **A :** Analyse DPm. **B :** teneurs en tannins totaux (méthode de Bate-Smith).
Les valeurs sont la miyenne de deux échantillons.

Tableau 1 : Composition de la fraction d'anthocyanes.

DPm	Prodelphinidines (%)	Tannins totaux (en mg/g)	Anthocyanes totales (mg/g)
3,7 ± 0,3	6,7 ± 0,1	822 ± 26,8	97,5 ± 0,5

Les valeurs sont la moyenne de deux échantillons.

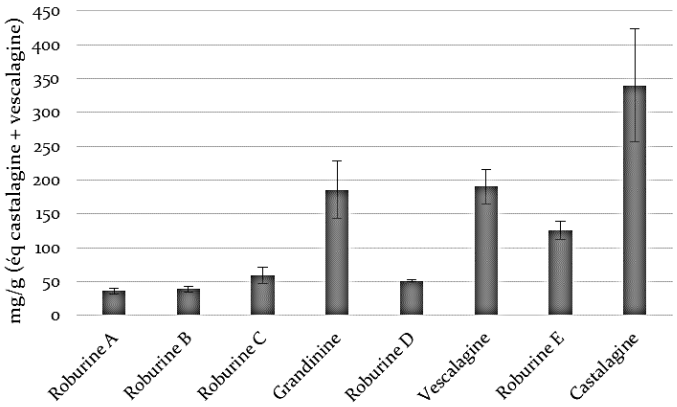


Figure 2 : Composition en ellagitannins moléculaires de la fraction ellagitannins.

Les deux fractions de tannins se distinguent de par leur composition, puisque la fraction d'oligomères a un DPm d'environ 4,6 tandis que celle de monomères a un DPm de 1 (figure 1, à gauche). De plus, la fraction d'oligomères contient 100 % de tannins totaux, tandis que celle de monomères est à plus de 70 % (figure 1, à droite). La fraction d'anthocyanes ne contient que 9,8 % d'anthocyanes. 82 % de sa composition est due aux tannins, qui ont un DPm de 3,7 (tableau 1). La fraction d'ellagitannins, quant à elle, contient en majorité de la castalagine (presque 350 mg/g), suivie par la grandinine et la vescalagine avec presque 200 mg/g (figure 2).

II. Cinétiques de consommation

Les cinétiques de consommation des différentes fractions sont présentées dans les figures 3 et 4.

Les réacteurs ont été entreposés dans une pièce où la température était comprise entre 17 et 22 °C, approximativement (figures 3 et 4). On remarque que quels que soient les pH observés, la fraction de tannins oligomères est celle qui consomme le moins l'oxygène, contrairement à la fraction contenant les monomères de tannins. Celle-ci consomme l'oxygène de façon similaire avec la fraction d'ellagitannins (figures 3 et 4). La fraction d'anthocyanes a une consommation intermédiaire. Au vu de ces deux graphes, il est clair que le pH possède une grande influence sur les cinétiques de consommation de l'oxygène. En effet, si l'on observe les courbes des ellagitannins et des monomères de tannins dans la figure 3, on peut estimer que l'oxygène dissous arriverait à 0 à environ 1 200 heures. A pH 4, les monomères de tannins ont consommé tout l'oxygène au bout de 200 heures, et les ellagitannins au bout de presque 400, soit un facteur de 6 et 3 pour les monomères de tannins et les ellagitannins, respectivement.

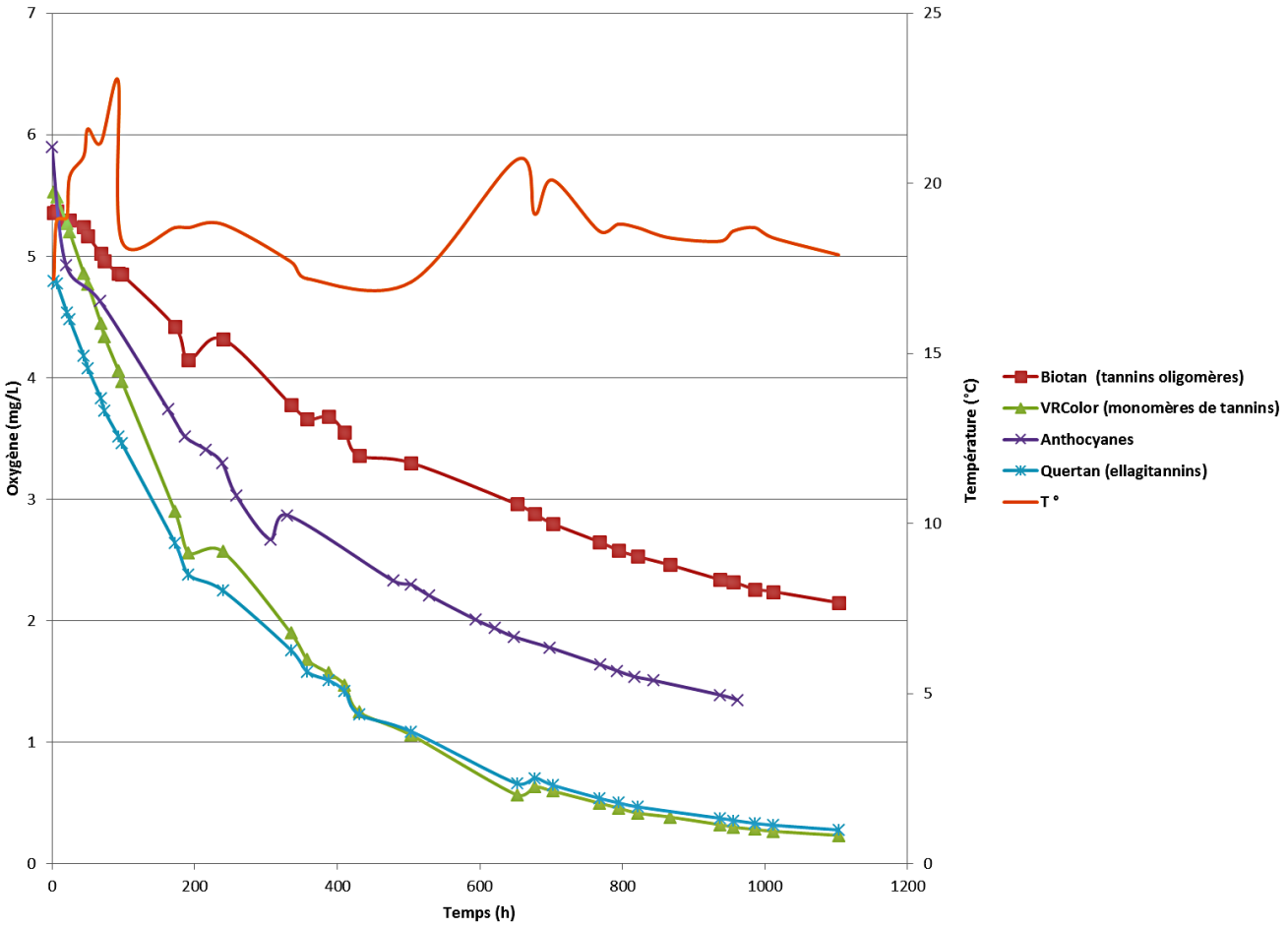


Figure 3 : Cinétiques de consommation de l'oxygène pour les différentes fractions étudiées à pH 3.

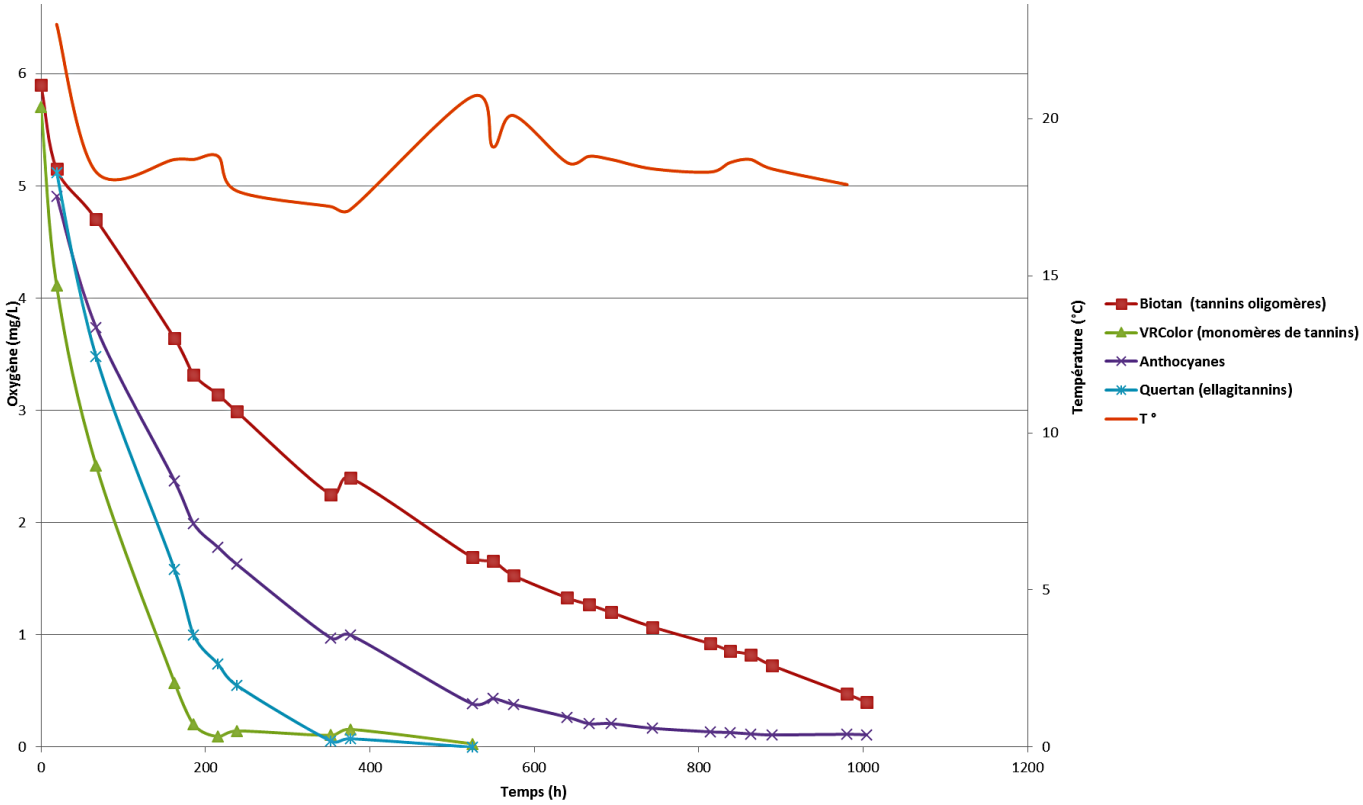


Figure 4 : Cinétiques de consommation de l'oxygène pour les différentes fractions étudiées à pH 4.

Conclusion

Nous avons vu dans cette partie les capacités de consommation de l'oxygène dissous par des fractions polyphénoliques. Il a été montré que la fraction de tannins oligomères est celle qui consomme l'oxygène le moins rapidement. La fraction contenant les anthocyanes consomme l'oxygène de façon beaucoup plus importante. Enfin, les fractions de monomères de tannins ainsi que d'ellagitannins sont les fractions qui consomment l'oxygène le plus rapidement, d'un facteur d'environ 3,5 en comparaison avec la fraction de tannins oligomères. Ceci indique que la nature des composés étudiés influe sur leur capacité à consommer l'oxygène.

De plus, nos résultats ont permis de montrer que le pH influe grandement sur les vitesses de consommation, puisque pour les ellagitannins, la vitesse de consommation est 6 fois supérieure à pH 4 qu'à pH 3. Ces résultats seraient à mettre en relation avec ceux trouvés par d'autres auteurs, où les vins à pH plus élevé possèdent des consommations d'oxygène plus importantes (Rossi and Singleton, 1966 ; Singleton, 1987).

C. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 61 (« faible ») millésime 2011

Cet essai porte sur l'évolution d'un vin rouge de Merlot en conditions de micro-oxygénation sur quatre mois. Les modalités d'oxygénation sont de 0, 2, 8 et 20 mg/L. Chaque modalité a été étudiée pour trois pH : pH 3, pH 3,5 et pH 4. Chaque semaine, les quantités consommées ont été calculées et rajoutées dans le vin, afin de maintenir les niveaux d'oxygène choisis.
Les caractéristiques de départ du vin sont indiquées dans les deux tableaux suivants.

Tableau 1 : Composition du vin de départ.

Composés phénoliques totaux	Tannins totaux	Anthocyanes totales	Anthocyanes moléculaires	DPm	Prodelphi-nidines (%)	pH
2,33 ± 0,07 g/L	3,22 ± 0,25 g/L	602,88 ± 1,24 mg/L	346,9 ± 12,0	3,06 ± 0,04	17,03 ± 0,04	3,78

Les valeurs sont la moyenne de deux échantillons.

Tableau 2 : Caractéristiques du vin de départ.

Acidité totale	Acide malique	Acide lactique	Titre alcoométrique volumique	Acidité volatile
2,85 g H_2SO_4/L	0,04 g/L	0,88 g/L	13,47 % volume	0,31 g H_2SO_4/L

Les valeurs sont la moyenne de deux mesures.

Dans ce chapitre, les résultats obtenus sont présentés pour chaque analyse et chaque pH. Pour chaque analyse, les résultats sont représentés graphiquement pour chaque pH. De plus, les tests statistiques correspondant à chaque graphique sont donnés dans des tableaux. Les tests ont été réalisés séparément en fonction des deux facteurs : Temps et Oxygène. Pour cela, le test d'ANOVA a été utilisé lorsque les données sont paramétriques (déterminé par le test de Levene), ou le test de Kruskal-Wallis lorsque les données ne le sont pas. Les groupes significativement différents sont indiqués par des lettres différentes.

I. Evolution des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux ont été suivis au cours des quatre mois par le dosage de Folin-Ciocalteu.
Au cours du temps, globalement, les teneurs en phénols totaux diminuent quels que soient les pH observés (figure 1). De même, quels que soient les pH observés, l'oxygène ne permet pas d'induire des différences, puisque toutes les modalités d'oxygénation font partie du même groupe (tableau 3). Les points de mesure qui se distinguent des autres sont le premier mois (T1) puisqu'il est isolé dans un groupe pour tous les pH, ainsi que le T4 qui est celui qui montre les teneurs les plus faibles,

d'environ 24 % de moins (tableau 3). Globalement, les teneurs en T0, T2 et T3 sont sensiblement identiques.

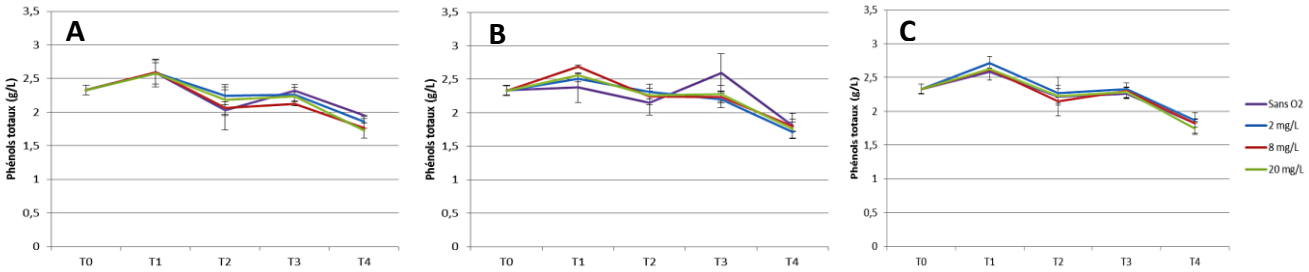


Figure 1 : Evolution des composés phénoliques totaux pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4.
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 3 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 1.

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	2,33 **b**	0,06
	T1	2,59 **d**	0,13
	T2	2,10 **a**	0,18
	T3	2,19 **ab**	0,13
	T4	1,82 **c**	0,13
O_2	0 mg/L	2,24 **a**	0,27
	2 mg/L	2,24 **a**	0,26
	8 mg/L	2,17 **a**	0,30
	20 mg/L	2,21 **a**	0,31

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	2,33 **a**	0,06
	T1	3,48 **c**	0,27
	T2	2,25 **a**	0,11
	T3	2,20 **a**	0,41
	T4	1,77 **b**	0,10
O_2	0 mg/L	2,43 **a**	0,54
	2 mg/L	2,36 **a**	0,71
	8 mg/L	2,46 **a**	0,67
	20 mg/L	2,39 **a**	0,55

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	2,33 **a**	0,06
	T1	2,65 **c**	0,09
	T2	2,22 **a**	0,13
	T3	2,27 **a**	0,11
	T4	1,81 **b**	0,08
O_2	0 mg/L	2,24 **a**	0,29
	2 mg/L	2,30 **a**	0,29
	8 mg/L	2,22 **a**	0,27
	20 mg/L	2,25 **a**	0,32

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Ces résultats concordent globalement avec ceux trouvés par Cano-López et al., 2010, où les auteurs voyaient les vins micro-oxygénés ainsi que les témoins avoir une diminution des phénols totaux mesurés à 280 nm. En revanche, dans le travail effectué par Castellari et al., en 2000, les vins micro-oxygénés voyaient leur teneur en phénols totaux diminuer avec l'oxygénation, ce qui n'est pas le cas dans notre étude.

II. Comparaison des teneurs en SO_2 et des consommations d'oxygène

Le SO_2 est utilisé pour protéger le vin contre l'oxydation. De ce fait, les cinétiques de consommation d'oxygène et de teneurs en SO_2 peuvent présenter des corrélations. Les consommations d'oxygène présentées sont les consommations cumulées, c'est-à-dire que chaque consommation du mois précédent est ajoutée à celle du mois suivant. Par exemple, si le vin consomme 10 mg/L chaque mois, les valeurs de T1 à T2 seront respectivement 10, 20, 30, 40. Le point à T4, qui correspond au $4^{ème}$ mois donne ainsi les quantités d'oxygène totales qui ont été consommées sur l'ensemble de l'expérience. Ainsi, la consommation à T4 correspond à la consommation totale que chaque modalité aura effectuée.

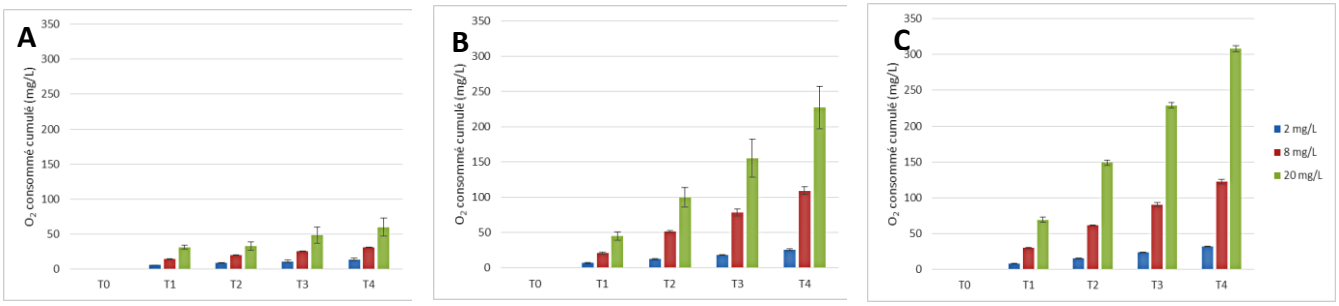


Figure 2 : Consommation cumulée d'oxygène pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 4 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 2.

O_2 cumulé (mg/L) pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	0,00 **a**	0,00
	T1	13,89 **ab**	12,28
	T2	16,74 **b**	12,72
	T3	23,08 **b**	19,31
	T4	28,42 **b**	23,64
O_2	**0 mg/L**	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	7,79 **ab**	4,99
	8 mg/L	17,97 **bc**	10,88
	20 mg/L	34,46 **c**	22,06

O_2 cumulé (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	0,00 **a**	0,00
	T1	20,06 **ab**	18,24
	T2	44,82 **b**	41,09
	T3	68,79 **b**	64,31
	T4	98,69 **b**	93,40
O_2	**0 mg/L**	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	12,66 **ab**	9,18
	8 mg/L	52,12 **bc**	40,51
	20 mg/L	105,62 **c**	84,46

O_2 cumulé (mg/L) pH 4			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	0,00 **a**	0,00
	T1	29,06 **ab**	28,19
	T2	61,71 **b**	60,75
	T3	93,47 **b**	93,39
	T4	126,02 **b**	125,90
O_2	**0 mg/L**	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	15,61 **ab**	11,54
	8 mg/L	60,81 **bc**	44,68
	20 mg/L	151,11 **c**	113,74

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les consommations d'oxygène sont proportionnelles aux quantités d'oxygène ajoutées. Pour un pH donné, plus on ajoute d'oxygène au vin rouge, et plus celui-ci est capable de le consommer, ce qui indique que les doses ajoutées sont inférieures à la capacité de consommation du vin (figure 2). L'effet oxygène est bien visible dans les tableaux statistiques, puisque les groupes homogènes sont constitués de la même manière quels que soient le pH : 0-2, 2-8, et 8-20 mg/L (tableau 4). L'effet pH est facilement observable, puisqu'à pH 3, la modalité à 20 mg/L a consommé presque 60 mg/L d'oxygène, tandis qu'elle dépasse les 300 mg/L à pH 4 (figure 2 A et C). Ces résultats concordent avec les cinétiques de consommation de l'oxygène réalisées en réacteurs (Résultats, partie B-II), ainsi que pour les résultats d'autres travaux où les qui possèdent un pH moins acide montrent des consommations plus importantes (Rossi and Singleton, 1966; Arnold et al., 1980).

Le temps ne permet pas de différencier les consommations cumulées de T1 à T4. Ceci est probablement dû aux différences de consommation pour les différentes modalités d'oxygène au sein d'un même mois.

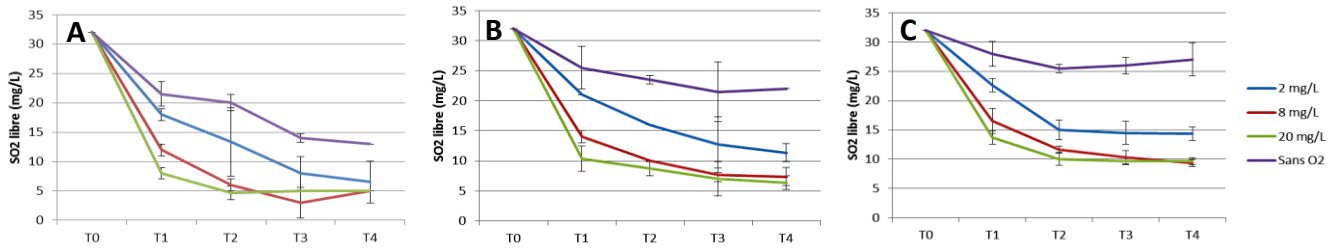


Figure 3 : Cinétiques du SO_2 libre pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 5 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 3.

SO_2 libre (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	32,00 **a**	0,00
	T1	14,09 **ab**	5,13
	T2	10,18 **b**	6,65
	T3	6,91 **b**	4,76
	T4	8,09 **b**	4,06
O_2	0 mg/L	17,33 **a**	7,50
	2 mg/L	13,92 **a**	7,90
	8 mg/L	8,46 **b**	7,92
	20 mg/L	8,69 **b**	7,49

SO_2 libre (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	32,00 **a**	0,00
	T1	16,60 **ab**	6,31
	T2	13,73 **ab**	5,73
	T3	13,09 **b**	7,41
	T4	10,82 **b**	6,00
O_2	0 mg/L	24,11 **a**	3,98
	2 mg/L	16,17 **b**	6,41
	8 mg/L	11,46 **c**	6,78
	20 mg/L	11,39 **c**	8,17

SO_2 libre (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	32,00 **a**	1,50
	T1	17,00 **b**	7,82
	T2	12,27 **b**	6,00
	T3	13,00 **b**	5,97
	T4	13,18 **b**	5,25
O_2	0 mg/L	21,75 **a**	9,81
	2 mg/L	17,69 **a**	4,99
	8 mg/L	11,77 **b**	7,61
	20 mg/L	12,36 **b**	6,17

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les teneurs en SO_2 libre diminuent au cours du temps, quels que soient les pH et les quantités d'oxygène observés (figure 3). De la même façon, lorsque les doses d'oxygène augmentent, la diminution s'accentue. Statistiquement, à pH 3 et 4, les modalités 0-2 et 8-20 mg/L d'oxygène forment deux groupes distincts (tableau 5). Pour le pH 3,5, la modalité à 2 mg/L est à part, mais la tendance reste la même.

En revanche, la diminution du SO_2 libre est plus faible lorsque le pH augmente. Par exemple, la modalité à 20 mg/L d'oxygène conduit à des valeurs respectives de 5, 7 et 10 mg/L de SO_2 libre pour les pH 3, 3,5 et 4 (figures 3 A, B et C). Dans le vin, le SO_2 libre est en équilibre sous les formes principales ions bisulfite (HSO_3^-) et SO_2 moléculaire (H_2SO_3). C'est le SO_2 moléculaire qui réagit avec le péroxyde d'hydrogène, prévenant ainsi l'oxydation du vin. Or, celui-ci est davantage présent lorsque l'acidité du vin augmente.

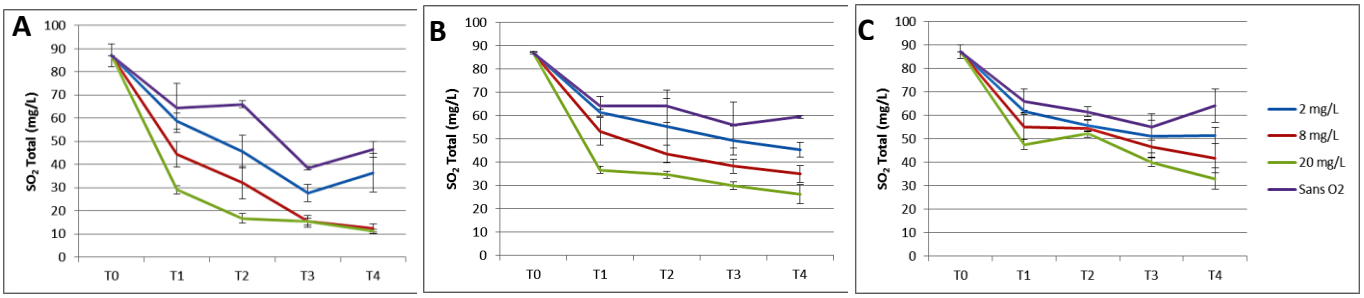


Figure 4 : Cinétiques du SO_2 total pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 6 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 4.

SO_2 total (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	87,00 **a**	0,00
	T1	47,73 **a**	14,87
	T2	37,73 **ab**	18,50
	T3	22,91 **b**	9,72
	T4	24,82 **b**	15,85
O_2	0 mg/L	57,56 **a**	16,60
	2 mg/L	45,54 **b**	17,66
	8 mg/L	30,69 **c**	21,67
	20 mg/L	23,38 **d**	20,26

SO_2 total (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	87,00 **a**	0,00
	T1	52,91 **ab**	11,61
	T2	48,09 **ab**	12,77
	T3	42,27 **b**	11,06
	T4	39,91 **b**	12,50
O_2	0 mg/L	63,78 **a**	10,39
	2 mg/L	55,46 **b**	12,59
	8 mg/L	46,00 **c**	14,55
	20 mg/L	36,15 **d**	15,93

SO_2 total (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	87,00 **a**	0,00
	T1	55,5 **ab**	7,75
	T2	55,45 **ab**	3,88
	T3	47,54 **b**	7,05
	T4	46,00 **b**	12,20
O_2	0 mg/L	64,25 **a**	10,65
	2 mg/L	57,38 **b**	10,44
	8 mg/L	52,31 **b**	12,49
	20 mg/L	46,31 **c**	14,35

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les teneurs en SO_2 total diminuent au cours du temps, quels que soient les pH (figure 4 A, B et C). Il faut attendre le troisième mois avant que les différences soient significatives (tableau 6). De même, plus les doses d'oxygène ajoutées sont importantes, et plus la diminution est forte. A pH 4, trois groupes se distinguent : 0, 2-8 et 20 mg/L d'oxygène. Pour les pH 3 et pH 3,5, chaque modalité d'oxygène est statistiquement distincte des trois autres (tableau 6).

Comme pour le SO_2 libre, les quantités en SO_2 total diminuent moins fortement lorsque le pH augmente : pour la modalité à 20 mg/L d'oxygène, la diminution en 4 mois à pH 3 est de 88 %. Elle est de 67 % à pH 3,5, et de 56 % à pH 4 (figure 4 A, B et C respectivement).

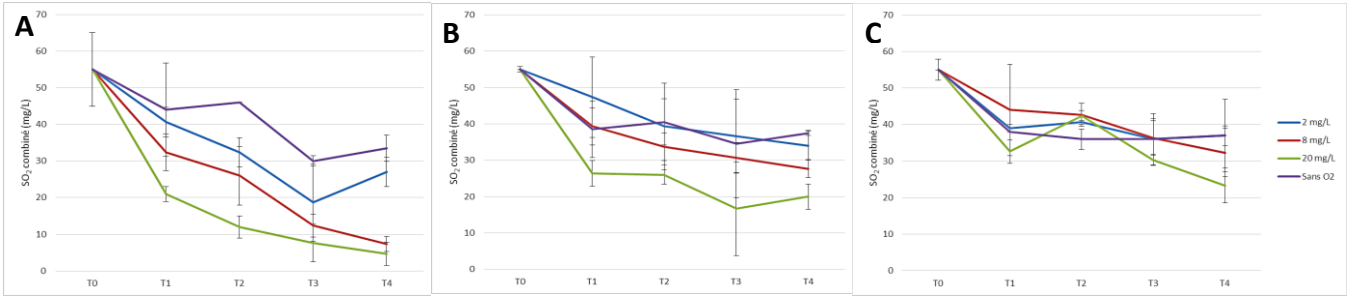


Figure 5 : Cinétiques du SO_2 combiné pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 7 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 5.

SO_2 combiné (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	55,00 **a**	0,00
	T1	33,64 **ab**	10,49
	T2	27,55 **ab**	12,89
	T3	16,00 **b**	9,78
	T4	16,73 **b**	12,86
O_2	0 mg/L	40,22 **a**	9,93
	2 mg/L	31,62 **b**	11,83
	8 mg/L	22,23 **c**	14,69
	20 mg/L	14,69 **d**	13,89

SO_2 combiné (mg/L) pH3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	55,00 **a**	0,00
	T1	36,00 **b**	7,29
	T2	34,36 **b**	8,54
	T3	29,18 **b**	12,21
	T4	29,09 **b**	7,33
O_2	0 mg/L	39,67 **a**	8,83
	2 mg/L	39,00 **a**	8,55
	8 mg/L	34,54 **a**	8,19
	20 mg/L	24,77 **b**	11,49

SO_2 combiné (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	55,00 **a**	1,50
	T1	38,45 **ab**	7,27
	T2	43,18 **b**	7,12
	T3	34,55 **a**	5,13
	T4	32,82 **a**	8,57
O_2	0 mg/L	42,00 **b**	10,99
	2 mg/L	39,69 **ab**	6,33
	8 mg/L	40,54 **ab**	9,06
	20 mg/L	33,92 **a**	9,62

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

De manière générale, la même tendance est visible sur les cinétiques de SO_2 combiné : les plus grandes doses d'oxygène présentes dans les bonbonnes induisent une plus forte diminution des teneurs en SO_2 combiné au cours du temps (figure 5A, B et C). Globalement, le T0 est séparé des autres temps. Concernant les différences au niveau des modalités d'oxygénation, plus le pH augmente et moins les différences sont grandes (figure 5A, B et C). Ceci corrobore les différences de cinétiques induites par le pH observées précédemment, pour les SO_2 libre et total. Ces résultats sont logiques, puisque comme expliqué dans la partie Synthèse bibliographique, B-I-2, lorsque le SO_2 libre est consommé, le SO_2 total a tendance à se dissocier des composés chimiques auxquels il se lie (comme l'éthanal en grande partie) pour pouvoir réagir et être consommé (Barbe, 2000 ; Danilewicz, 2007b). Il est donc normal que si le SO_2 libre diminue plus fortement avec l'acidité, le SO_2 combiné suive la même tendance (figure 5A, B et C).

Par ailleurs, si l'on compare maintenant les cinétiques de SO_2, principalement libre et combiné, avec les cinétiques de consommation de l'oxygène, un effet non négligeable du pH est mis en évidence. Premièrement, entre pH 3 et pH 4 à 20 mg/L d'oxygène, le SO_2 libre restant à T4 passe de 8,7 à 12,4 mg/L, tandis que la consommation d'oxygène totale passe de 34,5 à 151 mg/L, soit près de cinq fois plus ! De ce fait, le SO_2 semble peu effectif en matière de protection du vin contre l'oxydation lorsque le pH augmente.

III. Evolution des tannins

Les tannins subissent des modifications chimiques et des recombinaisons au cours de la vinification et l'élevage du vin. Dans notre contexte de micro-oxygénation, les tannins peuvent notamment subir des réactions de polymérisation. L'évolution des tannins a ainsi été suivie par différentes analyses.

1. Tannins totaux

Les tannins totaux sont quantifiés par la méthode d'hydrolyse en milieu acide de Bate-Smith (Ribéreau-Gayon and Stonestreet, 1966). Les résultats sont donnés figure 6.

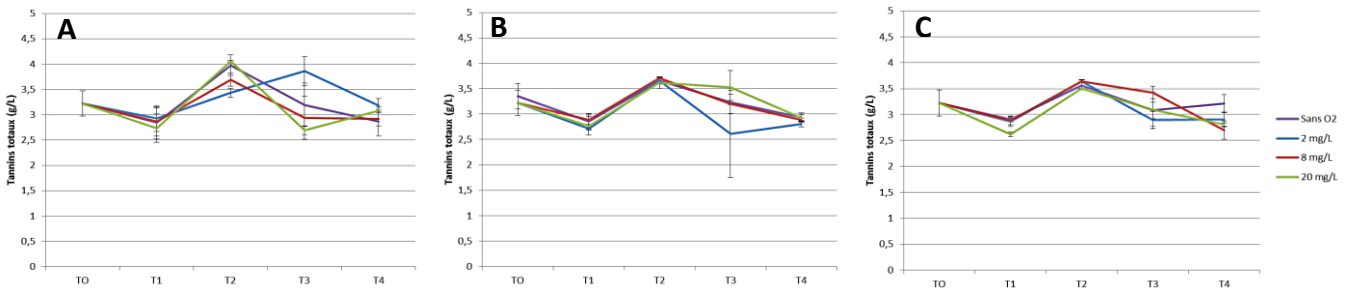


Figure 6 : Cinétiques des tannins totaux pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 8 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 6.

Tannins totaux (g/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,20 **ac**	0,21
	T1	2,83 **ab**	0,25
	T2	3,67 **c**	0,33
	T3	2,98 **ab**	0,64
	T4	3,02 **ab**	0,18
O_2	0 mg/L	3,20 **a**	0,49
	2 mg/L	3,17 **a**	0,51
	8 mg/L	3,09 **a**	0,36
	20 mg/L	3,13 **a**	0,49

Tannins totaux (g/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,20 **ab**	0,21
	T1	2,85 **b**	0,20
	T2	3,70 **a**	0,17
	T3	3,12 **ab**	0,61
	T4	2,88 **b**	0,08
O_2	0 mg/L	3,16 **a**	0,31
	2 mg/L	3,00 **a**	0,53
	8 mg/L	3,26 **a**	0,44
	20 mg/L	3,19 **a**	0,38

Tannins totaux (g/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,20 **ab**	0,21
	T1	2,89 **b**	0,23
	T2	3,62 **a**	0,10
	T3	2,97 **b**	0,49
	T4	2,98 **b**	0,37
O_2	0 mg/L	3,22 **a**	0,25
	2 mg/L	3,06 **a**	0,40
	8 mg/L	3,17 **a**	0,38
	20 mg/L	3,10 **a**	0,52

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les teneurs en tannins totaux semblent suivre des tendances identiques quels que soient les pH (figure 6A, B et C). Le T2 correspond au temps où les valeurs sont les plus hautes. Statistiquement, ce point est celui qui se distingue le plus des autres (tableau 8, facteur Tps).

Ces tendances ne varient pas en fonction des doses d'oxygène apportées, puisque pour tous les pH observés, les modalités d'oxygène sont toutes rassemblées dans le même groupe (tableau 8, facteur O_2).

2. Indice DMACH

Le DMACH (Diméthylaminocinnamaldéhyde) est un réactif réagissant spécifiquement avec les premières unités de tannins. L'indice DMACH a été suivi pour les différentes modalités. Les résultats sont présentés en figure 7, et tableau 9.

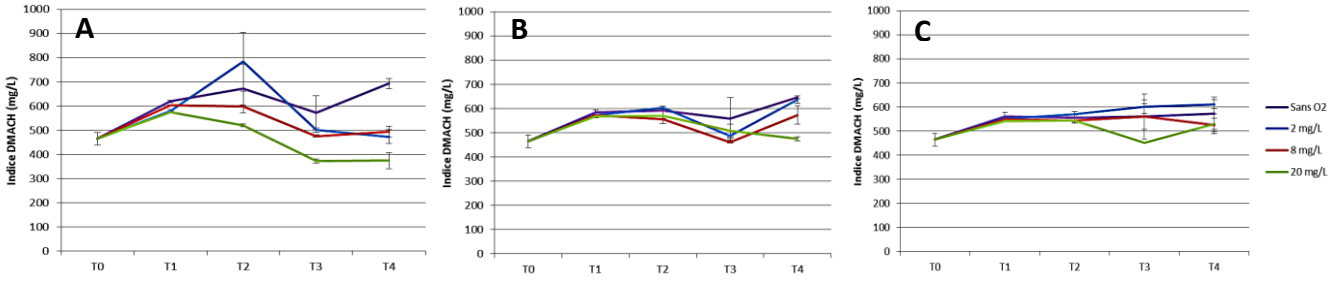


Figure 7 : Evolutions de l'indice DMACH pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 9 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 7.

DMACH (mg/L éq. catéchine) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	466,99 **a**	21,76
	T1	595,40 **b**	22,76
	T2	639,34 **b**	124,04
	T3	475,68 **a**	81,09
	T4	492,23 **a**	113,45
O_2	0 mg/L	606,81 **a**	92,25
	2 mg/L	568,72 **a**	132,14
	8 mg/L	523,00 **b**	63,03
	20 mg/L	461,46 **c**	84,22

DMACH (mg/L éq. catéchine) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	466,99 **a**	21,76
	T1	572,56 **bc**	13,16
	T2	594,92 **b**	47,58
	T3	505,33 **ac**	55,98
	T4	592,31 **b**	68,59
O_2	0 mg/L	571,28 **a**	66,35
	2 mg/L	562,58 **a**	69,74
	8 mg/L	528,52 **a**	52,53
	20 mg/L	531,59 **a**	79,05

DMACH (mg/L éq. catéchine) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	466,99 **a**	21,76
	T1	544,83 **b**	16,51
	T2	565,91 **b**	39,11
	T3	531,62 **ab**	69,12
	T4	574,50 **b**	62,92
O_2	0 mg/L	545,38 **a**	54,45
	2 mg/L	559,15 **a**	65,90
	8 mg/L	530,82 **a**	63,19
	20 mg/L	514,60 **a**	46,39

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

L'indice DMACH (diméthyl amino cinnamaldéhyde) permet de quantifier les unités terminales dans les chaînes de tannins. De ce fait, à quantité de tannins égale, une diminution dans l'indice DMACH équivaut à une plus haute polymérisation.

L'indice DMACH ne semble pas évoluer beaucoup à pH 3,5 et 4, puisque les valeurs sont relativement similaires entre T1 et T4, après une légère augmentation au premier mois (figure 7B et C). Des variations plus importantes sont visibles à pH 3, puisqu'à la fin de l'expérimentation, l'indice DMACH diminue avec des doses d'oxygène croissantes, ce qui équivaut à une plus grande polymérisation avec l'oxygène à pH acide. Le pH 3 est le seul pH pour lequel les doses d'oxygène sont réparties dans des groupes distincts, à savoir 0-2 ; 8 ; 20 mg/L (tableau 8). La diminution de l'indice DMACH se fait de manière proportionnelle aux doses d'oxygène apportées, pour atteindre une moyenne de - 24 % à 20 mg/L d'oxygène (tableau 9, effet O_2).

Ces résultats ne concordent pas réellement avec une étude menée par del Carmen Llaudy et al., en 2006. En effet, les auteurs montraient que l'indice avait diminué après 3 mois de micro-oxygénation, suivie par 8 mois de stockage en barrique. Cependant, entre le vin micro-oxygéné et le vin contrôle, les variations étaient faibles et n'étaient pas statistiquement significatives, montrant que la diminution était principalement due au temps (del Carmen Llaudy et al., 2006). Il faut aussi prendre en compte que, d'après nos résultats, seuls les vins à pH 3 montrent des variations significatives en fonction de l'oxygène.

3. Analyses de Degré de Polymérisation moyen (DPm)

Le DPm peut être connu grâce à la réaction de phloroglucinolyse. Les degrés de polymérisation moyens (DPm) ont été suivis dans les différentes modalités. Les résultats sont donnés en figure 8, et tableau 10.

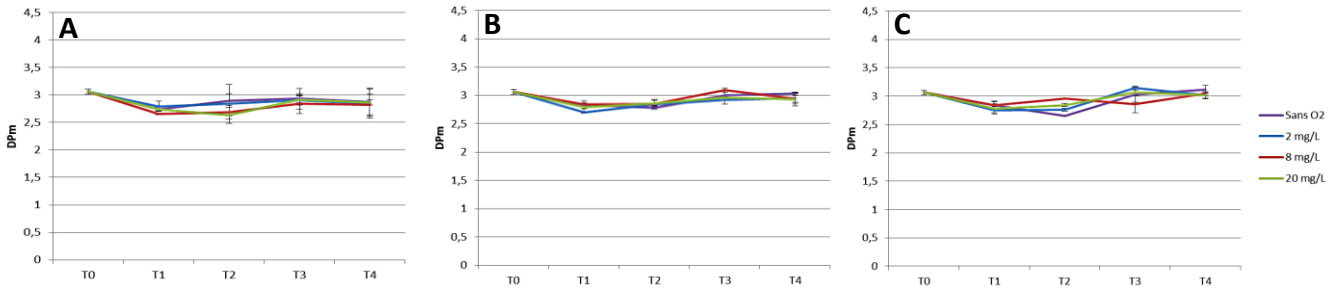


Figure 8 : Evolutions du DPm pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 10 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 8.

DPm pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,06 **a**	0,03
	T1	2,74 **b**	0,09
	T2	2,77 **b**	0,18
	T3	2,90 **ab**	0,08
	T4	2,85 **b**	0,09
O_2	0 mg/L	2,90 **a**	0,15
	2 mg/L	2,87 **a**	0,18
	8 mg/L	2,83 **a**	0,16
	20 mg/L	2,86 **a**	0,14

DPm pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,08 **a**	0,02
	T1	2,79 **b**	0,08
	T2	2,8 **bc**	0,05
	T3	2,97 **ac**	0,12
	T4	2,91 **bc**	0,16
O_2	0 mg/L	2,94 **a**	0,12
	2 mg/L	2,87 **a**	0,17
	8 mg/L	2,96 **a**	0,12
	20 mg/L	2,91 **a**	0,13

DPm pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,06 **b**	0,03
	T1	2,80 **a**	0,07
	T2	2,87 **ac**	0,14
	T3	3,01 **bc**	0,14
	T4	2,98 **bc**	0,17
O_2	0 mg/L	2,94 **a**	0,19
	2 mg/L	2,95 **a**	0,16
	8 mg/L	2,92 **a**	0,16
	20 mg/L	2,96 **a**	0,13

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les DPm ne montrent pas de réelle évolution au cours du temps quels que soient les pH observés. En quatre mois, la diminution est de 7 % à pH 3, pour seulement 2 % à pH 4 (tableau 9, effet Tps). Dans tous les cas, le T4 fait partie du même groupe que le T0 (figure 8A, B et C). De même, l'oxygène ne semble pas avoir d'impact puisque toutes les modalités d'oxygénation sont rassemblées dans le même groupe (tableau 10). Il faut cependant avoir à l'esprit que la méthode classique ne permet pas le dosage des polymérisations effectuées par ponts éthyl, comme il se produit lors d'une micro-oxygénation.

IV. Anthocyanes et indices chromatiques

Les anthocyanes sont responsables de la couleur des vins rouges. Leur devenir influe de manière importante sur les couleurs des vins rouges. Le suivi des anthocyanes pour les différentes modalités a été effectué.

1. Anthocyanes totales

Les anthocyanes totales sont dosées par décoloration au bisulfite de sodium. Les résultats sont donnés en figure 9.

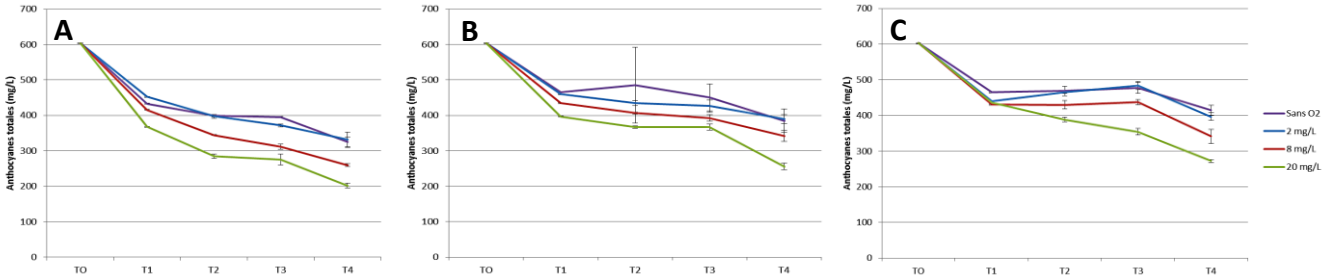


Figure 9 : Cinétiques des anthocyanes totales pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 11 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 9.

Anthocyanes totales (mg/L) pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	592,61 **a**	17,59
	T1	415,42 **ab**	34,29
	T2	341,73 **bc**	66,42
	T3	376,12 **bc**	59,87
	T4	275,51 **c**	55,70
O_2	**0 mg/L**	441,35 **a**	96,11
	2 mg/L	438,23 **a**	89,50
	8 mg/L	383,31 **b**	126,26
	20 mg/L	351,92 **c**	134,78

Anthocyanes totales (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	592,61 **a**	17,59
	T1	399,84 **bc**	117,05
	T2	426,67 **b**	53,67
	T3	454,59 **b**	44,29
	T4	339,20 **c**	58,88
O_2	**0 mg/L**	489,34 **b**	84,07
	2 mg/L	444,31 **ab**	128,16
	8 mg/L	443,15 **ab**	85,29
	20 mg/L	409,12 **a**	112,99

Anthocyanes totales (mg/L) pH 4			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	592,61 **a**	17,59
	T1	440,44 **bc**	12,83
	T2	428,57 **bc**	38,45
	T3	491,11 **ac**	63,09
	T4	356,28 **c**	53,19
O_2	**0 mg/L**	497,89 **a**	69,83
	2 mg/L	486,53 **a**	74,74
	8 mg/L	455,17 **b**	87,28
	20 mg/L	419,65 **c**	102,36

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les anthocyanes totales diminuent au cours du temps pour tous les pH. De plus, cette diminution est accentuée avec des doses d'oxygène croissantes (figure 9A, B et C). Les différences liées à l'oxygène seul sont accentuées pour les pH 3 et 4, mais moins importantes à pH 3,5 (tableau 11). Cependant, plus le pH est acide, et plus la diminution en anthocyanes totales est forte, puisque de pH 3 à pH 4, à T4, les valeurs moyennes respectives sont de 276, 339 et 356 mg/L, soit des diminutions respectives de 53, 43 et 40 % par rapport au T0 (tableau 11, facteur Tps). Ceci peut s'expliquer par le fait que les polymérisations par pont éthyl, qui s'opèrent en contexte de micro-oxygénation, sont favorisées en milieu acide.

Ces résultats n'ont rien de surprenant, puisque la diminution des teneurs en anthocyanes totales dans un vin micro-oxygéné est quelque chose déjà démontré (McCord, 2003; Perez-Magarino et al., 2007; Nevares et al., 2010).

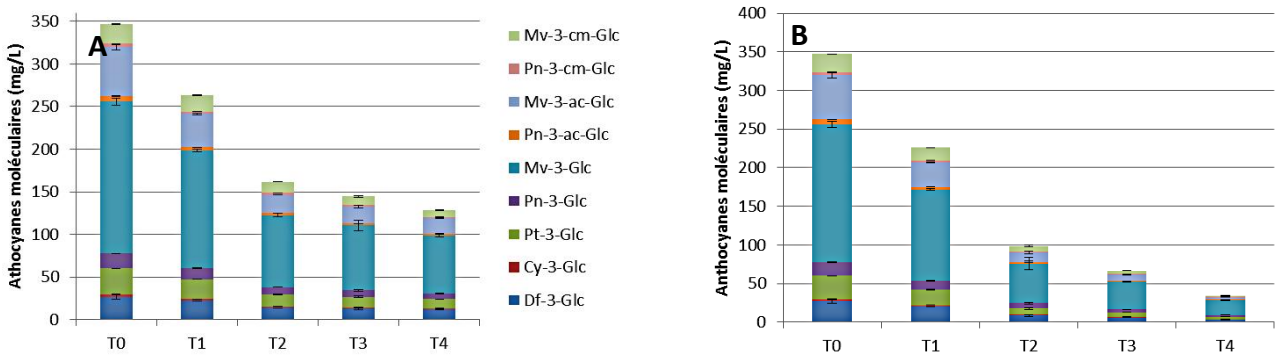


Figure 10 : Cinétiques des anthocyanes moléculaires pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : Sans oxygène ; **B :** 20 mg/L d'oxygène
Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 12 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 10.

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	344,05 **a**	8,46
	T1	240,02 **ab**	13,37
	T2	127,99 **bc**	30,40
	T3	108,18 **b**	40,51
	T4	78,70 **c**	39,23
O_2	0 mg/L	208,69 **a**	87,68
	2 mg/L	199,62 **a**	87,52
	8 mg/L	168,51 **b**	110,13
	20 mg/L	151,97 **c**	120,88

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	344,05 **a**	8,46
	T1	269,59 **ab**	18,70
	T2	132,15 **bc**	21,38
	T3	109,18 **c**	27,53
	T4	91,26 **c**	33,73
O_2	0 mg/L	212,17 **a**	94,12
	2 mg/L	204,52 **a**	95,06
	8 mg/L	185,13 **b**	105,22
	20 mg/L	162,81 **c**	117,61

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	344,05 **a**	8,46
	T1	281,45 **ab**	19,57
	T2	138,12 **bc**	24,08
	T3	122,45 **c**	23,30
	T4	107,92 **c**	27,96
O_2	0 mg/L	220,52 **a**	92,35
	2 mg/L	213,21 **a**	92,23
	8 mg/L	194,15 **b**	100,54
	20 mg/L	174,56 **c**	110,82

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Le tableau 12 donne les valeurs obtenues pour le dosage HPLC des anthocyanes moléculaires totales, par effet Temps ou Oxygène.

On peut se rendre compte que plus le pH est acide, et plus la diminution en anthocyanes moléculaires totales est importante, puisqu'à T4, de pH 3 à pH 4, les valeurs obtenues sont respectivement de 79, 91 et 108 mg/L (tableau 12). Dans tous les cas, les modalités d'oxygène sont séparées excepté pour 0 et 2 mg/L qui appartiennent au même groupe (tableau 12). La figure 10 donne un exemple illustratif de cinétique à pH 3 entre 0 et 20 mg/L d'oxygène : à la fin de l'expérimentation, la concentration en anthocyanes moléculaires totales restantes à T4 est d'environ 30 mg/L pour la modalité à 20 mg/L d'oxygène, tandis qu'elle est de 125 mg/L (soit près de 6 fois plus) pour la modalité sans oxygène. Ces résultats sont en accord avec de très nombreux autres travaux effectués auparavant (Castellari et al., 2000; Atanasova et al., 2002; Cano-López et al., 2007; Sartini et al., 2007; Cano-López et al., 2008). Il existe cependant un minorité de travaux dans lesquels les anthocyanes moléculaires sont présentes en quantités plus importantes dans un vin micro-oxygéné (Anli and Cavuldak, 2012) : c'est par exemple le cas pour del Carmen Llaudy et al., 2006, ce qui pourrait paraître anormal.

Ces résultats indiquent que l'oxygène a davantage d'impact sur l'évolution des anthocyanes à pH acide. Ceci est probablement dû à des réactions de polymérisation favorisées en milieu acide.

De ce fait, des analyses permettant de connaître les proportions d'anthocyanes libres, ou liées à des tannins dont la taille est comprise entre le monomère et le trimère (appelés ici oligomères), ou bien encore liées à des tannins dont la taille est supérieure au tétramère (appelés ici polymères) ont été réalisées (Harbertson et al., 2003).

2. Anthocyanes polymérisées

Des analyses, qui combinent la décoloration au bisulfite de sodium et la centrifugation avec de la BSA, permettent de connaître les pourcentages d'anthocyanes libres, anthocyanes combinées à des tannins oligomères ainsi que anthocyanes combinées à des tannins polymères. Les résultats sont donnés dans la figure 11 ainsi que le tableau 13 pour les tests statistiques correspondants.

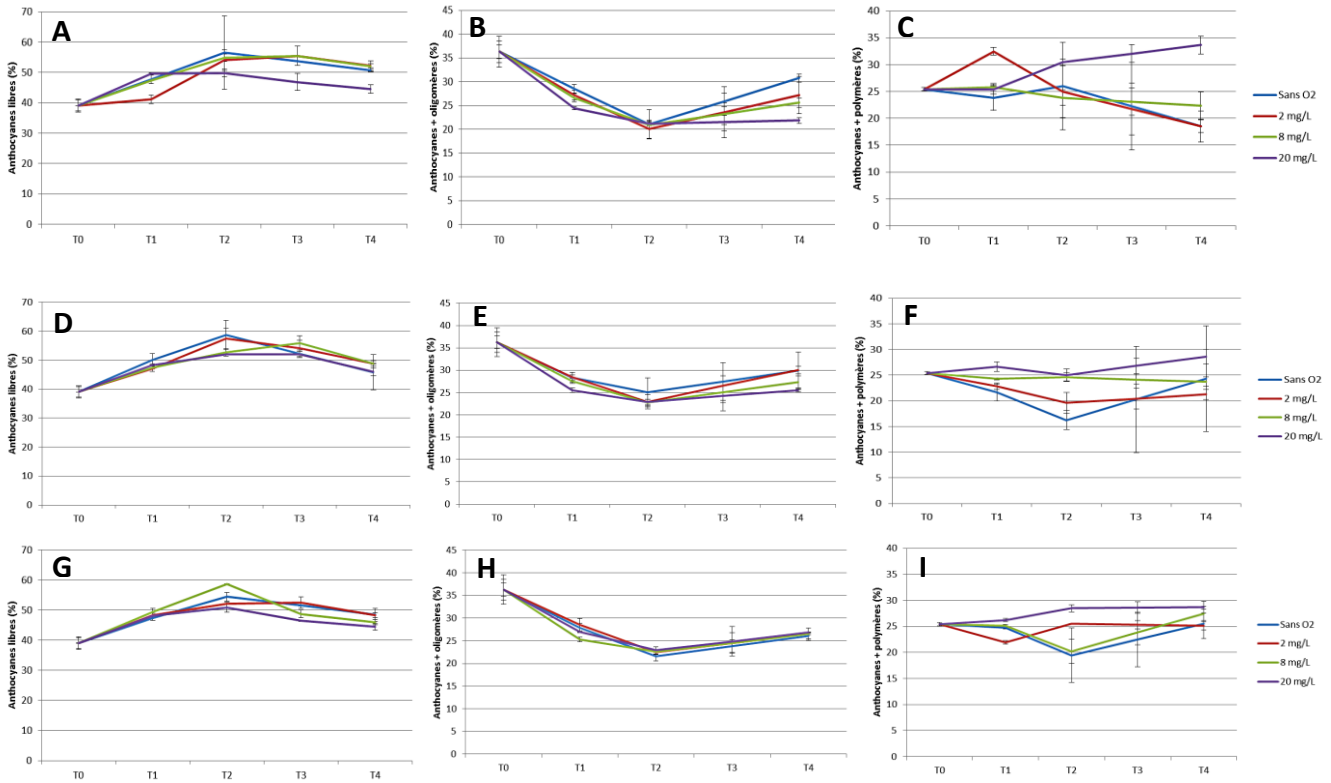


Figure 11 : Cinétiques des anthocyanes polymérisées pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3, % d'anthocyanes libres ; **B** : pH 3, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **C** : pH 3, anthocyanes + tannins polymères ; **D** : pH 3,5, % d'anthocyanes libres ; **E** : pH 3,5, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **F** : pH 3,5, anthocyanes + tannins polymères ; **G** : pH 4, % d'anthocyanes libres ; **H** : pH 4, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **I** : pH 4, anthocyanes + tannins polymères ;
Chaque valeur est la moyenne de 3 échantillons, 2 pour le sans oxygène.

Tableau 13 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 11.

Anthocyanes libres (%) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	39,90 **c**	1,42
	T1	45,88 **bc**	3,42
	T2	54,28 **a**	5,80
	T3	53,31 **a**	3,80
	T4	48,89 **ab**	4,16
O_2	0 mg/L	48,83 **a**	5,89
	2 mg/L	48,89 **ab**	8,87
	8 mg/L	49,99 **ab**	6,32
	20 mg/L	46,23 **b**	3,95

Anthocyanes + oligomères (%) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	35,318 **a**	1,90
	T1	26,65 **ab**	1,51
	T2	20,81 **c**	1,41
	T3	23,41 **bc**	3,26
	T4	25,93 **bc**	3,69
O_2	0 mg/L	28,52 **a**	5,64
	2 mg/L	26,70 **ab**	5,68
	8 mg/L	26,27 **ab**	5,22
	20 mg/L	24,90 **b**	5,62

Anthocyanes + polymères (%) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	24,92 **a**	0,84
	T1	27,47 **a**	3,32
	T2	24,91 **a**	5,56
	T3	20,00 **a**	5,42
	T4	25,17 **a**	7,34
O_2	0 mg/L	23,14 **a**	4,12
	2 mg/L	24,70 **ab**	6,29
	8 mg/L	24,10 **a**	2,45
	20 mg/L	29,25 **b**	3,94

Anthocyanes libres (%) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	39,90 **a**	1,42
	T1	48,27 **c**	1,47
	T2	54,92 **b**	3,76
	T3	51,92 **b**	3,51
	T4	47,49 **c**	2,57
O_2	0 mg/L	48,91 **a**	7,33
	2 mg/L	49,05 **a**	6,39
	8 mg/L	48,50 **a**	5,34
	20 mg/L	47,66 **a**	4,70

Anthocyanes + oligomères (%) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	35,32 **a**	1,90
	T1	27,14 **bc**	1,60
	T2	23,26 **b**	1,59
	T3	25,36 **bc**	2,91
	T4	28,03 **ac**	2,51
O_2	0 mg/L	29,22 **a**	4,65
	2 mg/L	28,48 **ab**	4,64
	8 mg/L	27,52 **ab**	4,52
	20 mg/L	26,53 **b**	4,77

Anthocyanes + polymères (%) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	24,92 **a**	0,84
	T1	24,60 **a**	2,30
	T2	21,82 **a**	3,82
	T3	23,00 **a**	3,85
	T4	24,48 **a**	4,45
O_2	0 mg/L	21,52 **a**	5,02
	2 mg/L	21,85 **a**	2,49
	8 mg/L	24,53 **ab**	1,65
	20 mg/L	26,41 **b**	2,03

Anthocyanes libres (%) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	39,90 **a**	1,42
	T1	48,29 **bc**	1,13
	T2	53,52 **b**	4,82
	T3	49,66 **bd**	2,74
	T4	46,67 **acd**	2,03
O_2	0 mg/L	49,08 **a**	7,14
	2 mg/L	48,31 **a**	4,70
	8 mg/L	47,88 **a**	5,63
	20 mg/L	45,65 **b**	3,59

Anthocyanes + oligomères (%) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	35,32 **a**	1,90
	T1	26,55 **b**	1,66
	T2	22,22 **c**	1,08
	T3	24,82 **bc**	2,52
	T4	26,54 **b**	0,69
O_2	0 mg/L	27,16 **a**	5,41
	2 mg/L	27,21 **a**	4,75
	8 mg/L	26,70 **a**	4,94
	20 mg/L	27,30 **a**	4,54

Anthocyanes + polymères (%) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	24,92 **a**	0,84
	T1	25,16 **a**	1,99
	T2	24,27 **a**	4,13
	T3	25,27 **a**	3,74
	T4	26,80 **a**	2,01
O_2	0 mg/L	23,41 **a**	3,49
	2 mg/L	24,99 **ab**	1,99
	8 mg/L	24,96 **ab**	2,80
	20 mg/L	27,15 **b**	2,24

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Un résultat intéressant est la diminution de la teneur en anthocyanes + tannins oligomères en fonction des concentrations en oxygène de T2 à T4 (figure 11, B, E, H). Si l'on compare les moyennes de ces valeurs en fonction de la dose d'oxygène (tableau 13), on s'aperçoit que les différences diminuent à mesure que le pH augmente. A pH 3, de 0 à 20 mg/L d'oxygène, les moyennes d'anthocyanes + tannins oligomères passent de 28,5 à 24,9 %. A pH 3,5, de 29,2 à 26,5 et de 27,2 à 27,3 pour le pH 4 (tableau 13). A pH 4, de plus, toutes les modalités oxygène sont dans le même groupe, alors qu'elles sont différenciées pour les autres pH.

Les anthocyanes liées aux tannins polymères montrent une augmentation significative à pH 3 pour la modalité à 20 mg/L d'oxygène (figure 11 C). De plus, les tests statistiques montrent que la modalité à 20 mg/L est significativement différente des autres modalités car étant dans un groupe à part (son regroupement avec la modalité à 2 mg/L provient certainement de la haute valeur observée à T1, peut-être due à un artefact expérimental ou une erreur de mesure) (tableau 13). De manière générale, si l'on observe les moyennes dans le tableau 13 pour les anthocyanes + tannins polymères à pH 3,5 et 4, on remarque une corrélation entre l'augmentation de cette moyenne et les doses d'oxygène. Les

groupes liés à l'oxygène se séparent lorsque les doses augmentent (tableau 13). Les résultats sur les anthocyanes + polymères sont relativement en accord avec d'autres travaux, où il a été rapporté que les pigments polymérisés augmentent dans les vins micro-oxygénés (Castellari et al., 2000; McCord, 2003; del Carmen Llaudy et al., 2006; du Toit et al., 2006; Perez-Magarino et al., 2007; Kovacevic Ganic et al., 2008; Anli and Cavuldak, 2012).

Les anthocyanes jouent un rôle dans l'évolution des paramètres chromatiques des vins rouges. Les indices colorimétriques ont donc été suivis afin de déterminer les impacts de l'apport d'oxygène sur la couleur au cours des quatre mois d'expérimentation.

3. Intensité colorante et teinte

Les intensités colorantes permettent de connaître les intensités de couleur des vins, tandis que la teinte est l'évolution vers l'orange. Les résultats sont donnés figure 12 et tableau 14 pour l'intensité colorante, et figure 13 tableau 15 pour la teinte.

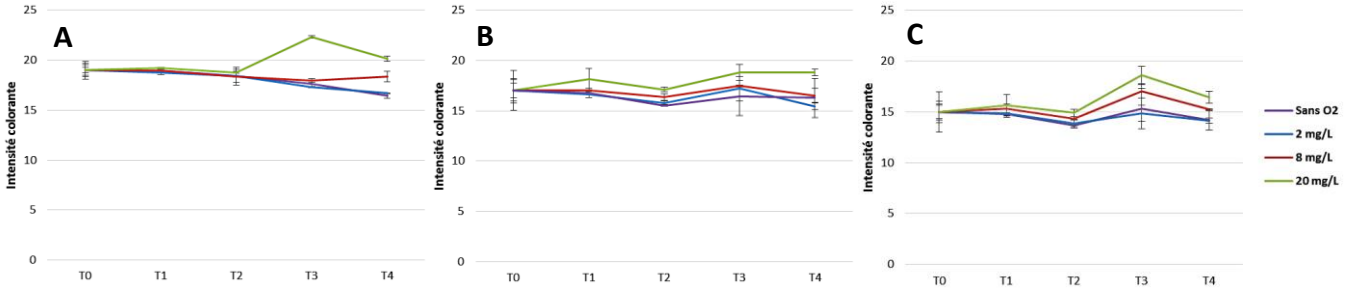


Figure 12 : Evolutions de l'intensité colorante pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 14 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 12.

IC ' pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	19,0 **a**	0,9
	T1	19,0 **a**	0,2
	T2	18,5 **a**	0,4
	T3	19,0 **a**	2,1
	T4	18,5 **a**	1,9
O_2	0 mg/L	18,1 **a**	1,2
	2 mg/L	18,4 **a**	1,3
	8 mg/L	18,6 **a**	0,6
	20 mg/L	19,8 **b**	1,3

IC ' pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	17,0 **ab**	0,9
	T1	17,2 **ab**	0,8
	T2	16,2 **a**	0,7
	T3	17,9 **b**	1,5
	T4	16,8 **ab**	1,5
O_2	0 mg/L	16,9 **ab**	1,8
	2 mg/L	16,4 **a**	1,0
	8 mg/L	16,8 **ab**	0,6
	20 mg/L	18,0 **b**	1,0

IC ' pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	15,0 **ab**	0,9
	T1	15,2 **ab**	0,7
	T2	14,2 **a**	0,6
	T3	16,6 **b**	1,7
	T4	15,1 **ab**	1,1
O_2	0 mg/L	14,6 **a**	0,9
	2 mg/L	14,6 **a**	0,7
	8 mg/L	15,4 **ab**	1,0
	20 mg/L	16,1 **b**	1,6

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

D'après la figure 12 A, B, C, on peut observer que les intensités colorantes commencent à se différencier à partir du T2. Plus les doses d'oxygène augmentent, et plus les intensités colorantes

augmentent. A pH 3, les valeurs moyennes des intensités colorantes entre la modalité sans oxygène et celle à 20 mg/L augmentent de 9 %, et de 10 % à pH 4 (tableau 14, facteur O_2). Cette observation est similaire à d'autres précédentes, où les vins micro-oxygénés montraient des teneurs plus élevées en intensité colorante (Castellari et al., 2000; McCord, 2003; del Carmen Llaudy et al., 2006; du Toit et al., 2006; Perez-Magarino et al., 2007; Kovacevic Ganic et al., 2008).

Le pH influence les niveaux d'intensité colorante, avec des valeurs qui diminuent d'environ 0,2 lorsque le pH augmente de 0,5 à T0 (figure 12 A, B, C). Ceci peut s'expliquer par le fait que les anthocyanes ont une plus grande proportion de cations flavylium à pH plus acide, et de bases quinoniques et formes chalcones à pH plus basique.

L'évolution de la teinte a aussi été suivie, puisque l'oxygène peut amener à la formation de nouveaux pigments, telles que les pyranoanthocyanes dont la couleur se rapproche de l'orange.

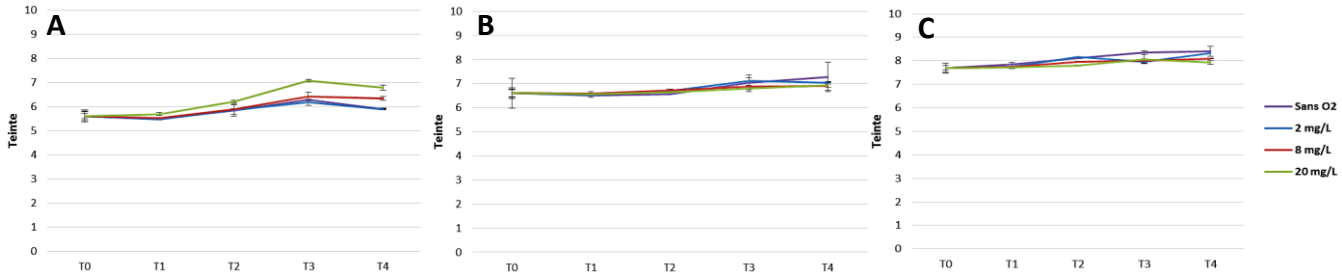


Figure 13 : Evolutions de la teinte pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 15 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 13.

Teinte pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	5,5 **a**	0,4
	T1	5,5 **a**	0,1
	T2	6,0 **ab**	0,2
	T3	6,5 **b**	0,4
	T4	6,3 **b**	0,4
O_2	0 mg/L	6,0 a	0,4
	2 mg/L	5,9 **a**	0,5
	8 mg/L	5,9 **a**	0,4
	20 mg/L	6,4 **b**	0,7

Teinte pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	6,5 **a**	0,4
	T1	6,5 **a**	0,1
	T2	6,7 **ab**	0,1
	T3	7,0 **bc**	0,2
	T4	7,0 **c**	0,3
O_2	0 mg/L	6,8 **a**	0,5
	2 mg/L	6,8 **a**	0,3
	8 mg/L	6,7 a	0,3
	20 mg/L	6,7 a	0,3

Teinte pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	8,0 **ab**	0,9
	T1	7,8 **a**	0,1
	T2	8,0 **ab**	0,2
	T3	8,1 **b**	0,2
	T4	8,2 **b**	0,2
O_2	0 mg/L	8,1 **a**	0,5
	2 mg/L	8,0 **a**	0,4
	8 mg/L	8,0 **a**	0,4
	20 mg/L	7,9 **a**	0,4

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Seul le pH 3 permet à l'oxygène d'avoir un impact différencié sur la teinte, puisque toutes les modalités d'oxygénation sont rassemblées dans le même groupe à pH 3,5 et 4 (tableau 15). A pH 3, la modalité 20 mg/L montre une accentuation de la teinte de 7 % (figure 13 A). Dans tous les cas, la teinte augmente régulièrement au cours du temps (figure 13 A, B, C). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par del Carmen Llaudy et al., en 2006, puisque dans ces travaux, l'augmentation de la teinte liée au temps était beaucoup plus importante que l'augmentation liée aux doses d'oxygène de la micro-oxygénation. Dans notre cas, l'oxygène n'a d'impact que pour les vins à pH 3.

Les mesures dans le système CIELab ont aussi été effectuées. Les coordonnées des axes L (Luminosité), a (rouge) et b (jaune) sont mesurées, ce qui permet de comparer les évolutions de chaque axe au cours du temps.

4. Paramètres CIELab

Les paramètres CIELab permettent d'analyser la couleur sous trois composantes : la luminosité (L), le rouge (a) et le jaune (b). Les résultats sont donnés dans la figure 14.

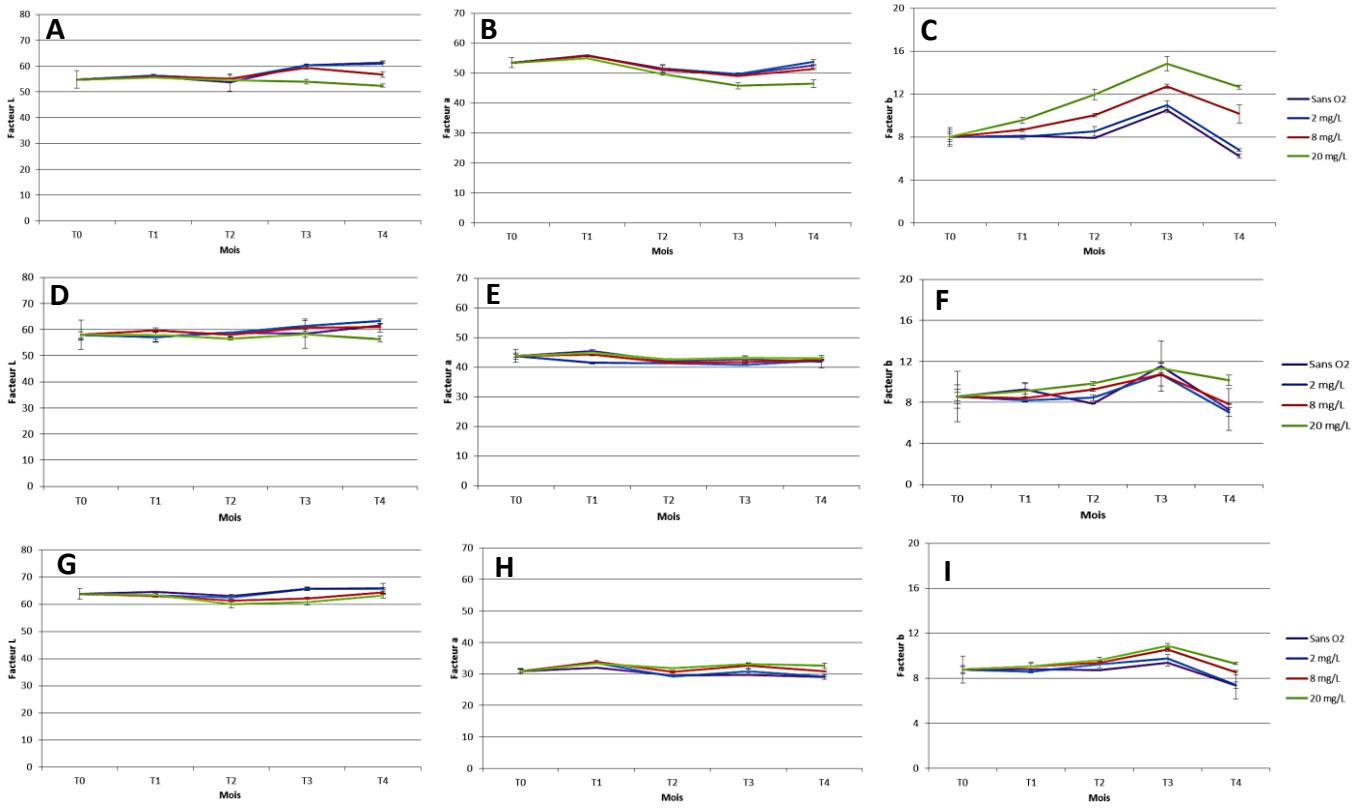


Figure 14 : Evolution des trois composantes L, a et b dans le système CIELab pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : L à pH 3 ; **B** : a à pH 3 ; **C** : b à pH 3 ; **D** : L à pH 3,5 ; **E** : a à pH 3,5 ; **F** : b à pH 3,5 ; **G** : L à pH 4 ; **H** : a à pH 4 ; **I** : b à pH 4

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 16 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 14

L pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	55,00 **ab**	1,79
	T1	55,97 **ab**	0,40
	T2	54,63 **a**	1,38
	T3	58,31 **b**	2,85
	T4	56,85 **ab**	3,89
O_2	**0 mg/L**	57,27 **a**	3,52
	2 mg/L	56,96 **a**	2,93
	8 mg/L	56,43 **ab**	1,86
	20 mg/L	54,32 **b**	1,42

a pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	53,50 **ac**	0,45
	T1	55,62 **a**	0,43
	T2	50,92 **bc**	1,10
	T3	48,40 **b**	1,81
	T4	50,65 **bc**	2,91
O_2	**0 mg/L**	52,54 **a**	2,42
	2 mg/L	52,64 **a**	2,30
	8 mg/L	52,24 **a**	2,34
	20 mg/L	50,09 **a**	3,87

b pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	8,02 **a**	0,39
	T1	8,69 **ab**	0,81
	T2	10,30 **bcd**	1,50
	T3	12,41 **cd**	1,82
	T4	9,75 **ad**	2,81
O_2	**0 mg/L**	8,50 **a**	1,72
	2 mg/L	9,02 **ab**	1,84
	8 mg/L	9,92 **b**	1,72
	20 mg/L	11,45 **c**	2,47

L pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	58 **a**	0,89
	T1	58,15 **a**	1,81
	T2	58 **a**	1,03
	T3	59,78 **a**	2,54
	T4	60,49 **a**	2,99
O_2	0 mg/L	58,80 **ab**	2,71
	2 mg/L	59,71 **a**	2,62
	8 mg/L	59,50 **a**	1,55
	20 mg/L	57,46 **b**	1,32

a pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	43,70 **ab**	0,27
	T1	46,78 **b**	4,61
	T2	41,86 **c**	0,59
	T3	42,01 **c**	1,08
	T4	42,43 **ac**	0,80
O_2	0 mg/L	43,14 **a**	1,63
	2 mg/L	44,03 **a**	5,00
	8 mg/L	42,72 **a**	1,16
	20 mg/L	43,46 **a**	0,91

b pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	8,60 **a**	0,18
	T1	8,70 **a**	0,63
	T2	8,94 **a**	0,76
	T3	11,05 **b**	1,02
	T4	8,24 **a**	1,49
O_2	0 mg/L	8,92 **a**	1,88
	2 mg/L	8,61 **a**	1,33
	8 mg/L	9,02 **a**	1,00
	20 mg/L	9,81 **b**	1,05

L pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	63,8 **a**	0,18
	T1	63,47 **ab**	0,68
	T2	61,65 **b**	1,47
	T3	63,40 **ab**	2,35
	T4	64,68 **a**	1,39
O_2	0 mg/L	64,60 **a**	1,32
	2 mg/L	64,23 **a**	1,42
	8 mg/L	62,92 **b**	1,15
	20 mg/L	62,24 **b**	1,77

a pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	30,8 **bc**	0,18
	T1	33,28 **a**	0,73
	T2	30,39 **bc**	1,08
	T3	31,80 **abc**	1,50
	T4	30,56 **c**	1,53
O_2	0 mg/L	30,24 **a**	1,16
	2 mg/L	30,75 **b**	1,66
	8 mg/L	31,77 **c**	1,38
	20 mg/L	32,33 **d**	1,01

b pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	8,8 **bc**	0,18
	T1	8,88 **bc**	0,30
	T2	9,28 **ab**	0,37
	T3	10,21 **a**	0,64
	T4	8,21 **c**	0,95
O_2	0 mg/L	8,61 **a**	0,83
	2 mg/L	8,75 **a**	0,85
	8 mg/L	9,26 **b**	0,75
	20 mg/L	9,52 **b**	0,77

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les paramètres CIELab nous montrent que la luminosité augmente lorsque le pH augmente. En effet, si l'on observe la figure 14 A, D, G, ainsi que les moyennes des facteurs temps tableau 16, la luminosité est en moyenne à 55 à pH 3, pour environ 63 à pH 4. Ceci montre que lorsque le pH augmente, le vin s'éclaircit et perd en intensité colorante. D'ailleurs, les intensités colorantes figure 12 montrent bien que celles-ci diminuent en fonction du pH. Inversement, le facteur a, qui correspond à la composante de la couleur rouge dans le système CIELab, diminue avec le pH. De pH 3 à pH 4, les valeurs respectives sont d'environ 50, 40 et 30 (figure 14, B, E, F et tableau 16). Ceci s'explique par le fait que la présence des anthocyanes sous la forme cation flavylium est favorisée avec l'acidité.

L'oxygène a très peu d'influence sur les paramètres L et a (figure 14, A, B, D, E, G, H). L'influence la plus grande semble être pour le pH 3, où à T4, la composante L passe de 61 à 52 entre 0 et 20 mg/L d'oxygène, et la composante a de 55 à 48 entre 0 et 20 mg/L d'oxygène (figure 14, A, B). Cependant, les tests statistiques conduisent à une interprétation plus complexe, puisque par exemple pour la composante a, seul le pH 4 montre 4 groupes différents pour les modalités d'oxygène, malgré la forte proximité des valeurs (tableau 16).

L'oxygène a en revanche des effets très nets sur l'augmentation de la composante b (jaune), puisqu'à pH 3, les valeurs passent de 6 à 13 à T4 entre 0 et 20 mg/L d'oxygène (figure 14, C). Statistiquement, les groupes se différencient avec un accroissement d'oxygène (tableau 15). Les différences sont ensuite moins marquées à mesure que le pH augmente (figure 14, F, I). Statistiquement, les différences liées à l'oxygène ne permettent plus de faire que deux groupes pour les pH 3,5 et pH 4, au lieu des 3 groupes à pH 3 (tableau 16, facteur O_2). Ces résultats concordent avec les travaux de del Carmen Llaudy et al., 2006, où la composante b était plus importante dans le vin micro-oxygéné (même si l'augmentation de la valeur b au cours du temps était beaucoup plus importante et plus

marquée que dans le cadre de notre expérience). Des résultats similaires, où la composante b augmente avec la micro-oxygénation, ont également pu être rapportés par d'autres auteurs (Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011c).

V. Identification et quantification de pyranomalvidine-procyanidine dimères

Afin de déterminer si d'éventuels composés néo-formés, issus des pigments étudiés, étaient présents dans nos échantillons, un gradient linéaire (eau-acétonitrile) en HPLC-UV a été créé. Ce gradient va de 0 à 100 % de B en 80 minutes, afin d'avoir une bonne séparation des composés même minoritaires. La figure 15 montre une portion de chromatogramme d'intérêt entre les modalités d'oxygène à pH 3 et celles à pH 4.

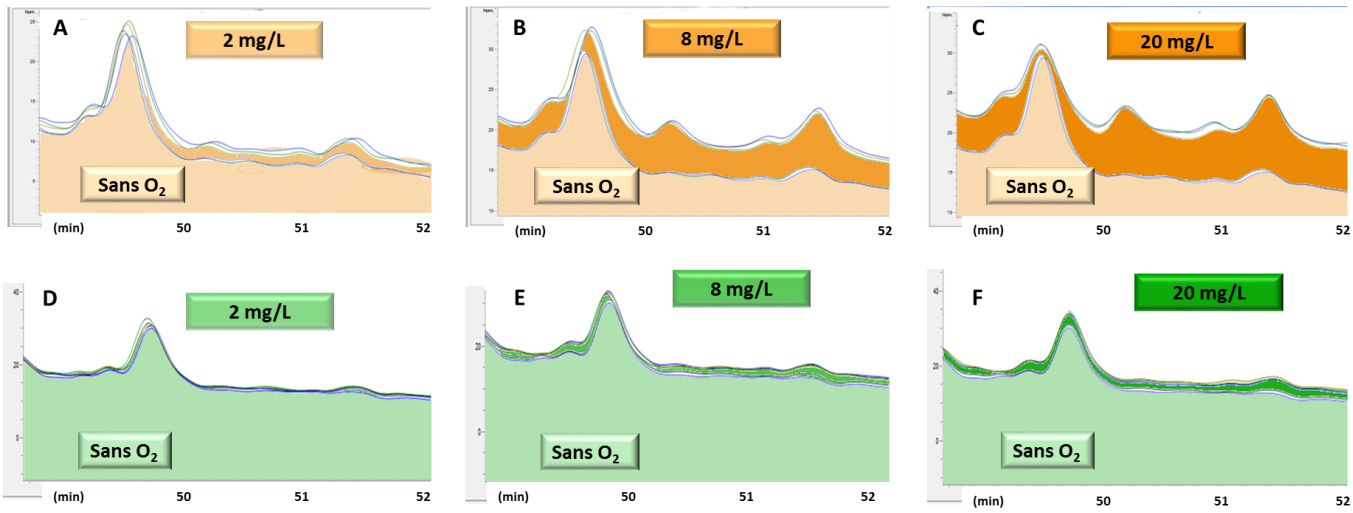


Figure 15 : Chromatogrammes à 280 nm entre 49 et 52 minutes.
A, B, C : pH 3, modalités respectives de 2, 8, 20 mg/L d'oxygène ; **D, E, F :** pH 4, modalités respectives de 2, 8, 20 mg/L d'oxygène.

Sur la figure 15, les chromatogrammes des modalités avec oxygène (2, 8 et 20 mg/L) sont chacun superposés à celui de la modalité sans oxygène.
Comme on peut le constater, à pH 3 l'intensité des pics entre 50 et 52 minutes augmente très fortement lorsque les doses d'oxygène sont plus fortes (A, B, C). Si l'on regarde ensuite les chromatogrammes à pH 4, l'on constate que des composés situés dans cette zone est quasiment nulle même avec la dose de 20 mg/L d'oxygène (D, E, F).

Des injections par HPLC-ESI-MS ont été réalisées afin de connaître les masses moléculaires des composés majoritaires dans cette zone. Un ion de masse $[M^+]$ = 1093 a été trouvé de manière récurrente. Cette masse correspond à une pyranomalvidine-procyanidine dimère ayant été détectée

dans des vins micro-oxygénés ainsi que dans des vins de Porto (Atanasova et al., 2002 ; He et al., 2006). Le dimère procyanidine peut être constitué de catéchines et/ou d'épicatéchines. Pour vérifier qu'il s'agit bien de cette molécule, des analyses MS^3 ont été faites, ainsi que des analyses à la spectrométrie de masse exactive Quadripôle-Time Of Flight (Q-TOF).

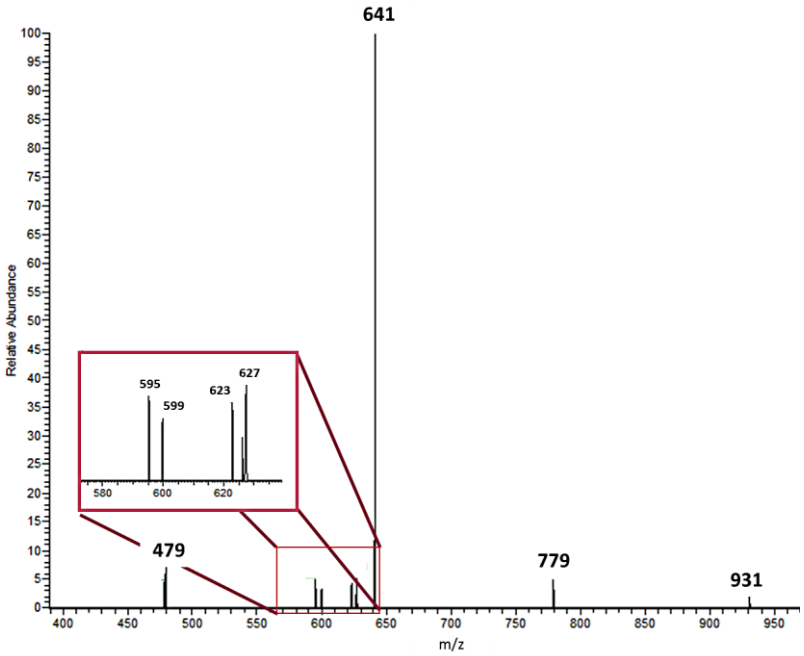


Figure 16 : Fragments détectés résultant des analyses MS^3

Comme on peut le voir sur la figure 16, une grande partie des fragments obtenus correspondent à ceux présents dans la voie de fragmentation proposée par He et al., en 2006 (figure 17). La perte de glucose aboutit à la formation du fragment de masse $[M]^+$ = 931. La coupure du cycle C de la première unité d'(épi)catéchine mène à la formation du Retro-Diels-Alder (RDA) de masse $[M]^+$ = 779. Autre possibilité, celle de la perte d'une (épi)catéchine aboutissant au composé de masse $[M]^+$ = 641, suivi d'une perte d'eau amenant à un composé de masse $[M]^+$ = 623 (figure 17).

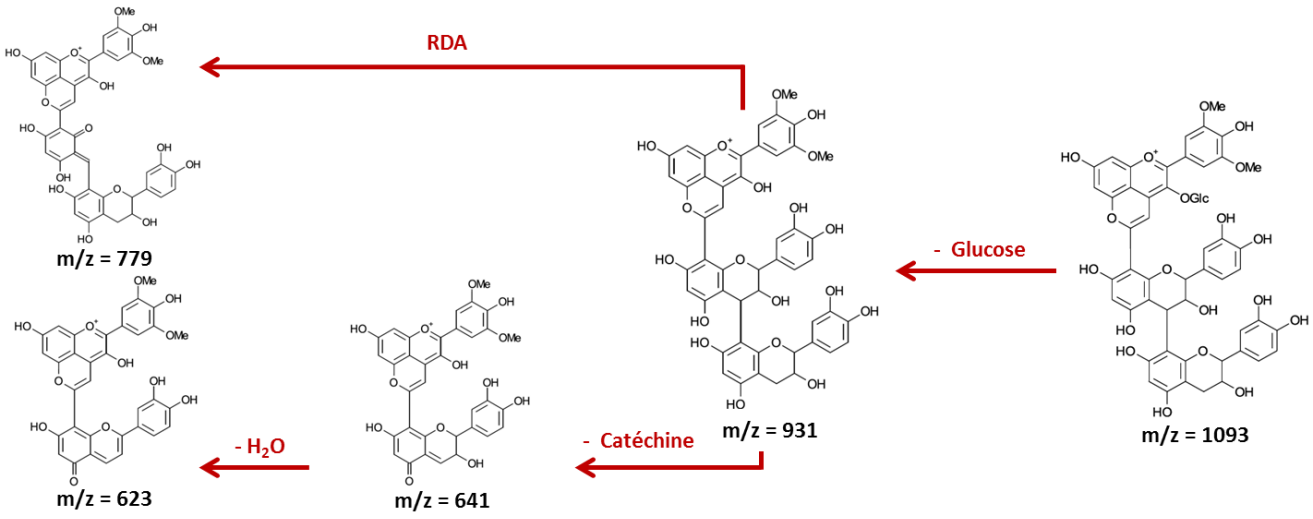


Figure 17 : Voie de fragmentation proposée (d'après He et al., 2006)

Dans le tableau 17, on peut voir que la différence de masse mesurée par spectrométrie exactive Q-TOF en mode MS/MS donne des différences de ppm très faibles sur les molécules et fragments. Le résultat est particulièrement intéressant pour l'ion parent à $[M]^+$ = 1093,2607 avec une différence de ppm de seulement 0,34 (tableau 17). En réalité, le chromatogramme obtenu au Q-TOF montrait deux pics, indiquant que nous étions en présence de deux molécules différentes : dans tous les cas une pyranomalvidine-3-*O*-glucoside de type B, mais avec un tannin dimère différent. Cependant, la résolution au cours de la quantification ne nous a pas permis de les doser séparément ; aussi, les dosages ont été réalisés sur les deux composés confondus.

Tableau 17 : Résultats des analyses de masse exactive Q-TOF en mode MS/MS

Fragment $[M]^+$	Formule brute	Différence de masse (ppm)	Score	Fragment correspondant
1093,2607	$C_{55}H_{49}O_{24}$	0,34	99.11	Pyranomalvidine-3-*O*-Glc-procyanidine-dimère
931,2026	$C_{49}H_{39}O_{19}$	5,82	NA	- Glucose
779,1569	$C_{41}H_{31}O_{16}$	4,88	NA	RDA
641,1256	$C_{34}H_{25}O_{13}$	5,28	NA	- Glucose, - Catéchine

Le croisement de toutes ces données sur l'identification de ces molécules permet de nous assurer sur le fait que les molécules de masse $[M]^+$ = 1093 sont bel et bien deux pyranomalvidine-procyanidine dimères précédemment identifiées dans la littérature (Atanasova et al., 2002; He et al., 2006). Cependant, il n'est pas possible avec ces analyses de savoir quel type de procyanidine dimère (B1, B2, B3 ou B4) est liée à la pyranomalvidine-3-*O*-glucoside.

Comme notre plan d'expérience met en œuvre des modalités permettant de croiser les facteurs pH et oxygène, la quantification de cette molécule a été faite, au quatrième mois. En effet, même si ces composés ont été relatés plusieurs fois dans la littérature scientifique, nous avons obtenu pour la première fois des quantifications dans un vin rouge sec avec différents régimes d'oxygénation et ce, pour différents pH (Pechamat et al., 2014).

Les résultats de la quantification sont donnés dans la figure 18. Comme nous pouvons le constater, plus les doses d'oxygène ajoutées sont fortes, et plus la quantité de pyranomalvidine-procyanidine dimères (PPD) est grande. Par exemple, de 0 à 20 mg/L d'oxygène à pH 3, les valeurs passent d'environ 2 à 20 mg/L, soit quasiment un facteur 10. Cependant, la formation de ces composés est modulée par l'acidité, puisque pour la modalité à 20 mg/L d'oxygène, de pH 3 à pH 4 les teneurs respectives en PPD sont de 20, 12,5 et 4,5 mg/L. Il y a donc presque un facteur 5 entre les teneurs à pH 3 et pH 4 pour la même modalité 20 mg/L d'oxygène (figure 18).

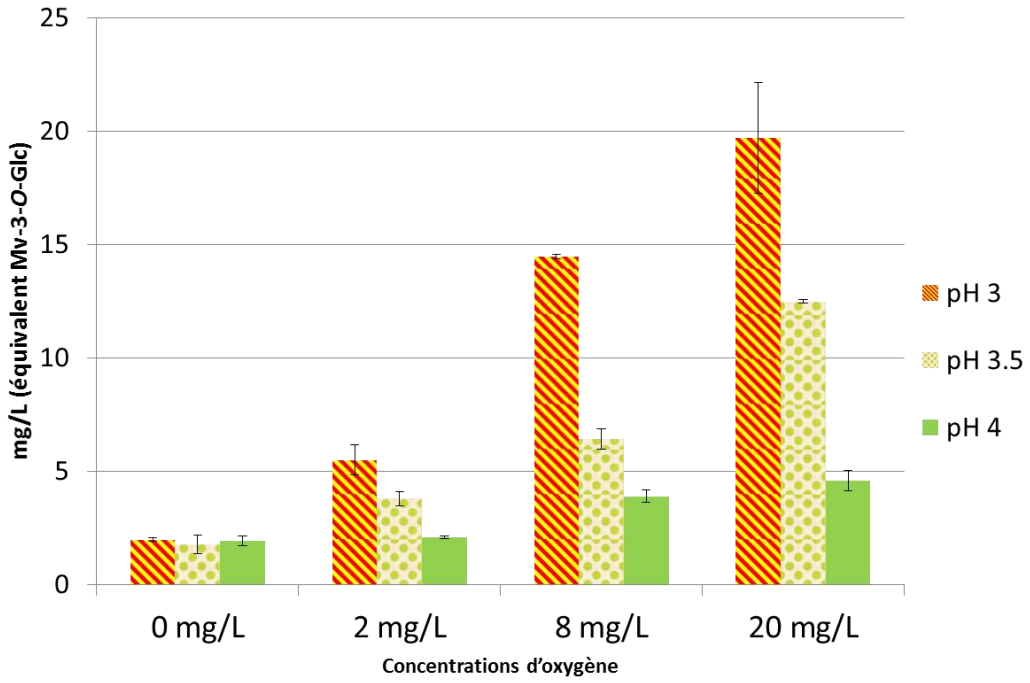


Figure 18 : Quantification des deux pyranomalvidine-procyanidine dimères pour le vin d'IPT 61 après 4 mois d'apports d'oxygène variables (Pechamat et al., 2014)

Ces tendances de formation selon les paramètres pH et oxygène permettent de ce fait de démontrer la voie de formation de cette famille de composés. En effet, comme expliqué dans la partie Synthèse bibliographique, D-II-2-c, le mécanisme de formation met d'abord en œuvre une condensation entre adduit vinyl et anthocyane. Or, ce mécanisme est dépendant de l'acidité. Ensuite, la cyclisation du cycle D néo formé demande de l'oxygène. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication dans un journal international (Pechamat et al., 2014).

D'un point de vue plus œnologique, ces familles de molécules sont connues pour stabiliser la couleur des vins rouges. Or, depuis deux décennies, l'acidité du vin tend à diminuer à cause du réchauffement climatique, ce qui pourrait induire une diminution de la formation de ces composés et impacter négativement l'aspect sensoriel des vins rouges.

VI. Analyses sensorielles

L'objectif de notre étude œnologique a bien évidemment pour finalité l'amélioration des propriétés organoleptiques du vin. Les analyses sensorielles ont été réalisées chaque mois afin de déterminer l'évolution du vin sur certains paramètres sensoriels.

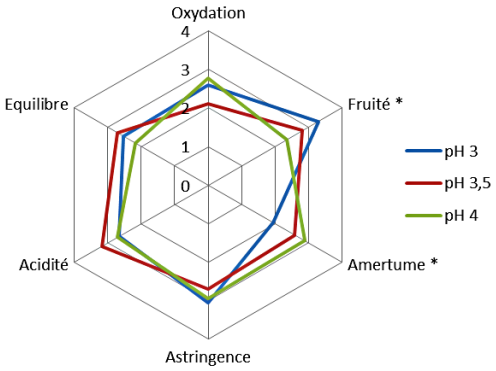


Figure 19 : Analyse sensorielle au départ de l'expérience pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Au départ de l'expérience, à T0, seules les variations de pH sont prises en compte puisque l'oxygène n'a pas encore fait de réactions chimiques. Les résultats montrent que le vin à pH 3 est perçu comme plus fruité et moins amer (figure 19).

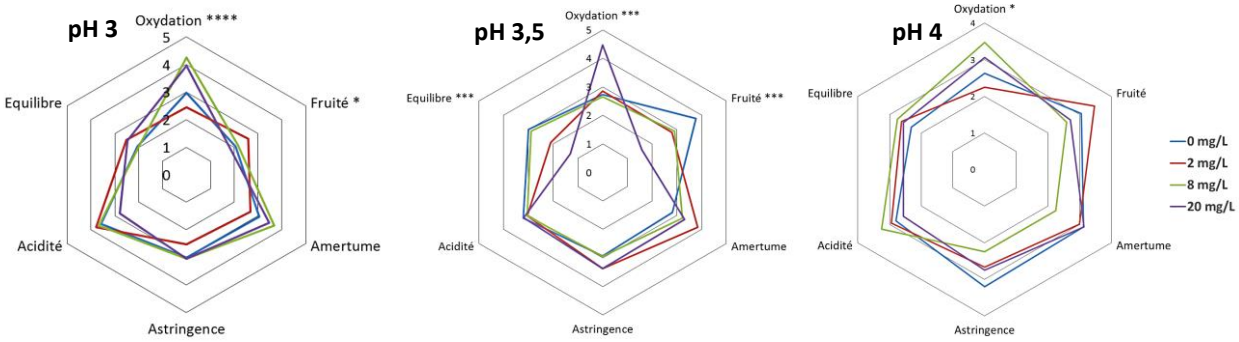


Figure 20 : Analyses sensorielles au premier mois pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables.
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Au premier mois, dans tous les pH, ce sont les modalités à 8 et 20 mg/L d'oxygène qui ont été perçues comme les plus oxydées (figure 20). A pH 3,5, seule la modalité à 20 mg/L se distingue de façon beaucoup plus nette. Les modalités à 2 mg/L d'oxygène à pH 3 et sans oxygène à pH 3,5 ont été perçus plus fruités.

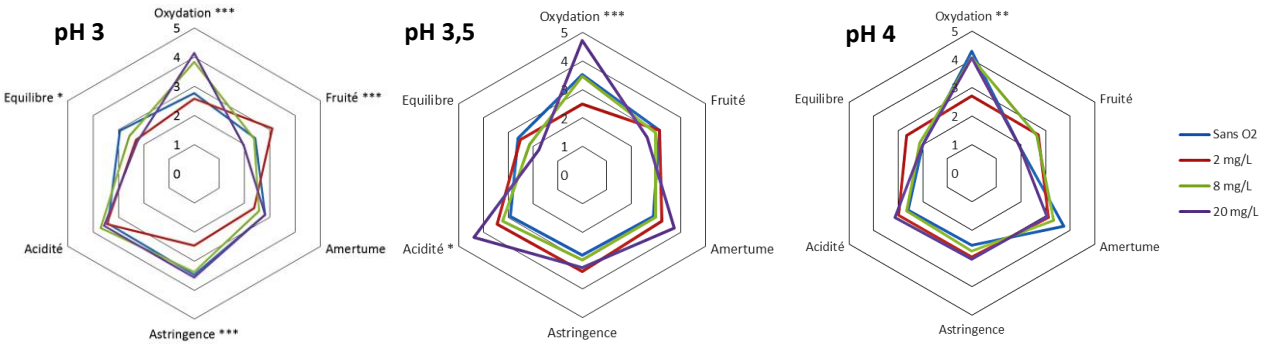


Figure 21 : Analyses sensorielles au deuxième mois pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables.
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Au deuxième mois, la modalité 2 mg/L à pH 3 est à nouveau perçue comme plus fruitée, de la même façon qu'au mois précédent (figure 21). Elle est aussi perçue moins astringente de façon significative. Dans ce cas on peut dire que le pH 3 montre des profils très similaires aux deux premiers mois. Dans tous les cas, la modalité à 2 mg/L est celle qui est perçue comme moins oxydée, tandis que celle à 20 mg/L est perçue comme la plus oxydée à pH 3,5. A pH 4, les modalités 0, 8 et 20 mg/L d'oxygène conduisent à des degrés d'oxydation sensorielles similaires. La modalité à 20 mg/L est perçue comme plus acide à pH 3,5 (figure 21).

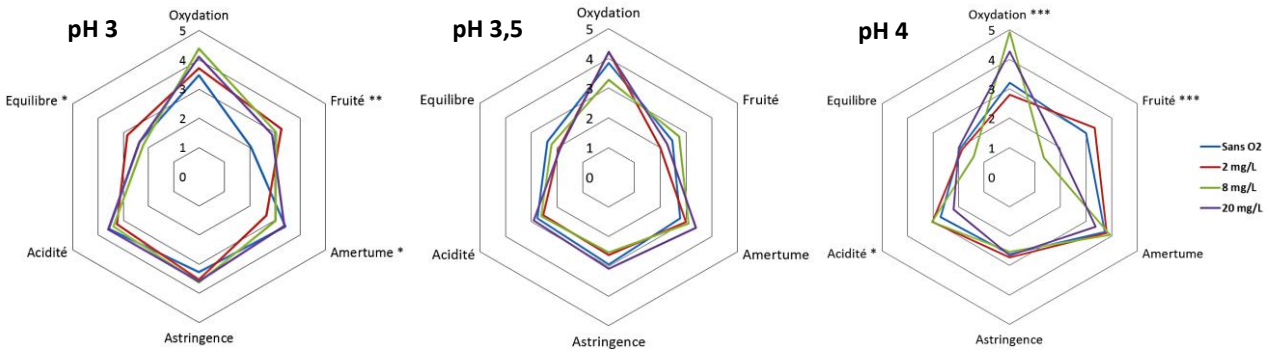


Figure 22 : Analyses sensorielles au troisième mois pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables.
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

A pH 3,5 au troisième mois, très peu de différences semblent visibles. Les modalités à 0 et 8 mg/L d'oxygène semblent plus fruites et plus équilibrées, mais rien n'est significatif (figure 22). Pour tous les pH, les niveaux d'oxydation ont été globalement perçus dans le bon ordre, mais seul le pH 4 est significatif. A pH 4, les doses d'oxygène les plus intenses diminuent très fortement la perception du fruité. A pH 3, la modalité sans oxygène est perçue comme nettement moins fruitée que les autres (figure 22).

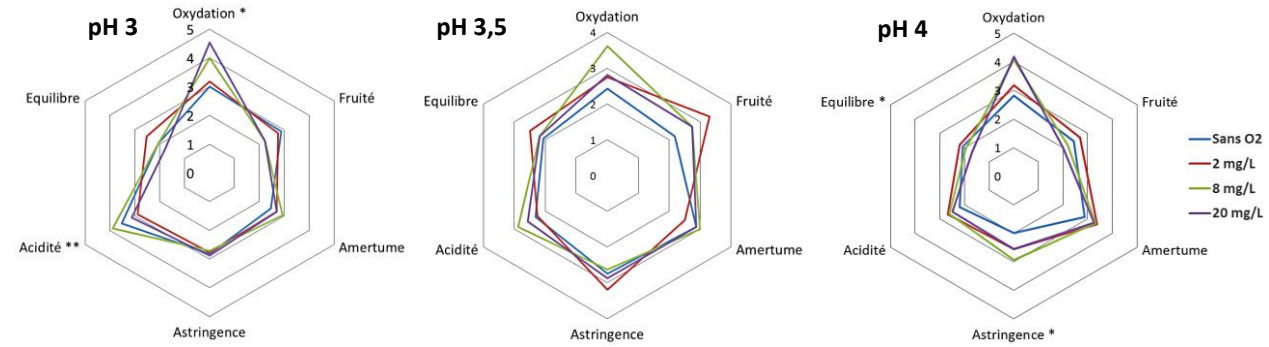


Figure 23 : Analyses sensorielles au quatrième mois pour le vin d'IPT 61 lors d'apports d'oxygène variables.
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Au quatrième mois, seul le pH 3 montre un effet significatif des quantités d'oxygène sur la perception du niveau d'oxydation (figure 23). Toujours pour le pH 3, la modalité à 8 mg/L est celle qui est perçue comme la plus acide. Un fait intéressant semble se produire avec la modalité à 2 mg/L puisque pour tous les pH, c'est celle qui est toujours perçue comme la plus équilibrée et la plus fruitée, même si seul l'équilibre apparait significatif à pH 4 (figure 23).

Pour résumer les résultats des dégustations, nous observons généralement une bonne corrélation entre les doses d'oxygène et la perception du niveau d'oxydation. Sur le descripteur fruité, ce sont de manière générale les modalités avec 0 et 2 mg/L d'oxygène qui sont les plus élevées. Ces observations sont principalement visibles dans les vins à pH 3 et pH 4. Ensuite, lorsque les doses d'oxygène augmentent, le fruité a tendance à diminuer. Certains travaux ont montré que l'oxygène n'avait pas d'impact sur le fruité (del Carmen Llaudy et al., 2006; Heras et al., 2008; Arfelli et al., 2011; Cejudo-Bastante et al., 2011a), tandis que d'autres montrent une augmentation de ce descripteur (Cejudo-Bastante et al., 2011b). Dans notre cas, il semblerait que 2 mg/L soit la dose optimale pour ce descripteur. En ce qui concerne l'amertume, la modalité à 2 mg/L est généralement la moins amère, même si la différence n'est significative qu'à pH 3 au troisième mois. Des travaux montrent que l'oxygène n'a pas d'impact significatif sur l'amertume (Arfelli et al., 2011), ou qu'il permet de la diminuer (Cejudo-Bastante et al., 2011a). Les effets de l'oxygène sur l'astringence sont globalement non significatifs. On retiendra un effet au quatrième mois à pH 4, où les vins sans oxygène sont moins astringents tandis que la modalité à 8 mg/L est perçue comme le plus astringente, ainsi qu'au deuxième mois à pH 3 où la modalité à 2 mg/L est la moins astringente. D'après la littérature scientifique, l'oxygène peut ne pas avoir d'impact significatif (De Beer et al., 2008; Sánchez-Iglesias et al., 2009; Arfelli et al., 2011; Cejudo-Bastante et al., 2011b), ou bien diminuer la sensation d'astringence (del Carmen Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011a). L'oxygène n'induit que très rarement d'effet significatif sur l'acidité : à pH 3, quatrième mois, et pH 4 troisième mois, la modalité à 20 mg/L est la moins acide. Au deuxième mois, à pH 3,5, cette même modalité est la plus acide. Dans la littérature scientifique, l'oxygène ne semble pas avoir d'impact significatif sur l'acidité (Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011b). Enfin, pour le paramètre d'équilibre, lorsque l'oxygène induit un effet, il s'agit principalement des modalités avec 0 et 2 mg/L d'oxygène qui conduisent au produit comme étant perçu le plus équilibré.

Conclusion

Dans cet essai, les teneurs en phénols totaux ont montré une diminution au cours du temps de l'ordre de 24 % en 4 mois. L'oxygène n'a pas d'impact sur cette évolution.

Au niveau des consommations d'oxygène, les résultats ont montré que la consommation augmente avec les quantités d'oxygène fournies. De plus, entre pH 3 et pH 4, les consommations d'oxygène pour une même modalité sont multipliées par 4.

Les quantités de SO_2 libre, total et combiné diminuent au cours du temps, ainsi qu'avec des doses d'oxgène plus importantes. Cependant, ces diminutions sont aussi dépendantes du pH, puisque par

exemple pour le SO_2 total, la diminution des teneurs en 4 mois est de 88 % à pH 3, alors qu'elle n'est que de 56 % à pH 4. Le croisement de ces résultats avec ceux des consommations d'oxygène montre bien que plus le pH augmente, et plus le vin consomme de l'oxygène, tandis que le SO_2 disponible est moins utilisé par le vin.

Les évolutions des teneurs en tannins totaux montrent globalement une stabilité de T0 à T4, ainsi que les analyses de DPm. Par contre, l'analyse DMACH montre une diminution en fonction des doses d'oxygène pour les vins à pH 3. Partant du principe que les teneurs en tannins totaux sont relativement stables, cela indiquerait que des réactions de polymérisation entre tannins se produiraient dans les vins à pH 3. Ces polymérisations seraient liées à la présence d'oxygène, puisque la diminution de l'indice DMACH est de 24 % entre 0 et 20 mg/L d'oxygène.

Les anthocyanes totales et moléculaires montrent des tendances similaires. Les doses d'oxygène favorisent la diminution de leurs concentrations. Cependant, cette diminution est favorisée par l'acidité, puisque de pH 3 à pH 4, les diminutions des teneurs en anthocyanes totales sont respectivement de 53 et 40 %. Pour les anthocyanes moléculaires, les diminutions sont respectivement de 77 % et 68 %, de pH 3 à pH 4. Les analyses menées sur les anthocyanes polymérisées montrent que les teneurs relatives (exprimées en pourcentages) des anthocyanes libres augmentent au cours des deux premiers mois. Parallèlement, ce sont les teneurs relatives en anthocyanes + tannins oligomères qui diminuent d'autant, ce qui indiquerait un retard de polymérisation des anthocyanes avec des tannins oligomères au cours de cette période. En revanche, à partir du troisième mois, les pourcentages d'anthocyanes + tannins polymères augmentent fortement avec les doses d'oxygène. A 20 mg/L, les teneurs sont 40 % plus hautes au quatrième mois que ce qu'elles étaient au départ. Au quatrième mois, une pyranomalvidine di-(épi)-catéchine, a été quantifié. Ce pigment découle de la cyclisation de la malvidine-3-*O*-glucoside par un adduit 8-vinyl-di(épi)catéchine. Les résultats ont montré que les concentrations de cette molécule dépendent à la fois des concentrations en oxygène et de l'acidité. En effet, de 0 à 20 mg/L d'oxygène à pH 3, les concentrations sont respectivement de 2 et 20 mg/L, alors qu'elles ne sont respectivement que de 2 et 4,5 mg/L pour pH 4. Ces teneurs démontrent le rôle primordial que jouent l'oxygène, mais aussi l'acidité dans la formation de ces composés. Or, comme ces pigments sont connus pour être responsables de la stabilisation de la couleur dans les vins rouges, la diminution de l'acidité qui apparait depuis quelques décennies suite au réchauffement climatique pourrait avoir un impact négatif sur la stabilisation de la couleur des vins rouges. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication scientifique dans un journal international (JAFC) (Pechamat et al., 2014).

L'intensité colorante diminue avec le pH, signe que les anthocyanes sont davantage présentes sous leur forme rouge (cation flavylium) avec l'acidité. Inversement, la teinte augmente avec le pH. Les doses d'oxygène ont des effets mineurs sur ces deux paramètres, puisque l'intensité colorante n'augmente que de 10 % entre 0 et 20 mg/L d'oxygène, et la teinte de 7 %. L'oxygène a en revanche des effets plus marqués sur la composante jaune (b) dans le système CIELab, où les valeurs augmentent avec les doses d'oxygène et ce, plus fortement lorsque le pH diminue. De plus, le pH a un

effet assez marqué sur la composante rouge, puisque par rapport à pH 3, les valeurs diminuent de 20 et 40 % pour pH 3,5 et pH 4, respectivement.

On peut souligner que si l'on compare nos travaux avec ceux d'une autre étude menée dans des conditions similaires (micro-oxygénation avec variations d'acidité), les résultats sont en parfait accord (Kontoudakis et al., 2011). En effet, dans les deux cas, l'oxygène induit une polymérisation des tannins (diminution de l'indice DMACH) et des anthocyanes, ainsi qu'une plus grande concentration en pyranoanthocyanes de type B. L'acidité accentue ces effets, tout en induisant une meilleure intensité colorante des vins.

Pour les analyses sensorielles, les niveaux d'oxydation sont généralement bien perçus en fonction des doses d'oxygène. Les modalités avec 0 et 2 mg/L d'oxygène sont celles qui montrent en général les intensités de fruité les plus élevées, et ce principalement pour les vins à pH 3 et pH 4. Sur le paramètre d'amertume, la modalité à 2 mg/L d'oxygène est généralement perçue comme la moins amère, mais cette différence n'est presque jamais significative. De même, l'oxygène ne montre que très peu d'effet significatif sur la perception d'astringence, ainsi que l'acidité où les résultats sont assez fluctuants. Enfin, pour l'équilibre, des notes plus élevées pour les modalités avec 0 et 2 mg/L d'oxygène sont obtenues de façon générale. Ces résultats indiquent que les vins à 0 et 2 mg/L semblent être ceux qui permettent d'avoir, de façon générale, une perception fruitée plus élevée et un meilleur équilibre.

D. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 76 (« fort ») millésime 2011

Cet essai a été réalisé sur un vin rouge de Merlot millésime 2011. Comme lors de l'essai précédent, les modalités de micro-oxygénation sont de 0, 2, 8 et 20 mg/L. Chaque modalité a été testée à pH 3, pH 3,5 et pH 4. Chaque semaine, l'oxygène consommé dans chaque bonbonne a été délivré afin de maintenir l'oxygène des vins aux niveaux de 2, 8 et 20 mg/L. En revanche, la modalité sans oxygène a été régulièrement inertée afin de maintenir le niveau à 0 mg/L.

Le but est de comparer les effets croisés du pH et de l'oxygène sur l'évolution de ce vin rouge au cours de quatre mois d'essais. Les résultats obtenus pourront être comparés avec ceux acquis lors de l'expérimentation précédente en vue d'observer les effets et différences pour des Indices de Phénols Totaux (IPT) de 76 (qualifié de « fort ») et pour l'essai précédent de 61 (qualifié de « faible »).

Les tableaux suivants indiquent la composition chimique phénolique et les caractéristiques de départ du vin utilisé.

Tableau 1 : Composition de départ du vin d'IPT 76.

Composés phénoliques totaux (g/L éq. Ac. Gallique)	Tannins totaux (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Anthocyanes moléculaires (mg/L)	DPm	Prodelphi-nidines (%)	pH
2,04 ± 0,09 g/L	4,20 ± 0,11	604,19 ± 12,99 mg/L	130,16 ± 11,79	3,73 ± 0,06	25,10 ± 1,86	3,78

Les valeurs sont les moyennes de deux échantillons

Tableau 2 : Caractéristiques de départ du vin d'IPT 76.

Acidité totale	Acide malique	Acide lactique	Titre alcoométrique volumique	Acidité volatile
2,76 g H_2SO_4/L	0,00 g/L	0,78 g/L	13,69 % volume	0,24 g H_2SO_4/L

Ce vin possède une teneur de 2 g/L en composés phénoliques totaux. Il apparait moins riche que le vin précédent. Cependant, sa teneur en tannins totaux est de 4,2 g/L, alors que celle du vin précédent n'était que de 3,22 g/L soit 33 % de plus (tableau 1). De même, son DPm est plus important avec 3,73 alors qu'il n'était que de 3,06 pour le vin précédent. Les teneurs en anthocyanes totales sont identiques, de l'ordre de 600 mg/L. En revanche, les teneurs en anthocyanes moléculaires, dosées par HPLC, sont beaucoup plus faibles pour ce vin, puisque la valeur est de 130 mg/L, tandis que celle-ci était de 347 mg/L pour le vin précédent, soit pratiquement un facteur 3 de différence.

I. Evolution des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux ont été dosés par méthode de Folin-Ciocalteau. Les résultats sont donnés en figure 1.

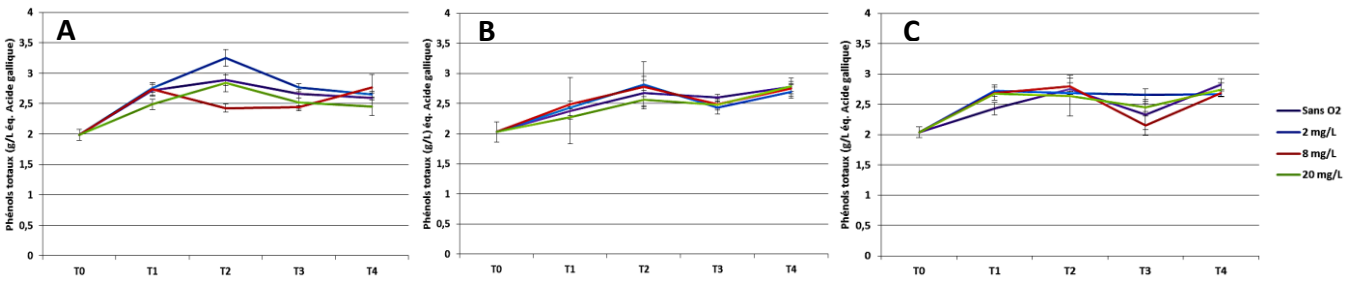


Figure 1 : Cinétiques des teneurs en phénols totaux (Folin-Ciocalteu) pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 3 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 1.

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	1,95 **a**	0,05
	T1	2,71 **b**	0,59
	T2	2,81 **b**	0,30
	T3	2,62 **b**	0,15
	T4	2,62 **b**	0,17
O_2	0 mg/L	2,71 **a**	0,63
	2 mg/L	2,58 **a**	0,47
	8 mg/L	2,49 **a**	0,33
	20 mg/L	2,45 **a**	0,31

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	1,95 **a**	0,04
	T1	2,39 **ab**	0,22
	T2	2,86 **bc**	0,73
	T3	2,46 **bc**	0,16
	T4	2,77 **c**	0,10
O_2	0 mg/L	2,47 **a**	0,38
	2 mg/L	2,61 **a**	0,73
	8 mg/L	2,42 **a**	0,33
	20 mg/L	2,43 **a**	0,30

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	2,05 **a**	0,07
	T1	2,55 **b**	0,18
	T2	2,31 **b**	0,93
	T3	2,44 **ab**	0,22
	T4	3,33 **b**	2,00
O_2	0 mg/L	2,48 **a**	0,31
	2 mg/L	2,80 **a**	1,94
	8 mg/L	2,36 **a**	0,48
	20 mg/L	2,49 **a**	0,30

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les évolutions ne montrent pas de réelle différence visible entre les pH 3, pH 3,5 et pH 4 (figure 1). On peut observer qu'une augmentation des teneurs en phénols totaux se produit au cours du premier mois de manière significative (tableau 3, facteur Tps). En revanche, l'oxygène n'induit aucune modification des teneurs en phénols totaux, aucune différence n'est ni réellement visible ni significative (figure 1 et tableau 3, facteur O_2).

Ces résultats ne sont pas réellement en accord avec ceux de la littérature scientifique, puisque soit les teneurs en phénols totaux diminuent au moins au cours du temps (Cano-López et al., 2010), soit elles diminuent aussi en fonction des doses d'oxygène apportées (Castellari et al., 2000).

II. Comparaison des teneurs en SO_2 et des consommations d'oxygène

Les cinétiques de consommation d'oxygène permettent d'apprécier la capacité du vin rouge à absorber l'oxygène qui lui est fourni. La figure 2 donne les quantités d'oxygène consommées cumulées : les consommations mensuelles sont additionnées aux consommations des mois précédents. Par exemple, si le vin consomme 10 mg/L chaque mois, les valeurs de T1 à T2 seront respectivement 10, 20, 30, 40. Le point à T4, qui correspond au 4ème mois donne ainsi les quantités d'oxygène totales qui ont été consommées sur l'ensemble de l'expérience.

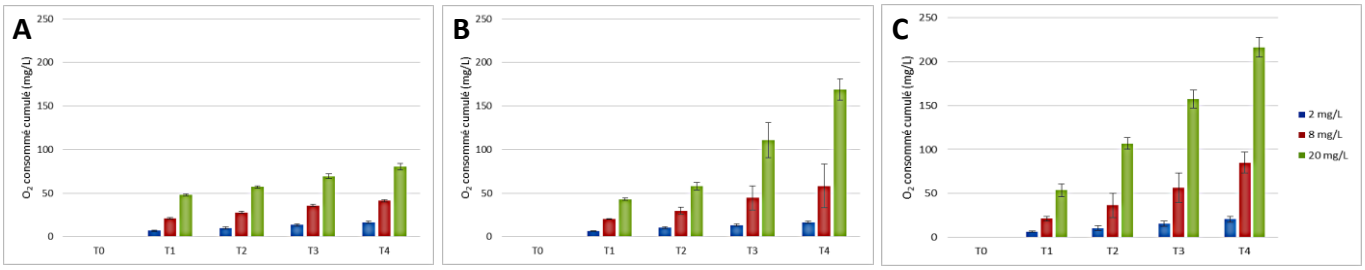


Figure 2 : Consommations d'oxygène cumulées pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 4 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 2.

O_2 cumulé pH 3 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	0,00 **a**	0,00
	T1	20,69 **ab**	19,12
	T2	25,84 **b**	22,39
	T3	32,34 **b**	27,06
	T4	37,52 **b**	31,15
O_2	0 mg/L	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	9,40 **ab**	6,01
	8 mg/L	25,03 **bc**	14,72
	20 mg/L	50,92 **c**	28,77

O_2 cumulé pH 3,5 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	0,00 **a**	0,00
	T1	18,98 **ab**	17,02
	T2	26,75 **b**	22,96
	T3	46,02 **b**	46,11
	T4	66,38 **b**	70,41
O_2	0 mg/L	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	9,31 **ab**	5,94
	8 mg/L	30,56 **bc**	23,38
	20 mg/L	76,10 **c**	61,11

O_2 cumulé pH 4 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	0,00 **a**	0,00
	T1	22,13 **ab**	21,89
	T2	41,95 **b**	44,33
	T3	62,49 **b**	65,07
	T4	87,86 **b**	88,99
O_2	0 mg/L	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	10,63 **ab**	7,62
	8 mg/L	39,80 **bc**	31,67
	20 mg/L	106,82 **c**	78,89

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Dans tous les cas, la consommation d'oxygène augmente en fonction des doses d'oxygène apportées au vin, indiquant que la capacité de consommation d'oxygène du vin rouge utilisé est supérieure aux doses testées. Comme on peut le voir dans le tableau 4, plus les quantités d'oxygène augmentent, et plus les modalités se différencient dans des groupes différents.

Les tendances de consommation d'oxygène sont assez identiques à celles obtenues pour le vin précédent (vin d'IPT 61), puisque plus le pH augmente et plus les consommations en oxygène sont importantes (figure 2). De la même façon, des auteurs ont mis en évidence que le vin consomme davantage d'oxygène lorsque le pH augmente (Singleton, 1987; Du Toit et al., 2006). A T4 par exemple, pour les pH 3, pH 3,5 et pH 4, les consommations pour la modalité à 20 mg/L d'oxygène sont respectivement de 80, 170 et 220 mg/L. De pH 3 à pH 3,5, la consommation augmente de 100 %, mais de pH 3,5 à pH 4 elle n'est plus que de 25 % (figure 2). En revanche, ce vin consomme moins d'oxygène que le précédent d'IPT 61. En effet, au T4 pour le vin précédent, les moyennes étaient de 28, 98 et 126 mg/L d'oxygène consommé toutes modalités confondues des pH 3, pH 3,5 et pH 4, (tableau 4, partie C) tandis qu'elles sont de 37, 66 et 88 mg/L pour ce vin (tableau 4) soit une consommation plus faible d'environ 30 % à pH 4.

Le SO_2 est présent dans le vin rouge afin de limiter les risques d'oxydation. Les cinétiques de consommation d'oxygène et d'évolution de SO_2 sont intimement liées. Les résultats liés au SO_2 sont donnés dans les figures suivantes.

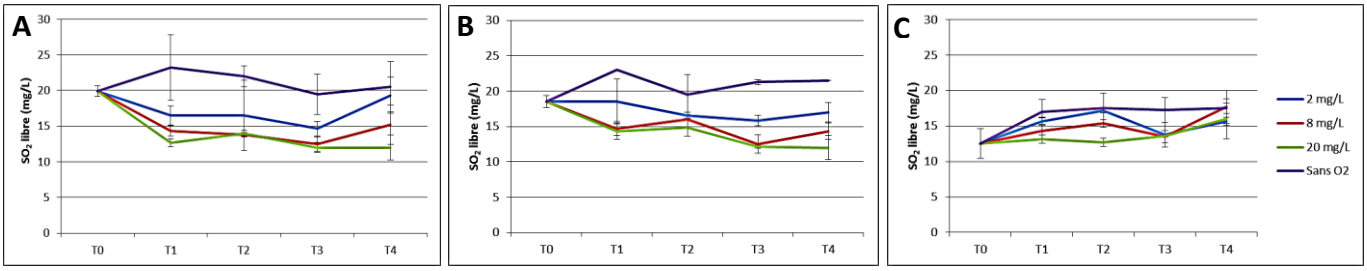


Figure 3 : Cinétiques du SO_2 libre pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 5 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 3.

SO_2 libre pH 3 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	20,06 **a**	0,61
	T1	15,53 **a**	2,84
	T2	16,09 **a**	3,87
	T3	13,73 **b**	3,80
	T4	16,41 **a**	4,10
O_2	0 mg/L	20,46 **a**	1,86
	2 mg/L	17,42 **b**	3,02
	8 mg/L	15,19 **c**	2,94
	20 mg/L	13,75 **c**	3,73

SO_2 libre pH 3,5 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	18,55 **a**	0,76
	T1	17,14 **ab**	3,67
	T2	16,45 **ab**	1,97
	T3	14,73 **b**	3,77
	T4	15,73 **ab**	3,60
O_2	0 mg/L	20,80 **a**	1,89
	2 mg/L	17,27 **b**	1,53
	8 mg/L	15,20 **c**	2,27
	20 mg/L	14,23 **c**	2,79

SO_2 libre pH 4 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	12,50 **a**	1,34
	T1	14,86 **ab**	1,66
	T2	15,50 **b**	2,16
	T3	14,28 **ab**	1,80
	T4	15,64 **b**	3,91
O_2	0 mg/L	16,35 **a**	2,37
	2 mg/L	14,95 **a**	1,93
	8 mg/L	14,67 **ab**	2,23
	20 mg/L	12,85 **b**	2,64

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Au cours du temps, les teneurs en SO_2 libre ne diminuent que pour les pH 3 et 3,5. Ces diminutions sont cependant très faibles, puisqu'à pH 3, de T0 à T4, les moyennes passent de 20 à 16 mg/L, et de 19 à 16 pour le pH 3,5 (tableau 5, facteur Tps). A pH 4 en revanche, les valeurs semblent être proches, avec des teneurs moyennes en SO_2 libre de 12,5 mg/L à T0 et de 15,6 mg/L à T4. Comme pour le vin précédent d'IPT 61, la plus faible diminution du SO_2 libre observée à pH 4 s'explique par la diminution dans la proportion de SO_2 moléculaire lorsque le pH augmente.

Les effets dus à l'oxygène sont plus nets pour les pH 3 et pH 3,5, puisque les teneurs en SO_2 libre sont 30 % plus faibles après 4 mois, alors qu'à pH 4, elles ne sont que de 25 % plus faibles (tableau 5, facteur O_2).

Quoi qu'il en soit, même si les cinétiques sont ici aussi liées au pH comme c'était le cas dans le vin précédent, on est loin des fortes diminutions en SO_2 libre observées précédemment. En effet, si l'on compare les diminutions de SO_2 libre à pH 3 entre T0 et T4, nous avons ici une diminution de 20 % (de 20 à 16 mg/L), tandis qu'elle était de 75 % dans le vin précédent (de 32 à 8 mg/L).

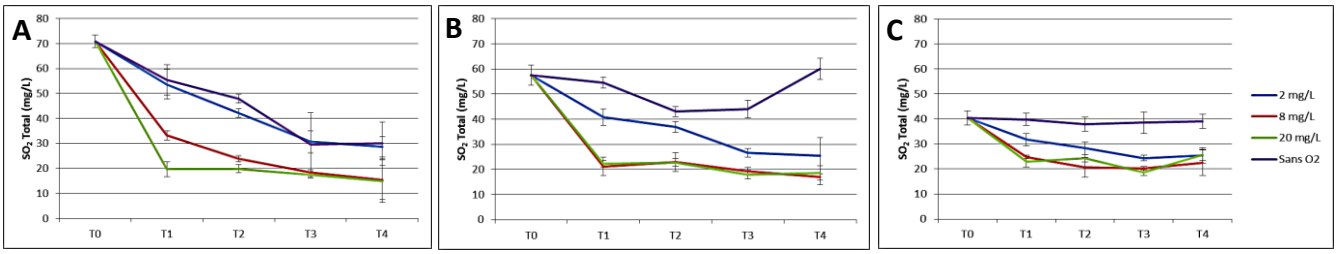


Figure 4 : Cinétiques du SO_2 total pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 6 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 4.

SO_2 total pH 3 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	69,82 **a**	1,52
	T1	43,00 **ab**	20,69
	T2	33,82 **b**	15,42
	T3	23,55 **b**	7,84
	T4	28,83 **b**	15,12
O_2	0 mg/L	56,75 **a**	17,33
	2 mg/L	45,53 **b**	16,44
	8 mg/L	33,00 **c**	19,87
	20 mg/L	29,57 **c**	21,69

SO_2 total pH 3,5 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	57,68 **a**	3,43
	T1	32,86 **b**	13,92
	T2	30,41 **b**	9,12
	T3	25,44 **b**	10,02
	T4	29,18 **b**	16,50
O_2	0 mg/L	52,00 **a**	8,02
	2 mg/L	38,33 **b**	11,75
	8 mg/L	27,93 **c**	15,63
	20 mg/L	27,80 **c**	15,63

SO_2 total pH 4 (mg/L)			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	40,36 **a**	1,80
	T1	28,91 **c**	6,62
	T2	26,91 **bc**	6,79
	T3	24,24 **b**	7,59
	T4	27,91 **c**	6,24
O_2	0 mg/L	39,15 **a**	2,43
	2 mg/L	30,01 **b**	6,27
	8 mg/L	26,29 **c**	8,02
	20 mg/L	26,37 **c**	7,86

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les cinétiques de SO_2 total diminuent au cours du temps quels que soient les pH même si ces diminutions sont plus fortes lorsque le pH est acide (figure 4 A, B et C). En réalité, à T4, pour les 3 pH, la teneur moyenne de SO_2 total est de 28 ou 29 mg/L, ce qui est très proche. Cependant, les teneurs en SO_2 total de départ étaient d'autant plus fortes que le pH était acide (tableau 6, facteur temps). Au final, on a donc des diminutions plus fortes avec l'acidité de T0 à T4 : de 59 % à pH 3, 49 % à pH 3,5 et 28 % à pH 4.

Les quantités d'oxygène apportées dans les bonbonnes accroissent la vitesse de diminution des teneurs en SO_2 total.

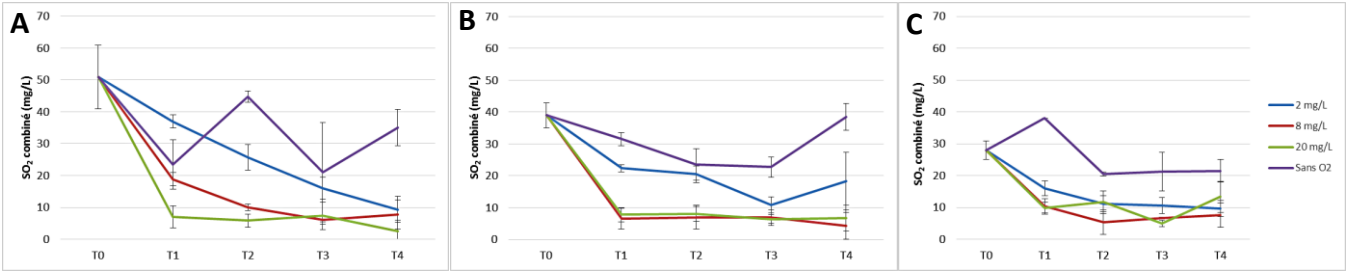


Figure 5 : Evolutions du SO_2 combiné pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 7 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 5.

SO_2 combiné (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	49,79 **a**	1,43
	T1	27,47 **ab**	18,11
	T2	17,73 **b**	12,59
	T3	9,91 **b**	6,81
	T4	12,50 **b**	12,60
O_2	0 mg/L	36,39 **a**	16,86
	2 mg/L	28,14 **b**	15,77
	8 mg/L	17,88 **c**	17,22
	20 mg/L	15,81 **c**	18,71

SO_2 combiné (mg/L) pH3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	39,14 **a**	2,67
	T1	15,73 **b**	10,53
	T2	13,95 **b**	8,00
	T3	10,71 **b**	6,54
	T4	13,45 **b**	13,64
O_2	0 mg/L	31,20 **a**	8,07
	2 mg/L	21,07 **b**	10,94
	8 mg/L	12,73 **c**	13,93
	20 mg/L	13,59 **c**	13,37

SO_2 combiné (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	27,86 **a**	3,14
	T1	14,05 **b**	5,32
	T2	11,41 **bc**	5,86
	T3	9,95 **c**	6,43
	T4	12,27 **bc**	6,00
O_2	0 mg/L	22,80 **a**	4,05
	2 mg/L	15,06 **b**	7,35
	8 mg/L	11,62 **c**	8,95
	20 mg/L	13,52 **bc**	8,43

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les tendances suivies par le SO_2 combiné sont similaires à celles suivies par les SO_2 libre et total (figure 5 A, B et C). La diminution du SO_2 combiné en fonction du temps est plus forte à pH acide, ceci provenant du fait que les valeurs de départ étaient plus hautes (50, 39 et 28 mg/L pour les pH 3, pH 3,5 et pH 4 respectivement) (tableau 7, facteur Tps).

Là aussi, plus on apporte de l'oxygène dans les bonbonnes de vin et plus le SO_2 combiné a tendance à diminuer. La plus grande différence en SO_2 combiné est visible à pH 3, entre 0 et 20 mg/L d'oxygène, où les valeurs moyennes tous temps confondus passent de 36 à 16 mg/L soit une diminution de l'ordre de 50 % (tableau 7, facteur O_2).

Si l'on compare maintenant les consommations d'oxygène avec les cinétiques des SO_2 libre, total et combiné pour le vin d'IPT 76, on peut là aussi, comme dans le cadre du vin précédent d'IPT 61, dire que plus le pH augmente et moins le SO_2 a tendance à diminuer, tandis que les consommations d'oxygène augmentent. Pour ce vin d'IPT 76, de pH 3 à pH 4, les consommations d'oxygène cumulé à T4 sont multipliées par 2,3 (tableau 4, facteur Tps) tandis que les teneurs en SO_2 libre diminuent de 25 % à pH 3, et augmentent très légèrement à pH 4 de T0 à T4 toutes modalités confondues (tableau 5, facteur Tps). Il est donc clair qu'il existe une diminution de la capacité du SO_2 à protéger le vin à pH 4.

Au niveau des consommations d'oxygène, ce vin d'IPT 76 consomme moins que le précédent, d'IPT 61. De plus, au niveau des cinétiques des SO_2 libre, total et combiné, même si les diminutions sont moins importantes lorsque le pH augmente, on notera une différence de comportement entre les deux vins d'IPT 76 et d'IPT 61. En effet, dans le vin d'IPT 76, le facteur temps des tableaux 5, 6 et 7 montre qu'à T4 les valeurs des SO_2 sont quasiment identiques pour les 3 pH. Par exemple, pour le SO_2 libre, de pH 3 à pH 4, les moyennes à T4 sont de 16,4, 15,7 et 15,6 mg/L respectivement (tableau 5, facteur temps). De même les valeurs des SO_2 total et combiné sont similaires. Dans le vin d'IPT 61, en revanche, les valeurs à T4 évoluent davantage. En effet, à titre d'exemple pour le SO_2 libre, de pH 3 à pH 4, les valeurs respectives sont de 8, 11 et 13 mg/L à T4 (partie C, II, tableau 5, facteur Tps). Dans ce plan d'expérience avec le vin IPT 76, les différences de diminution des SO_2 en fonction du pH apparaissent être majoritairement liées aux différences des teneurs à T0 selon les pH.

III. Evolution des tannins

L'évolution des tannins a été suivie par différentes analyses : tannins totaux, DMACH et DPm, qui font l'objet de ce paragraphe.

1. Tannins totaux

Les tannins totaux sont quantifiés par la méthode d'hydrolyse en milieu acide de Bate-Smith (Ribéreau-Gayon and Stonestreet, 1966). Les résultats sont donnés figure 6 et tableau 8.

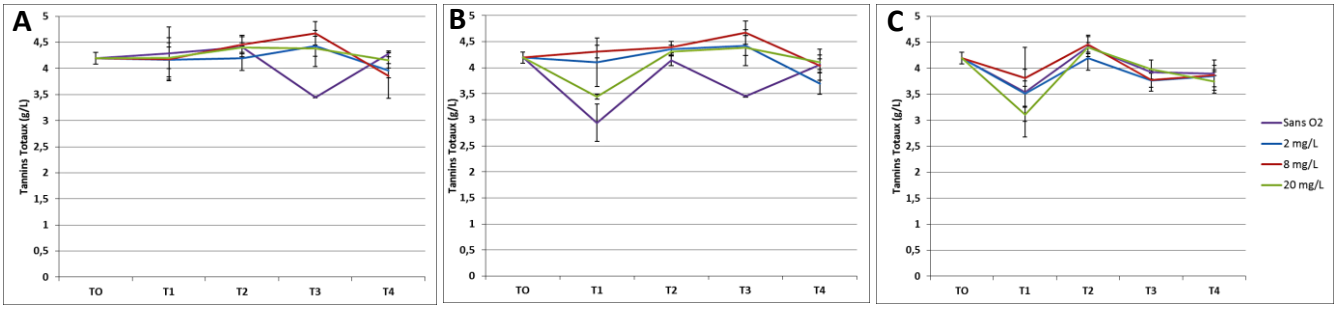


Figure 6 : Evolutions des tannins totaux (Bate-Smith) pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 8 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 6.

Tannins totaux (g/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	4,13 **a**	0,00
	T1	3,92 **a**	0,99
	T2	4,37 **a**	0,19
	T3	4,30 **a**	0,48
	T4	4,04 **a**	0,27
O_2	0 mg/L	4,11 **a**	0,40
	2 mg/L	3,97 **a**	0,83
	8 mg/L	4,26 **a**	0,38
	20 mg/L	4,26 **a**	0,20

Tannins totaux (g/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	4,13 **abc**	0,00
	T1	3,77 **ab**	0,59
	T2	4,32 **c**	0,12
	T3	4,30 **ac**	0,48
	T4	3,97 **b**	0,24
O_2	0 mg/L	3,75 **a**	0,53
	2 mg/L	4,15 **bc**	0,34
	8 mg/L	4,30 **b**	0,26
	20 mg/L	4,08 **c**	0,38

Tannins totaux (g/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	4,13 **bc**	0,00
	T1	3,49 **a**	0,41
	T2	4,37 **c**	0,19
	T3	3,85 **ab**	0,17
	T4	3,84 **ab**	0,20
O_2	0 mg/L	3,98 **a**	0,42
	2 mg/L	3,89 **a**	0,31
	8 mg/L	4,01 **a**	0,31
	20 mg/L	3,87 **a**	0,47

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les suivis des teneurs en tannins montrent très peu de changements et d'évolutions (figure 6 A, B et C). Dans le cadre des vins à pH 3, aucune différence statistique n'a pu être déterminée (tableau 8, facteurs Tps et O2). Des différences statistiques sur le facteur temps (tableau 8) sont déterminées pour les pH 3,5 et 4, cependant, à ces pH, de T0 à T4, les teneurs respectives sont de 4,1 et 4 g/L à pH 3,5, et de 4,1 et 3,8 g/L à pH 4 (tableau 8, facteur Tps). De ce fait, on peut dire que les variations sont négligeables.

On notera cependant qu'à pH 4, on retrouve le même type de courbe que celles observées lors du vin précédent d'IPT 61, où les teneurs en tannins totaux sont les plus fortes à T2 (figure 6C).

2. Indice DMACH

Le DMACH (Diméthylaminocinnamaldéhyde) est un réactif réagissant spécifiquement avec les premières unités de tannins. L'indice DMACH a été suivi pour les différentes modalités. Les résultats sont présentés en figure 7, et tableau 9.

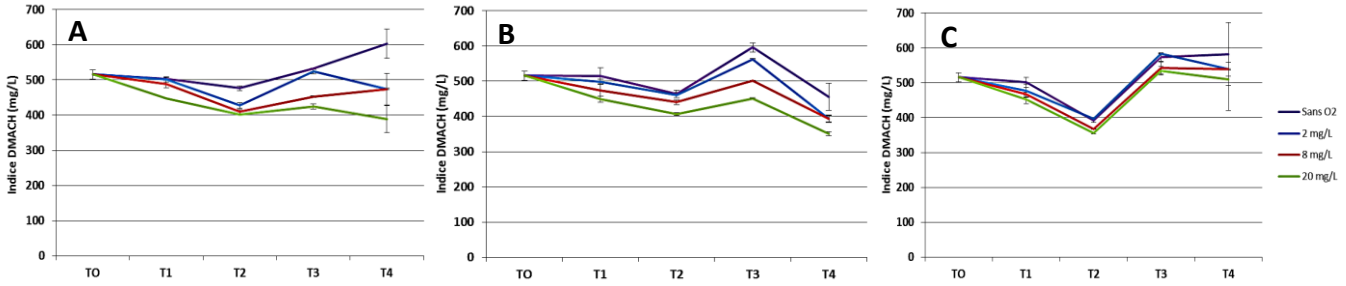


Figure 7 : Evolutions de l'indice DMACH pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 9 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 7.

DMACH (mg/L éq. catéchine) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	511,82 **a**	10,27
	T1	489,97 **ab**	35,89
	T2	427,13 **b**	32,60
	T3	476,10 **ab**	48,36
	T4	516,08 **a**	105,31
O_2	0 mg/L	525,69 **a**	47,68
	2 mg/L	523,24 **a**	66,31
	8 mg/L	469,87 **b**	33,99
	20 mg/L	431,92 **c**	48,54

DMACH (mg/L éq. catéchine) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	511,82 **a**	10,27
	T1	481,59 **ab**	28,00
	T2	441,22 **b**	24,91
	T3	524,04 **a**	51,42
	T4	410,27 **b**	48,59
O_2	0 mg/L	508,72 **a**	55,30
	2 mg/L	496,52 **a**	38,25
	8 mg/L	464,22 **b**	45,26
	20 mg/L	437,33 **c**	58,32

DMACH (mg/L éq. catéchine) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	511,82 **ab**	10,27
	T1	471,67 **acd**	20,52
	T2	370,48 **d**	26,12
	T3	548,61 **b**	31,84
	T4	535,93 **bc**	94,96
O_2	0 mg/L	512,01 **ab**	78,27
	2 mg/L	515,25 **b**	81,06
	8 mg/L	482,85 **a**	69,63
	20 mg/L	448,81 **c**	77,39

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Le réactif DMACH réagit spécifiquement avec la première unité des tannins condensés. Les valeurs obtenues sont donc inversement proportionnelles au degré de polymérisation, pour des teneurs en tannins égales.

Dans les modalités à pH 3 (figure 7A), on peut voir que la baisse de l'indice DMACH est corrélée aux teneurs en oxygène, ce qui montre que plus l'oxygène est présent et plus les tannins se polymérisent. D'après le tableau 8, le facteur O_2 permet de faire des groupes statistiquement différenciés en fonction des doses d'oxygène avec des valeurs moyennes qui diminuent en fonction de ces doses, excepté à pH 4 où la modalité à 2 mg/L a une valeur moyenne supérieure mais proche de celle sans oxygène (tableau 9, facteur O_2).

De manière générale, une tendance inverse après le T2 est observable. Cette inversion est plus nette à pH 4 (figure 7C).

L'indice DMACH dans cette expérience se comporte de manière différente en comparaison avec le vin précédent d'IPT 61, où l'évolution de l'indice DMACH était plus régulière au cours du temps (partie C-III-figure 7). De plus, dans une étude menée par del Carmen Llaudy et al., en 2006, l'indice DMACH ne variait pas en fonction de la micro-oxygénation, alors que nous l'observons ici.

3. Analyses de Degré de Polymérisation moyen (DPm) et pourcentage de prodelphinidines

Le DPm peut être connu grâce à la réaction de phloroglucinolyse, ainsi que les pourcentages de prodelphinidines. Les résultats sont donnés respectivement dans la figure 8 et la figure 9.

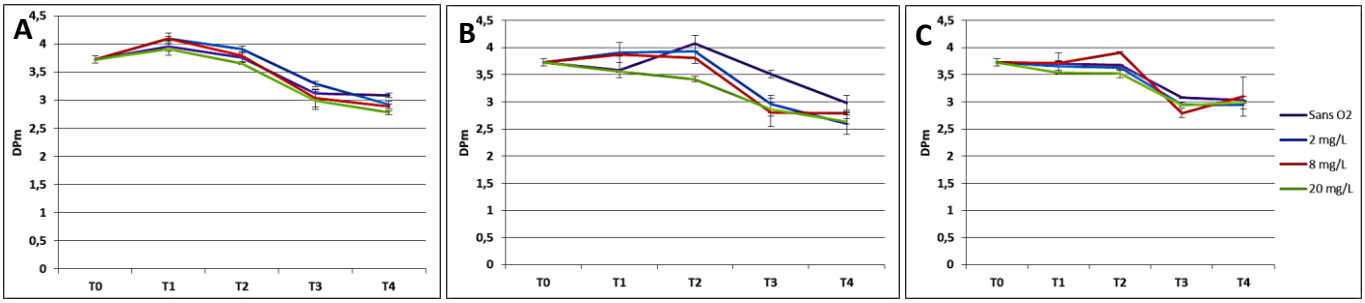


Figure 8 : Evolutions des DPm pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 10 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 8.

DPm pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,69 **ab**	0,02
	T1	4,02 **a**	0,12
	T2	3,78 **a**	0,12
	T3	3,10 **bc**	0,17
	T4	2,93 **c**	0,14
O_2	0 mg/L	3,52 **a**	0,38
	2 mg/L	3,58 **a**	0,45
	8 mg/L	3,52 **a**	0,47
	20 mg/L	3,40 **b**	0,46

DPm pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,69 **a**	0,02
	T1	3,71 **a**	0,20
	T2	3,78 **a**	0,25
	T3	2,99 **b**	0,29
	T4	2,73 **b**	0,18
O_2	0 mg/L	3,56 **a**	0,37
	2 mg/L	3,42 **a**	0,57
	8 mg/L	3,37 **a**	0,50
	20 mg/L	3,23 **a**	0,43

DPm pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,69 **a**	0,02
	T1	3,63 **a**	0,15
	T2	3,52 **ac**	0,30
	T3	2,94 **b**	0,12
	T4	3,07 **bc**	0,21
O_2	0 mg/L	3,44 **a**	0,33
	2 mg/L	3,38 **a**	0,33
	8 mg/L	3,37 **a**	0,46
	20 mg/L	3,32 **a**	0,31

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Pour l'analyse des DPm, on observe que les valeurs diminuent au cours du temps quels que soient les pH (figures 8 A, B et C). Les doses d'oxygène n'ont en revanche aucune influence sur cette diminution, si ce n'est une différence significative observée à pH 3 pour la dose de 20 mg/L (tableau 10, facteur O_2). La diminution la plus forte au cours du temps est visible pour le pH 3,5, où le DPm passe de 3,7 à 2,7 soit une chute de 27 % (figure 8 B).

Le DPm évolue plus facilement pour le vin d'IPT 76. Dans le vin précédent d'IPT 61, les DPm étaient très stables que ce soit au cours du temps ou des doses d'oxygène appliquées (partie C-III figure 8).

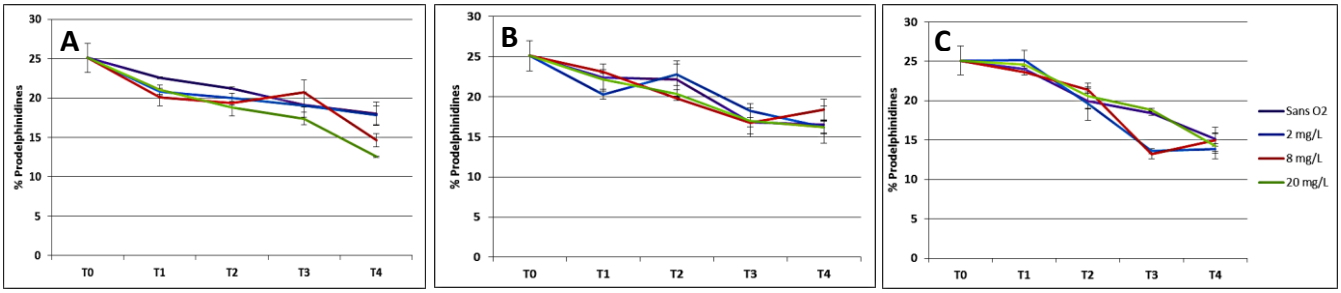


Figure 9 : Evolution du pourcentage de prodelphinidines pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois

A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 11 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 9

Prodelphinidines (%) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	25,62 **a**	1,57
	T1	20,98 **ab**	1,04
	T2	19,72 **bcd**	1,04
	T3	19,03 **bcd**	1,61
	T4	15,65 **cd**	2,45
O_2	0 mg/L	21,28 **a**	2,98
	2 mg/L	20,73 **a**	2,88
	8 mg/L	19,94 **ab**	3,89
	20 mg/L	19,21 **b**	4,38

Prodelphinidines (%) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	25,62 **a**	1,57
	T1	21,64 **b**	1,42
	T2	21,19 **b**	1,43
	T3	17,26 **c**	1,20
	T4	16,68 **c**	1,68
O_2	0 mg/L	20,65 **a**	3,87
	2 mg/L	20,97 **a**	3,42
	8 mg/L	20,37 **a**	3,78
	20 mg/L	19,98 **a**	3,64

Prodelphinidines (%) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	25,62 **a**	1,57
	T1	24,29 **ab**	1,49
	T2	19,92 **bc**	2,24
	T3	15,37 **c**	2,81
	T4	15,39 **c**	2,11
O_2	0 mg/L	20,61 **a**	4,06
	2 mg/L	19,80 **a**	5,42
	8 mg/L	19,69 **a**	5,28
	20 mg/L	20,53 **a**	4,47

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Au cours du temps, le pourcentage de prodelphinidines a tendance à diminuer pour tous les pH (figure 9 A, B et C). Globalement, le pourcentage de prodelphinidines passe de 26 à 15 % en quatre mois, soit une diminution de l'ordre de 42 %. Le temps accroît les différences. Par exemple, à pH 3, T0 et T1 sont dans le même groupe, mais T0 est différent de T2 alors que T1 est similaire à T2. On retrouve cette différenciation au cours du temps pour tous les pH (tableau 11, facteur Tps).

On notera que l'oxygène n'a un effet que pour les modalités à pH 3. Cependant il reste très faible, puisque la diminution n'est que de 10 % entre 0 et 20 mg/L d'oxygène (tableau 11, facteur O_2).

IV. Anthocyanes et indices chromatiques

Les évolutions des anthocyanes, sous leur forme libre ou polymérisée avec les tannins présents dans le vin, ont été suivies. Les anthocyanes ont en effet un impact non négligeable sur la qualité sensorielle des vins rouges, puisqu'elles participent à l'expression colorante de celui-ci. De ce fait, les indices chromatiques d'intensité colorante, de teinte, et des paramètres CIELab ont été réalisés afin de suivre l'évolution du vin rouge dans le domaine de la couleur.

1. Anthocyanes totales

Les anthocyanes totales sont dosées par décoloration au bisulfite de sodium. Les résultats sont donnés en figure 10.

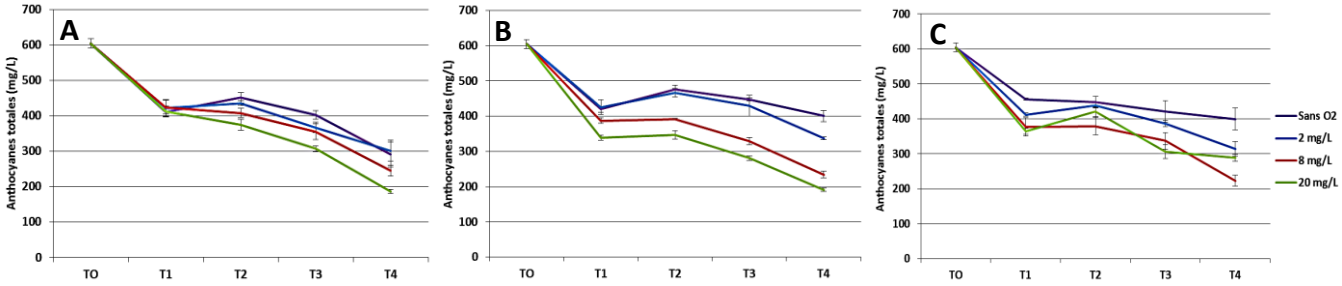


Figure 10 : Teneurs en anthocyanes totales pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 12 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 10

Anthocyanes totales (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	604,14 **a**	8,22
	T1	425,55 **ab**	28,26
	T2	414,22 **abc**	31,62
	T3	358,71 **bcd**	41,26
	T4	253,00 **d**	51,76
O_2	0 mg/L	431,69 **a**	107,72
	2 mg/L	429,66 **a**	104,19
	8 mg/L	407,36 **b**	121,46
	20 mg/L	382,62 **c**	145,19

Anthocyanes totales (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	604,14 **a**	8,22
	T1	390,08 **bc**	38,10
	T2	414,90 **ab**	56,43
	T3	365,08 **bc**	72,79
	T4	284,61 **c**	76,29
O_2	0 mg/L	469,30 **a**	76,45
	2 mg/L	449,99 **b**	95,03
	8 mg/L	389,32 **c**	125,95
	20 mg/L	357,62 **d**	137,51

Anthocyanes totales (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	604,14 **ac**	8,22
	T1	397,34 **bd**	37,11
	T2	410,33 **bc**	41,57
	T3	357,43 **bd**	47,73
	T4	298,07 **d**	65,80
O_2	0 mg/L	465,96 **a**	77,58
	2 mg/L	430,76 **b**	99,87
	8 mg/L	389,60 **c**	123,52
	20 mg/L	385,03 **c**	125,80

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les anthocyanes totales diminuent au cours du temps pour tous les pH (figure 10 A, B et C). Les teneurs diminuent de 58, 53 et 51 % de pH 3 à pH 4, respectivement (tableau 12, facteur Tps). Comme pour le vin d'IPT 61, les quantités d'anthocyanes totales diminuent davantage lorsque le pH est acide. Les anthocyanes totales diminuent également en fonction des doses d'oxygène, pour tous les pH (tableau 12, facteur O_2).

On observe une diminution des anthocyanes totales en fonction du temps et de l'oxygène comme dans le cas du vin précédent d'IPT 61. Pour le vin d'IPT 76, le pH semble plutôt influer sur le facteur temps puisque les moyennes des quantités d'anthocyanes totales à T4 toutes modalités confondues augmentent avec le pH (tableau 12, facteur Tps). Comme pour le vin d'IPT 61, ceci pourrait s'expliquer par le fait que les anthocyanes ont plutôt tendance à polymériser lorsque le milieu est acide. Ces résultats sont en adéquation avec d'autres travaux effectués précédemment (McCord, 2003; Perez-Magarino et al., 2007; Nevares et al., 2010).

2. Anthocyanes mléculaires

Les anthocyanes moléculaires sont dosées par HPLC-UV. Les résultats sont donnés en figure 11-12-13 et en tableau 13.

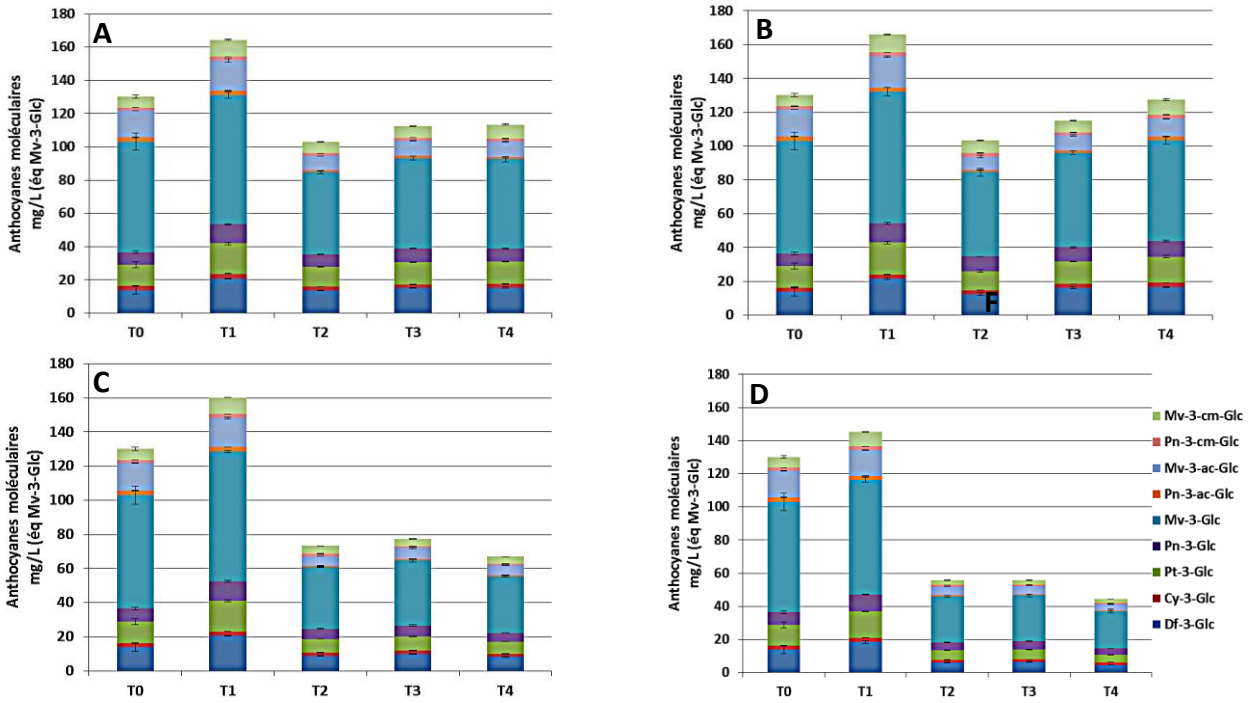


Figure 11 : Evolutions des anthocyanes moléculaires (dosage HPLC) à pH 3 sur 4 mois.

A : Sans O_2 ; **B :** 2 mg/L d'O_2 ; **C :** 8 mg/L d'O_2 ; **D :** 20 mg/L d'O_2

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

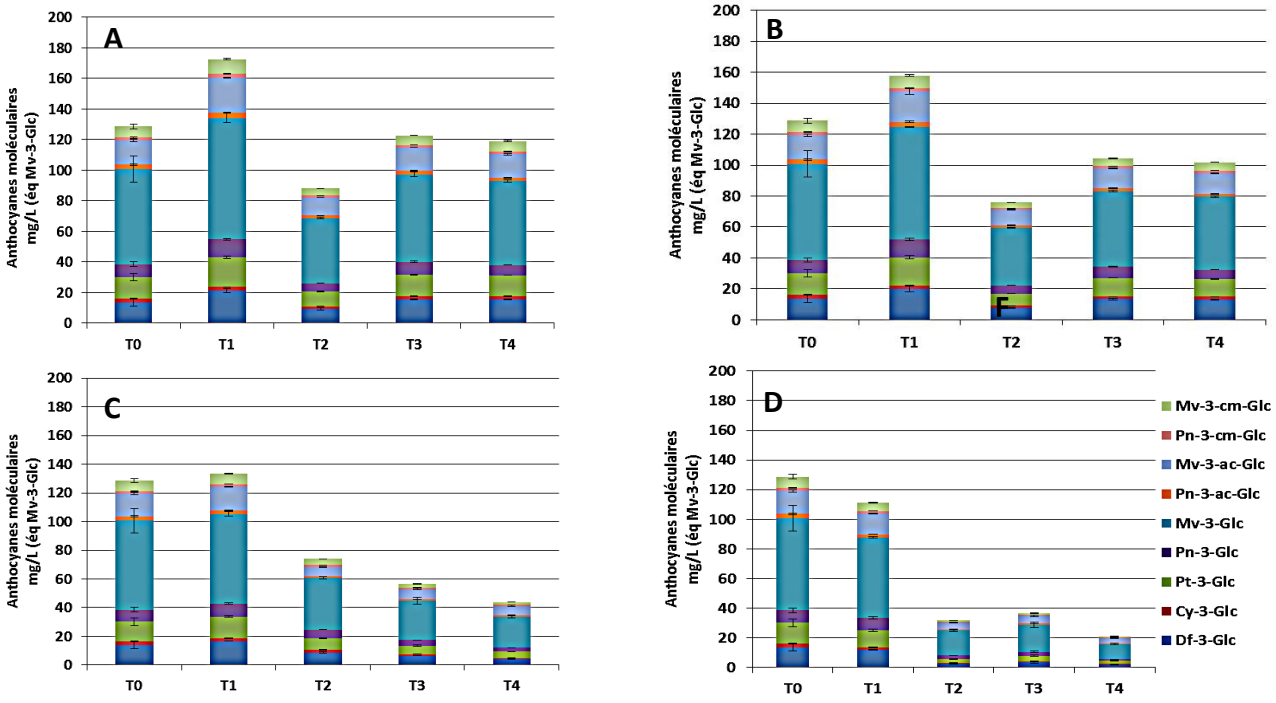


Figure 12 : Evolutions des anthocyanes moléculaires (dosage HPLC) à pH 3,5 sur 4 mois.

A : Sans O_2 ; **B :** 2 mg/L d'O_2 ; **C :** 8 mg/L d'O_2 ; **D :** 20 mg/L d'O_2

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

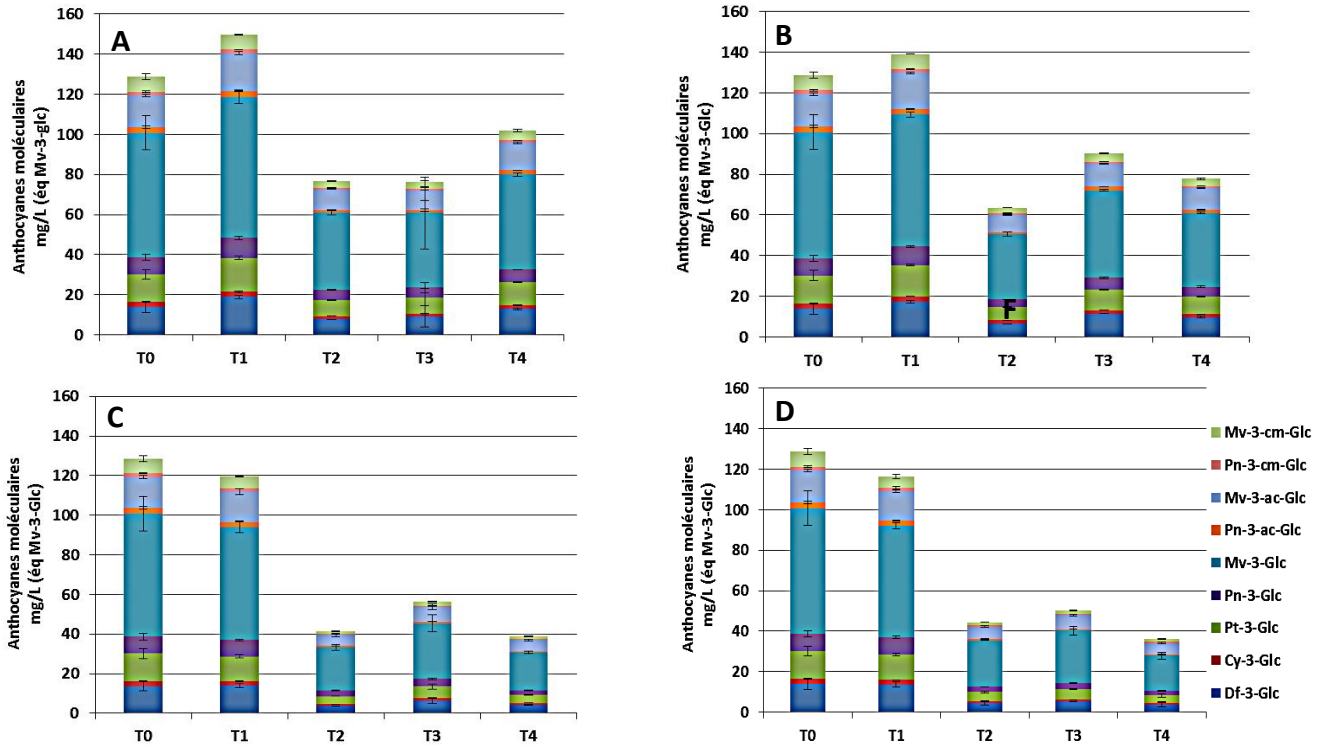


Figure 13 : Evolutions des anthocyanes moléculaires (dosage HPLC-UV) pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : Sans O_2 ; **B :** 2 mg/L d'O_2 ; **C :** 8 mg/L d'O_2 ; **D :** 20 mg/L d'O_2

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 13 : Analyses statistiques se rapportant aux figures 11, 12 et 13.

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	140,01 **a**	8,48
	T1	158,51 **a**	9,12
	T2	81,90 **b**	21,41
	T3	88,08 **b**	26,23
	T4	85,66 **b**	35,51
O_2	**0 mg/L**	126,63 **ab**	24,27
	2 mg/L	130,05 **a**	23,04
	8 mg/L	103,65 **ab**	40,15
	20 mg/L	88,26 **b**	46,38

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	140,01 **a**	8,48
	T1	141,19 **a**	23,96
	T2	65,10 **b**	23,13
	T3	76,14 **b**	35,73
	T4	65,75 **b**	42,59
O_2	**0 mg/L**	128,53 **a**	29,59
	2 mg/L	116,04 **a**	30,50
	8 mg/L	88,68 **ab**	42,55
	20 mg/L	67,60 **b**	50,45

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 4			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	140,01 **a**	8,48
	T1	129,51 **a**	14,30
	T2	54,48 **b**	15,07
	T3	66,66 **b**	22,35
	T4	61,39 **b**	26,78
O_2	**0 mg/L**	108,94 **a**	35,46
	2 mg/L	102,12 **a**	33,02
	8 mg/L	80,66 **a**	42,78
	20 mg/L	76,10 **a**	45,15

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

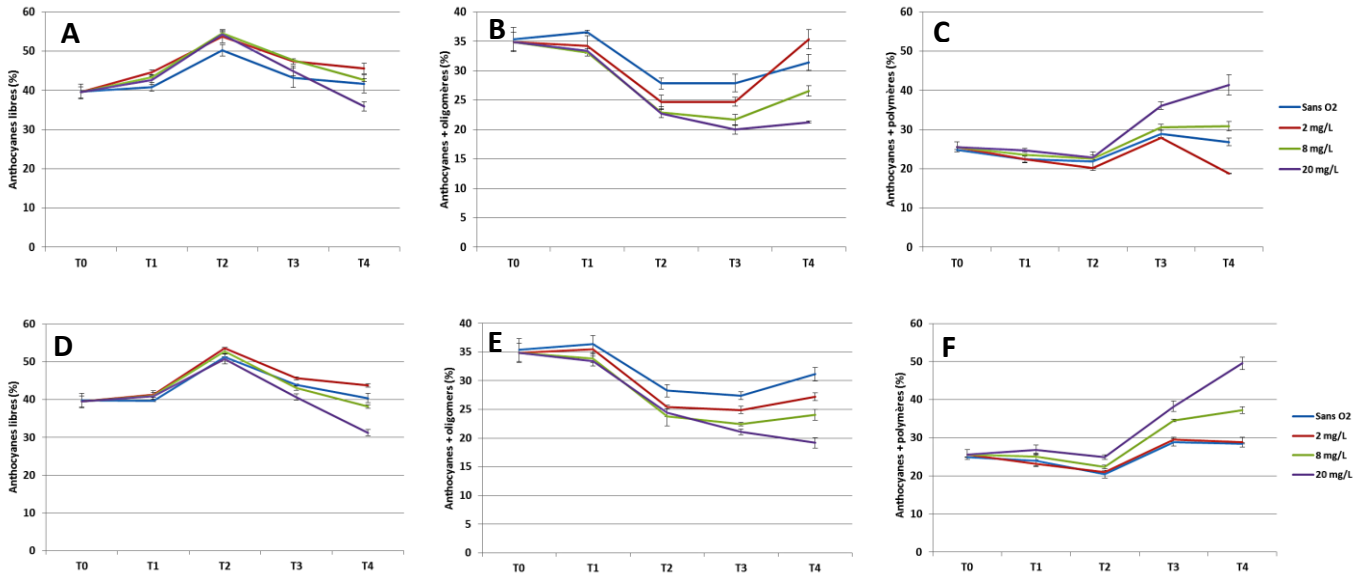
Les concentrations en anthocyanes moléculaires totales diminuent en fonction du temps, ainsi qu'en fonction des doses d'oxygène apportées (figures 11, 12 et 13). Pour tous les pH observés, plus les doses d'oxygène sont fortes et plus les concentrations diminuent. Par contre, au niveau statistique, les effets de l'oxygène sont les plus marqués à pH 3,5. Cependant, il faut avoir à l'esprit que pour la moyenne de chaque dose d'oxygène, les teneurs sont calculées avec toutes les valeurs de T0 à T4, ce qui amène obligatoirement à des écarts-types plus importants : les différences peuvent être « masquées » si les effets liés au temps sont plus importants que ceux dus à l'oxygène.

Si l'on regarde les moyennes à T4 pour chaque pH, on observe que les valeurs diminuent avec le pH (tableau 13, facteur Tps). Par comparaison lors de l'expérience précédente sur le vin d'IPT 61, les anthocyanes totales dosées par décoloration au bisulfite de sodium ainsi que la somme des anthocyanes moléculaires dosées par HPLC diminuaient plus rapidement lorsque le pH était plus acide. Une explication donnée résidait dans le fait que les réactions de polymérisations sont dépendantes de l'acidité. Dans le cadre du vin d'IPT 76, les teneurs en anthocyanes moélculaires diminuent plus fortement quand le pH augmente, alors que les anthocyanes totales (figure 10 et tableau 12) suivaient globalement la même tendance que lors du vin précédent d'IPT 61. Néanmoins, globalement, nous pouvons observer une diminution plus forte des anthocyanes moléculaires avec des quantités d'oxygène croissantes, ce qui conforte l'observation de résultats similaires dans d'autres travaux (Castellari et al., 2000; Atanasova et al., 2002; Cano-López et al., 2007; Sartini et al., 2007; Cano-López et al., 2008).

3. Anthocyanes polymérisées

Des analyses combinant la décoloration au bisulfite de sodium et la centrifugation avec de la BSA (Bovine Serum Albumine), permettent de connaître les pourcentages d'anthocyanes libres, anthocyanes combinées à des tannins oligomères ainsi que anthocyanes combinées à des tannins polymères. Les résultats sont donnés dans la figure 14 ainsi que le tableau 14 pour les tests statistiques correspondants.

De manière arbitraire, les anthocyanes sous leur forme libre sont appelées 'anthocyanes libres', celles liées à des tannins ne dépassant pas les trimères sont appelées 'anthocyanes + oligomères' et celles liées à des tannins de taille supérieure au tétramère sont appelées 'anthocyanes + polymères'.



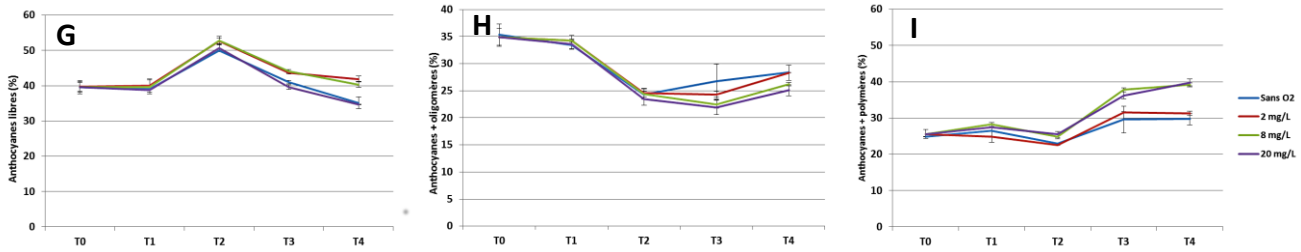


Figure 14 : Evolution des anthocyanes polymérisées pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3, % d'anthocyanes libres ; **B** : pH 3, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **C** : pH 3, anthocyanes + tannins polymères ; **D** : pH 3,5, % d'anthocyanes libres ; **E** : pH 3,5, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **F** : pH 3,5, anthocyanes + tannins polymères ; **G** : pH 4, % d'anthocyanes libres ; **H** : pH 4, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **I** : pH 4, anthocyanes + tannins polymères ;
Chaque valeur est la moyenne de 3 échantillons, 2 pour le sans oxygène.

Tableau 14 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 14.

Anthocyanes libres (%) pH 3

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	39,68 **a**	1,22
	T1	42,73 **ab**	1,53
	T2	53,48 **c**	1,90
	T3	46,06 **bcd**	2,10
	T4	41,82 **ad**	3,57
O_2	0 mg/L	43,17 **a**	4,17
	2 mg/L	45,94 **b**	4,99
	8 mg/L	45,58 **b**	5,38
	20 mg/L	43,79 **a**	6,23

Anthocyanes + oligomères (%) pH 3

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	35,27 **a**	1,25
	T1	33,55 **ab**	2,29
	T2	24,25 **c**	2,11
	T3	23,18 **c**	3,08
	T4	27,95 **bc**	5,35
O_2	0 mg/L	31,83 **a**	3,98
	2 mg/L	30,52 **a**	5,18
	8 mg/L	27,63 **a**	5,48
	20 mg/L	26,38 **a**	6,56

Anthocyanes + polymères (%) pH 3

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	24,88 **ab**	0,03
	T1	23,72 **ac**	1,72
	T2	22,27 **a**	1,50
	T3	30,76 **b**	3,11
	T4	30,23 **bc**	8,43
O_2	0 mg/L	25,00 **a**	2,91
	2 mg/L	23,50 **a**	3,14
	8 mg/L	26,75 **a**	3,62
	20 mg/L	29,78 **a**	7,59

Anthocyanes libres (%) pH 3,5

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	39,68 **a**	1,22
	T1	40,51 **a**	1,31
	T2	51,85 **b**	1,97
	T3	43,24 **ab**	2,01
	T4	37,64 **a**	5,40
O_2	0 mg/L	42,98 **a**	4,72
	2 mg/L	44,80 **a**	5,08
	8 mg/L	42,50 **b**	6,03
	20 mg/L	40,19 **b**	6,14

Anthocyanes + oligomères (%) pH 3,5

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	35,27 **a**	1,25
	T1	34,66 **a**	1,43
	T2	24,97 **b**	2,12
	T3	23,64 **b**	2,41
	T4	25,63 **b**	5,47
O_2	0 mg/L	31,70 **a**	3,96
	2 mg/L	30,20 **a**	5,12
	8 mg/L	27,89 **a**	5,78
	20 mg/L	26,50 **a**	6,87

Anthocyanes + polymères (%) pH 3,5

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	24,88 **a**	0,03
	T1	24,83 **a**	1,70
	T2	23,18 **a**	3,25
	T3	33,12 **b**	4,08
	T4	36,73 **b**	10,41
O_2	0 mg/L	25,32 **ab**	3,32
	2 mg/L	24,96 **a**	3,47
	8 mg/L	29,57 **ab**	7,00
	20 mg/L	33,28 **b**	9,87

Anthocyanes libres (%) pH 4

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	39,68 **a**	1,22
	T1	39,27 **a**	1,40
	T2	51,45 **b**	1,52
	T3	41,86 **ab**	2,31
	T4	37,39 **a**	4,11
O_2	0 mg/L	43,61 **a**	5,10
	2 mg/L	43,32 **a**	5,31
	8 mg/L	41,04 **b**	5,44
	20 mg/L	40,31 **c**	5,89

Anthocyanes + oligomères (%) pH 4

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	35,27 **b**	1,25
	T1	34,37 **b**	1,41
	T2	24,18 **a**	0,91
	T3	23,62 **a**	2,20
	T4	26,73 **c**	2,01
O_2	0 mg/L	29,76 **a**	4,67
	2 mg/L	29,60 **a**	5,24
	8 mg/L	28,59 **ab**	5,44
	20 mg/L	27,71 **b**	5,86

Anthocyanes + polymères (%) pH 4

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	24,88 **a**	0,03
	T1	26,45 **a**	1,69
	T2	24,37 **a**	1,93
	T3	34,52 **b**	4,18
	T4	35,88 **b**	5,92
O_2	0 mg/L	26,74 **a**	3,15
	2 mg/L	27,04 **a**	3,87
	8 mg/L	30,34 **a**	6,18
	20 mg/L	31,94 **a**	7,75

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les évolutions de pourcentage d'anthocyanes libres montrent des tendances similaires pour tous les pH (figure 14 A, D, G). Une augmentation du pourcentage des anthocyanes libres jusqu'à T2 est notée. Celle-ci est suivie d'une diminution jusqu'à T4 pour retrouver des valeurs proches de celles de départ (tableau 13, anthocyanes libres, facteur Tps).

Les tests statistiques montrent un effet de l'oxygène. A pH 4, plus les doses d'oxygène sont importantes et moins il y a d'anthocyanes libres (tableau 14, anthocyanes libres pH 4, effet O_2).

Les courbes d'évolution des anthocyanes + oligomères suivent une tendance relativement similaire pour tous les pH (figure 14 B, E, H) : après une diminution au cours des deux premiers mois, les valeurs se stabilisent et varient en fonction des doses d'oxygène. A pH 3 et pH 3,5 les teneurs en anthocyanes + oligomères diminuent plus fortement lorsque les doses d'oxygène augmentent (figure 14, B, E). Ces écarts en fonction de l'oxygène sont beaucoup plus faibles à pH 4 mais c'est paradoxalement pour ce pH que les différences deviennent significatives (voir tableau 14, anthocyanes + oligomères, facteur O_2).

Les anthocyanes + polymères suivent une tendance similaire quels que soient les pH pour les deux premiers mois : les valeurs sont stables (figure 14 C, F et I, et tableau 14 anthocyanes + polymères facteur Tps). Pour les mois suivants, à pH 3 et pH 3,5 les valeurs des anthocyanes + tannins polymères augmentent avec l'oxygène. Le pourcentage d'anthocyanes + polymères double à T4 entre la modalité sans oxygène et celle à 20 mg/L pour pH 3, et augmente de 66 % pour le pH 3,5 (figure 14 C, F). Dans le cas du pH 4, les valeurs d'anthocyanes + tannins polymères restent stables tout au long des 4 mois (figure 14 I). Les résultats sur les anthocyanes + polymères, à pH 3 et pH 3,5, concordent avec d'autres publications, où il a été observé que la micro-oxygénation d'un vin permet d'augmenter la quantité de pigments polymérisés (Castellari et al., 2000; McCord, 2003; del Carmen Llaudy et al., 2006; du Toit et al., 2006; Perez-Magarino et al., 2007; Kovacevic Ganic et al., 2008; Anli and Cavuldak, 2012).

Ces résultats sont intéressants car on observe deux tendances différentes : une, qui pourrait correspondre à une utilisation des anthocyanes liées aux tannins oligomères dans des formations de nouvelles structures polymères, au cours des deux premiers mois. Celle-ci serait suivie par une deuxième période, où des réarrangements moléculaires pourraient aboutir à la liaison des anthocyanes sur des unités polymères de tannins. En effet, après le T2 le pourcentage d'anthocyanes libres revient au même niveau que celui au départ. Simultanément à ceci, le pourcentage d'anthocyanes + oligomères diminue avec les doses d'oxygène tandis que celui d'anthocyanes + polymères augmente. Ces tendances sont plus nettes pour les pH 3 et pH 3,5, ce qui conforte cette possibilité de polymérisation. De plus, lors de l'expérience précédente avec le vin d'IPT 61, nous avions observé la même tendance : lors des deux premiers mois, le pourcentage d'anthocyanes libres diminue tandis que celui des anthocyanes + tannins oligomères augmente. Consécutivement à cela, entre T3 et T4 pour le vin d'IPT 61, les pourcentages d'anthocyanes libres se stabilisaient tandis que les anthocyanes + oligomères augmentent plus fortement avec moins d'oxygène. Seules les anthocyanes + tannins polymères présentent des comportements différents entre le plan d'essai du vin d'IPT 61 et celui du vin d'IPT 76, puisque pour ce dernier, il y a clairement une plus forte polymérisation à pH 3,5 et pH 4 pour les deux derniers mois. Cela n'apparait pas pour le vin d'IPT 61.

4. Intensité colorante et teinte

Les intensités colorantes permettent de connaître les intensités de couleur des vins, tandis que la teinte est l'évolution vers l'orange. Les résultats sont donnés figure 15 et tableau 14 pour l'intensité colorante, et figure 16 tableau 15 pour la teinte.

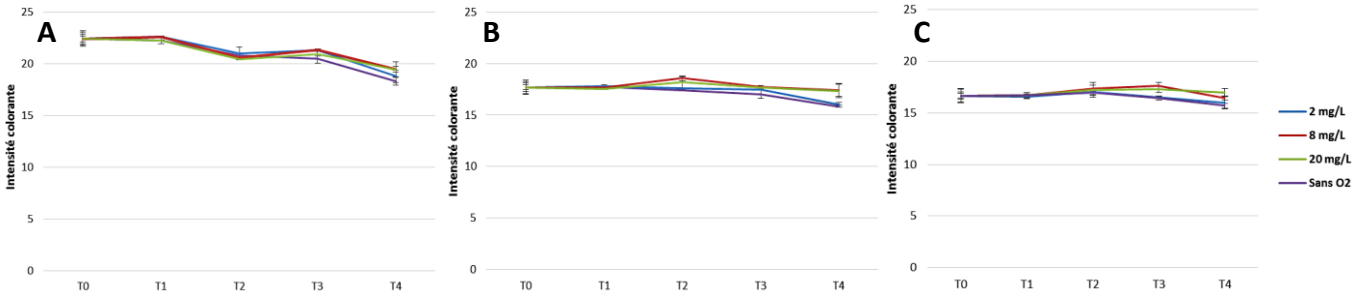


Figure 15 : Evolutions de l'intensité colorante pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 15 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 15

IC ' pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	22,4 **a**	0,2
	T1	22,4 **a**	0,2
	T2	20,7 **b**	0,4
	T3	21,1 **b**	0,4
	T4	19,1 **c**	0,7
O_2	0 mg/L	20,8 **a**	1,6
	2 mg/L	21,2 **b**	1,4
	8 mg/L	21,3 **b**	1,2
	20 mg/L	21,1 **ab**	1,2

IC ' pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	17,5 **ab**	0,4
	T1	17,7 **a**	0,1
	T2	18,2 **a**	0,8
	T3	17,6 **ab**	0,5
	T4	16,7 **b**	0,9
O_2	0 mg/L	17,1 **a**	0,8
	2 mg/L	17,3 **a**	0,7
	8 mg/L	17,9 **b**	0,7
	20 mg/L	17,7 **b**	0,7

IC ' pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	16,7 **ab**	0,2
	T1	16,7 **ab**	0,2
	T2	17,2 **a**	0,4
	T3	17,0 **ab**	0,6
	T4	16,3 **b**	0,6
O_2	0 mg/L	16,5 **a**	5,0
	2 mg/L	16,6 **a**	0,5
	8 mg/L	17,0 **b**	0,5
	20 mg/L	17,0 **b**	0,4

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les intensités colorantes ont tendance à baisser au cours du temps quels que soient les pH étudiés (figure 15 A, B et C). Les analyses statistiques montrent bien que plus le temps passe, et plus les valeurs se différencient les unes des autres (tableau 15, facteur Tps). Cependant, le pH influence les niveaux de diminution des intensités colorantes, puisque pour le pH 3, de T0 à T4, l'intensité colorante diminue de 15 %. A pH 3,5 et pH 4, elle ne diminue respectivement que de 4,6 et 2,4 %.
Les analyses statistiques montrent aussi un effet oxygène (tableau 15, facteur O_2) mais les tendances sur les graphiques liées à cet effet sont difficiles à percevoir (figure 15 A, B et C).

Il est en revanche clair que, comme précédemment dans le vin d'IPT 61, quand le pH augmente l'intensité colorante est plus faible. L'explication donnée est que les anthocyanes sont davantage présentes sous leur forme cation flavylium lorsque le pH est plus acide. Par contre, ici, on peut remarquer que l'oxygène induit une augmentation dans les intensités colorantes, mais beaucoup plus faiblement que pour le vin précédent d'IPT 61. Dans la littérature scientifique, l'augmentation de

l'intensité colorante par la micro-oxygénation est un effet qui a été rapporté (Castellari et al., 2000; McCord, 2003; del Carmen Llaudy et al., 2006; du Toit et al., 2006; Perez-Magarino et al., 2007; Kovacevic Ganic et al., 2008).

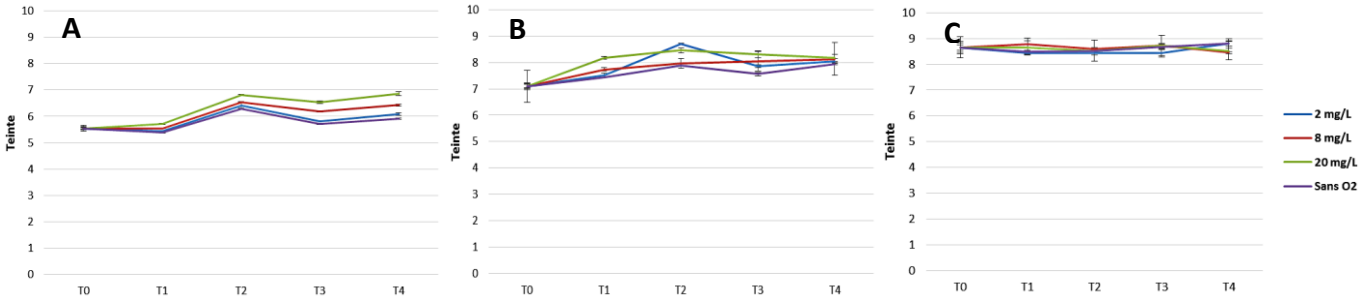


Figure 16 : Evolutions de la teinte pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 16 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 16.

Teinte pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	5,6 **ab**	0,4
	T1	5,6 **a**	0,1
	T2	6,5 **c**	0,2
	T3	6,1 **bc**	0,3
	T4	6,4 **c**	0,4
O_2	0 mg/L	5,8 **a**	0,4
	2 mg/L	5,9 **a**	0,4
	8 mg/L	6,1 **a**	0,5
	20 mg/L	6,3 **a**	0,6

Teinte pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	7,0 **a**	0,4
	T1	7,7 **b**	0,3
	T2	8,3 **c**	0,4
	T3	8,0 **bc**	0,3
	T4	8,1 **bc**	0,3
O_2	0 mg/L	7,6 **a**	0,4
	2 mg/L	7,8 **ab**	0,6
	8 mg/L	7,8 **ab**	0,5
	20 mg/L	8,0 **b**	0,6

Teinte pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	8,7 **a**	0,2
	T1	8,6 **a**	0,2
	T2	8,5 **a**	0,2
	T3	8,6 **a**	0,2
	T4	8,6 **a**	0,2
O_2	0 mg/L	8,6 **a**	0,2
	2 mg/L	8,6 **a**	0,2
	8 mg/L	8,6 **a**	0,2
	20 mg/L	8,6 **a**	0,3

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

La teinte augmente au cours du temps, particulièrement pour les pH 3 et 3,5 (figure 16 A, B). En quatre mois, elle augmente de 16 % à pH 3, et de 14 % à pH 3,5 (tableau 16, facteur Tps). Pour le pH 4, les valeurs en fonction du temps sont stables.

Les modalités d'oxygénation sont bien distinctes sur le graphique à pH 3. Les tests statistiques montrent que les différences liées à l'oxygène sont sgnificatives dans le cadre du pH 3,5 (tableau 16, effet O_2).

Ici aussi, l'effet pH est assez marqué, puisque plus il augmente et plus la teinte est forte. En moyenne, de pH 3 à pH 4, les valeurs moyennes de la teinte sont respectivement de 6,0, 7,8, et 8,6 (tableau 16). Ces résultats sont similaires avec ceux trouvés dans le vin précédent d'IPT 61, dans le sens où les variations induites par l'accroissement de pH vont dans le même sens : l'intensité colorante diminue, tandis que la teinte augmente. Ici aussi, les différences liées à l'oxygène sont plus distinctes à pH 3 et pH 3,5. Mais c'est quand même le facteur temps qui a le plus d'impact, comme montré dans des travaux précédents (del Carmen Llaudy et al., 2006).

5. Paramètres CIELab

Les paramètres CIELab permettent d'analyser la couleur sous trois composantes : la luminosité (L), le rouge (a) et le jaune (b). Les résultats sont donnés dans la figure 17, et le tableau 17.

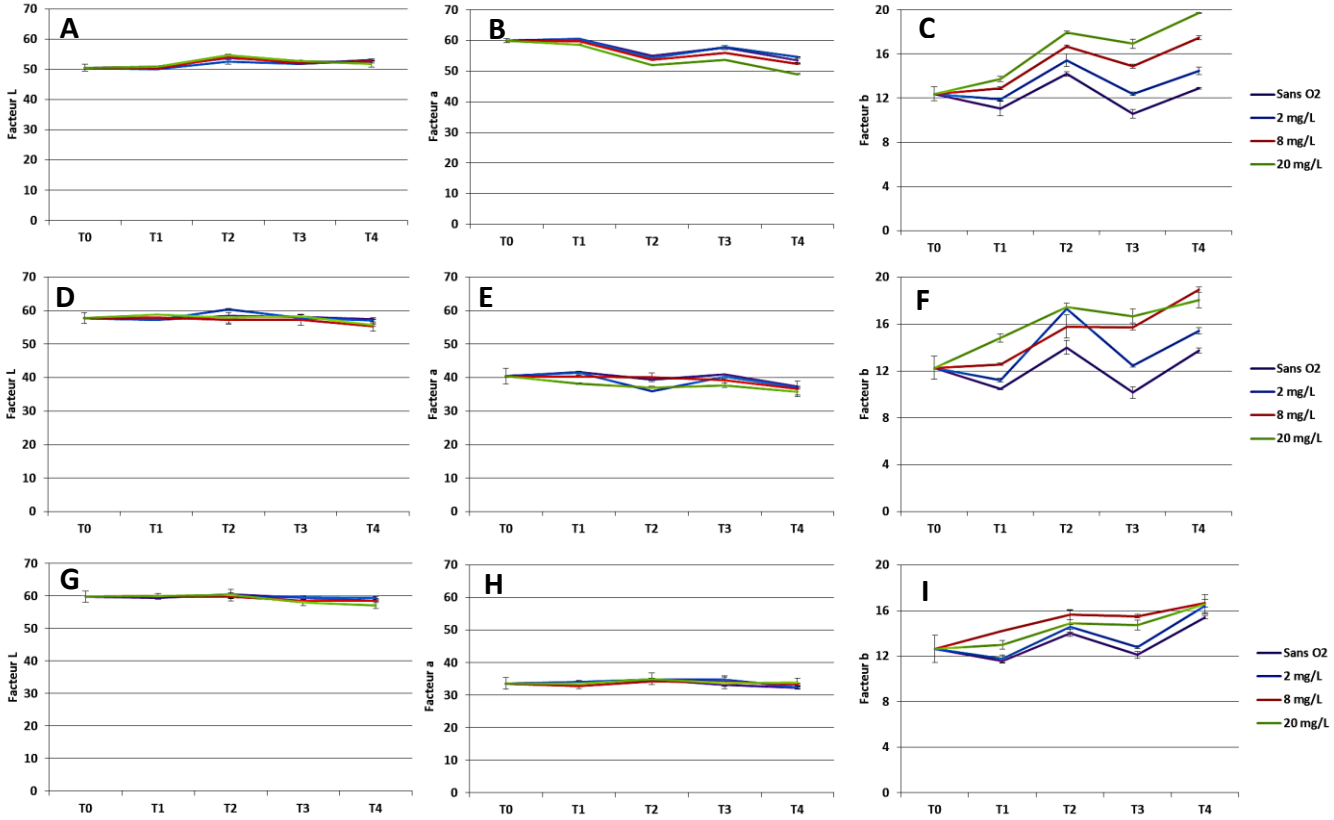


Figure 17 : Evolutions des paramètres L, a et b dans le système CIELab pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : L à pH 3 ; **B** : a à pH 3 ; **C** : b à pH 3 ; **D** : L à pH 3,5 ; **E** : a à pH 3,5 ; **F** : b à pH 3,5 ; **G** : L à pH 4 ; **H** : a à pH 4 ; **I** : b à pH 4

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 17 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 17.

L pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	50,50 **a**	0,45
	T1	50,50 **a**	0,33
	T2	53,77 **b**	0,96
	T3	52,20 **c**	0,50
	T4	52,52 **c**	0,77
O_2	**0 mg/L**	51,00 **ab**	1,30
	2 mg/L	51,62 **a**	1,28
	8 mg/L	51,91 **ab**	1,45
	20 mg/L	52,10 **b**	1,65

a pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	60,00 **a**	1,79
	T1	59,81 **a**	0,79
	T2	53,64 **b**	1,18
	T3	56,16 **ab**	1,85
	T4	52,26 **b**	2,28
O_2	**0 mg/L**	57,37 **ab**	3,05
	2 mg/L	57,45 **b**	2,80
	8 mg/L	56,34 **a**	3,32
	20 mg/L	54,67 **c**	4,33

b pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	12,00 **a**	0,89
	T1	12,51 **a**	1,03
	T2	16,23 **b**	1,43
	T3	13,98 **c**	2,45
	T4	16,44 **b**	2,68
O_2	**0 mg/L**	12,14 **a**	1,47
	2 mg/L	13,25 **ab**	1,56
	8 mg/L	14,78 **bc**	2,21
	20 mg/L	16,06 **c**	2,95

L pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	57,80 **a**	0,27
	T1	57,88 **a**	0,64
	T2	58,48 **a**	1,58
	T3	57,90 **a**	0,89
	T4	56,27 **b**	1,16
O_2	0 mg/L	57,84 **ab**	0,53
	2 mg/L	58,07 **b**	1,25
	8 mg/L	57,11 **a**	1,36
	20 mg/L	57,71 **ab**	1,29

a pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	40,40 **ab**	0,27
	T1	40,33 **b**	1,50
	T2	38,01 **ac**	1,88
	T3	39,40 **ab**	1,54
	T4	36,64 **c**	1,29
O_2	0 mg/L	39,94 **a**	1,61
	2 mg/L	39,03 **a**	2,24
	8 mg/L	39,35 **a**	1,90
	20 mg/L	37,80 **b**	1,65

b pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	12,30 **a**	0,27
	T1	12,43 **a**	1,71
	T2	16,33 **b**	1,45
	T3	13,87 **ab**	2,56
	T4	16,43 **b**	2,03
O_2	0 mg/L	12,14 **a**	1,71
	2 mg/L	13,74 **b**	2,35
	8 mg/L	14,64 **c**	2,34
	20 mg/L	15,86 **d**	2,20

L pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	59,80 **a**	0,18
	T1	59,83 **a**	0,48
	T2	60,07 **a**	0,95
	T3	58,90 **ab**	0,85
	T4	58,37 **b**	1,06
O_2	0 mg/L	59,55 **a**	0,79
	2 mg/L	59,71 **a**	0,36
	8 mg/L	59,35 **a**	0,73
	20 mg/L	59,03 **a**	1,57

a pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	33,50 **a**	0,27
	T1	33,52 **a**	0,81
	T2	34,71 **b**	0,87
	T3	34,03 **ab**	1,11
	T4	33,07 **a**	0,96
O_2	0 mg/L	33,49 **a**	0,89
	2 mg/L	33,91 **a**	1,05
	8 mg/L	33,63 **a**	0,68
	20 mg/L	33,94 **a**	1,28

b pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	12,60 **a**	0,18
	T1	12,80 **a**	1,33
	T2	15,08 **bc**	1,06
	T3	14,03 **ab**	1,68
	T4	16,58 **c**	1,06
O_2	0 mg/L	13,14 **a**	1,48
	2 mg/L	13,63 **a**	1,74
	8 mg/L	14,71 **b**	1,59
	20 mg/L	15,03 **b**	2,10

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les mesures des paramètres CIELab montrent que la composante L (luminosité) est très influencée par les variations de pH. En effet, plus le pH augmente et plus la luminosité augmente (figure 17 A, D, G). Les valeurs de luminosité moyenne entre T0 et T4 sont de 51, 57 et 58 à pH 3, pH 3,5 et pH 4 respectivement (tableau 17, facteur Tps). Ce paramètre de luminosité n'est quasiment pas influencé par les doses d'oxygène.

La composante a, qui correspond à l'intensité du rouge, est elle aussi très influencée par le pH, puisque de pH 3 à pH 4, les valeurs moyennes respectives sont de 56, 39 et 34 (tableau 17, facteur Tps). La composante a diminue au cours du temps lorsque le pH devient plus acide (figure 17). De plus, à pH 3, la diminution de la composante a se fait aussi en fonction des doses d'oxygène sur les deux derniers mois (figure 17 B).

Si l'on regarde maintenant l'évolution de la composante b, qui correspond à l'intensité du jaune dans le système CIELab, il apparait clairement que plus les doses d'oxygène augmentent et plus la composante b augmente (figure 17 C, F, I). Par contre, ces différences liées à l'oxygène diminuent quand le pH augmente. En effet, si l'on regarde les analyses statistiques de la composante b dans le tableau 16, facteur O_2, on peut voir que les tests permettent de différencier 3 groupes pour le pH 3, 4 pour le pH 3,5, mais seulement 2 pour le pH 4 (tableau 17, facteur O_2). De plus, on voit nettement sur les graphiques que les différences sont moins nettes à pH 4, en comparaison avec les pH 3 et pH 3,5 (figure 17 C, F, I).

Dans ces analyses colorimétriques, on voit bien la corrélation des résultats entre l'évolution de la teinte, figure 16, et celle de la composante b, qui correspond au jaune, figure 17 C, F, I., puisque dans les deux cas, un plus grand apport en oxygène induit une plus grande valeur de teinte et de

composante b, de même que les différences induites par l'oxygène sont dans les deux cas minimisées lorsque le pH augmente.

Ces résultats sont globalement similaires avec ceux obtenus dans le cadre du vin d'IPT 61, même si quelques différences subsistent. Par exemple, le vin précédent d'IPT 61 montrait que l'oxygène jouait un rôle minime dans la diminution de la luminosité lorsque l'acidité augmentait. Or, ici, l'effet est inexistant. En revanche, ce vin est beaucoup plus sensible à l'augmentation de la composante jaune (b) que le vin précédent d'IPT 61 : les augmentations induites par l'oxygène sont ici plus importantes et, de plus, visibles à pH 3 et pH 3,5, alors que pour le vin précédent d'IPT 61, elles ne l'étaient que pour le pH 3. Nos résultats concordent globalement avec les résultats d'autres travaux effectués auparavant, tels que (del Carmen Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011c). On notera cependant que dans le cas des travaux effectués par del Carmen Llaudy et al., 2006, le facteur temps a un effet beaucoup plus important que le facteur micro-oxygénation.

Le paragraphe suivant traite des résultats des analyses sensorielles. Au cours de cette expérience sur le vin d'IPT 76, les trois pH de la même dose d'oxygène ont été comparés afin d'évaluer les impacts d'une modification de pH pour une dose d'oxygène donnée.

V. Analyses sensorielles

Les analyses sensorielles sont réalisées chaque mois et ont pour but de suivre l'évolution du vin dans les critères sensoriels choisis, à savoir le fruité, l'oxydation, l'astringence, l'amertume, l'équilibre et l'acidité.

De plus, un classement par préférence est demandé afin de savoir quelle acidité permet d'avoir le meilleur vin pour une dose d'oxygène donnée, pour un temps donné. Les données des préférences sont indiquées lorsque celles-ci sont significatives.

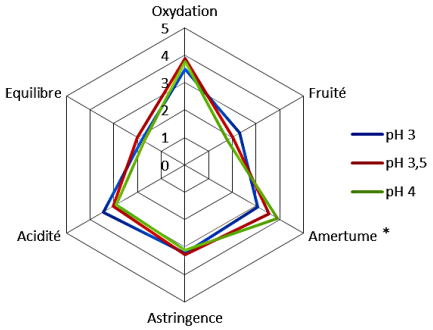


Figure 18 : Analyses sensorielles au commencement de l'expérience pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables

Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Les analyses faites au premier mois montrent déjà un effet pH, puisque plus celui-ci est acide et moins la sensation d'amertume du vin est perçue par les dégustateurs (figure 18). Sur les autres critères en revanche, les résultats sont similaires.

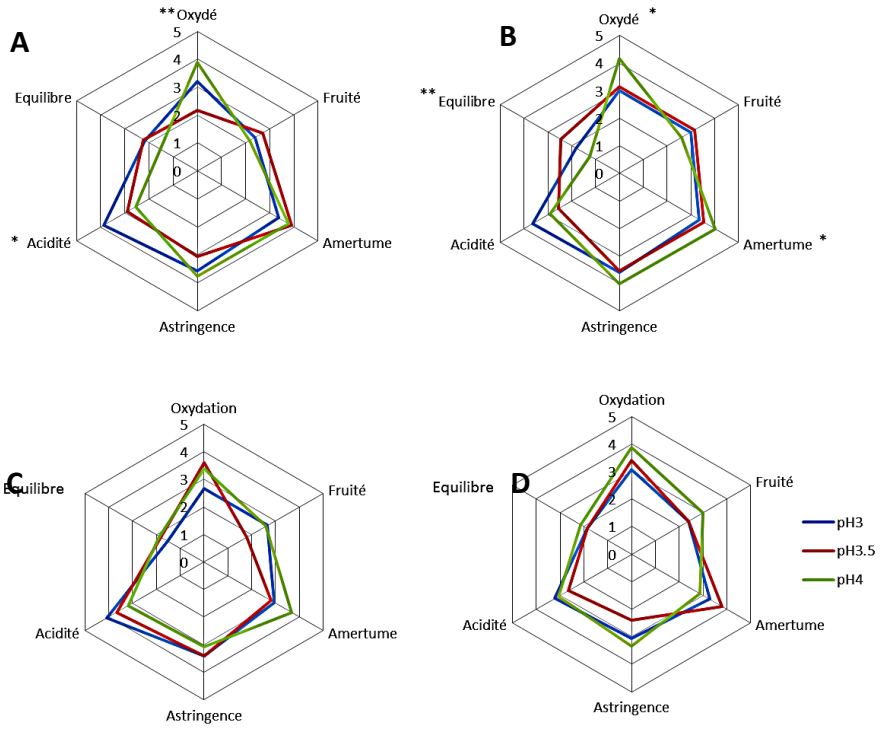


Figure 19 : Analyses sensorielles au premier mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables
A : Sans oxygène ; **B :** 2 mg/L ; **C :** 8 mg/L ; **D :** 20 mg/L
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

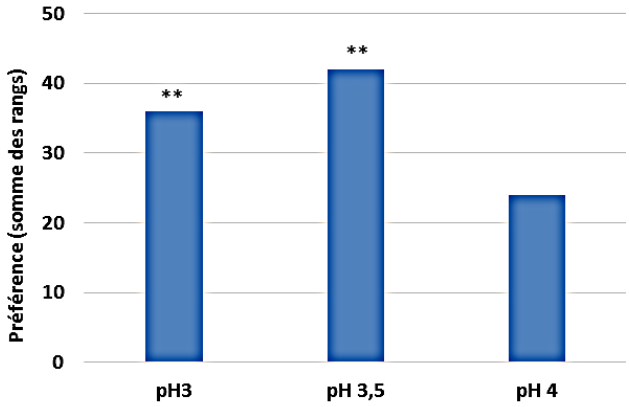


Figure 20 : Préférences sur la modalité sans oxygène au premier mois.

Dans les modalités sans oxygène et 2 mg/L d'oxygène, les pH 4 ont été perçus comme moins équilibrés (figure 19 A, B). De la même manière, dans toutes les modalités, les vins à pH 4 sont les plus oxydés, même si ce n'est significatif que pour les doses de 0 et 2 mg/L d'oxygène. Les modalités à pH 4 sont aussi perçues comme plus amères pour les modalités à 2 et 8 mg/L d'oxygène, avec un résultat significatif à 2 mg/L d'oxygène (figure 19 B, C).

D'après ces graphiques, les résultats montrent qu'à partir de 8 mg/L il n'y a plus aucun résultat significatif pour les analyses sensorielles. Ceci est d'autant vrai que pour les tests de préférences, seules les modalités sans oxygène ont des différences significatives pour les tests de préférences (figure 20), où les pH 3 et pH 3,5 sont préférés aux pH 4.

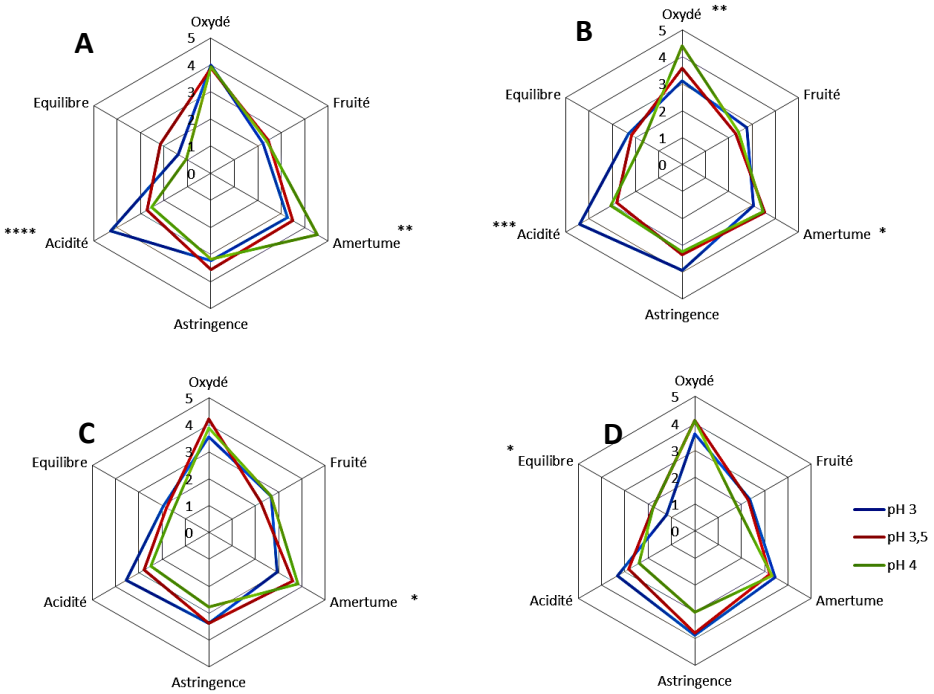


Figure 21 : Analyses sensorielles au deuxième mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables.
A : Sans oxygène ; **B :** 2 mg/L ; **C :** 8 mg/L ; **D :** 20 mg/L
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Ici aussi, nous mettons en évidence un effet du pH sur l'amertume. En effet, sur les modalités 0, 2 et 8 mg/L d'oxygène, les vins à pH 3 sont toujours considérés comme les moins amers, tandis que ceux à pH 3,5 et pH 4 sont perçus comme les plus amers (figure 21 A, B, C). De plus, comme précédemment, les effets du pH sur l'amertume s'estompent lorsque les doses d'oxygène augmentent, puisque les différences sont moins significatives de 0 à 8 mg/L d'oxygène, pour disparaître avec la modalité à 20 mg/L d'oxygène (figure 21).

On peut aussi voir cet effet de l'oxygène sur le paramètre d'acidité. En effet, les vins à pH 3 sont toujours perçus comme les plus acides pour toutes les doses d'oxygène. Cependant, la différence est moins significative à 2 mg/L d'oxygène que sans oxygène, et disparait à partir d'un apport de 8 mg/L d'oxygène.

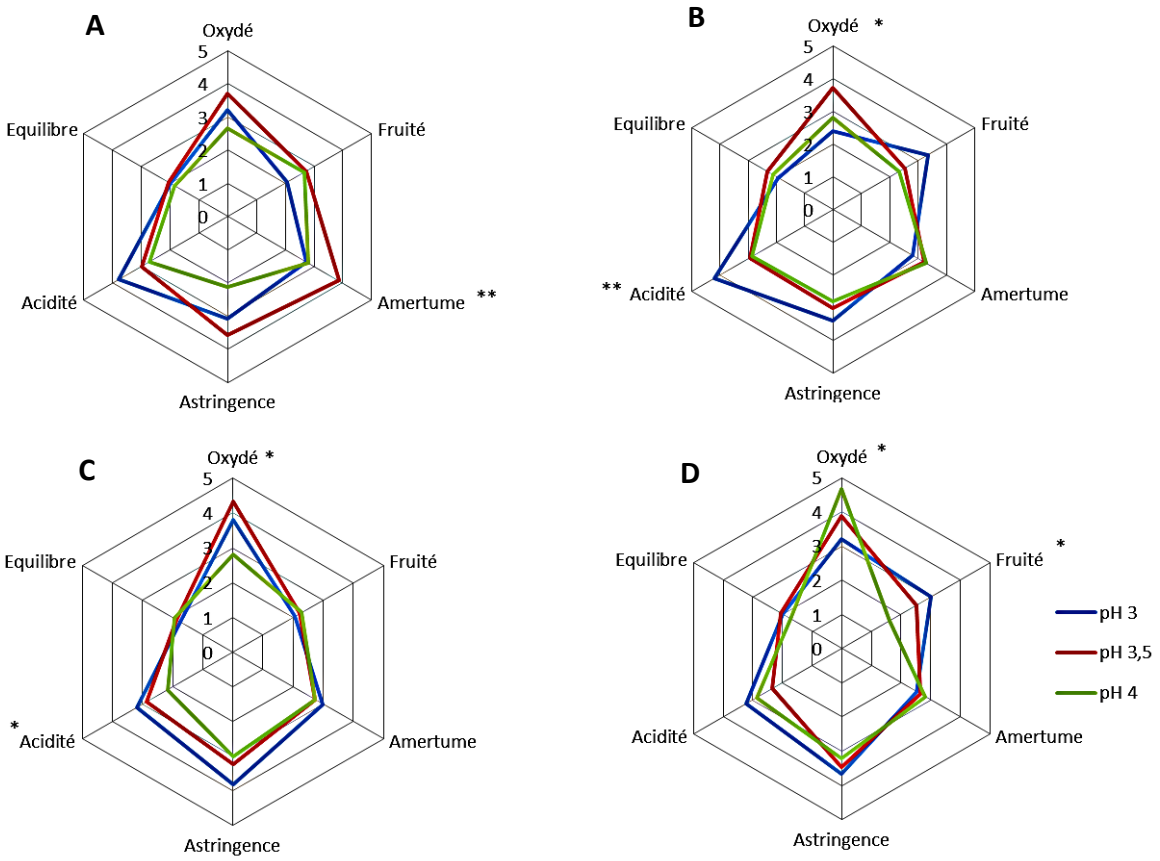


Figure 22 : Analyses sensorielles au troisième mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables.
A : Sans oxygène ; **B :** 2 mg/L ; **C :** 8 mg/L ; **D :** 20 mg/L
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Au troisième mois, aucune différence sur le paramètre d'oxydation n'apparait pour la modalité sans oxygène (figure 22 A). Par contre le pH et le niveau d'oxygène modifient la perception d'oxydation : tandis qu'à pH 4 le vin apparait comme le moins oxydé avec 8 mg/L d'oxygène, et il devient perçu comme le plus oxydé pour 20 mg/L d'oxygène (figure 22 C, D). Le pH 3,5 est classé comme le plus oxydé pour la modalité à 2 mg/L d'oxygène (figure 22 B).

Les variations de perception les plus importantes en matière d'acidité sont obtenus pour la modalité à 2 mg/L d'oxygène (variation du simple au double de la perception lorsque l'on passe de pH 3,5-4 à pH 3), puis dans celle à 8 mg/L de façon plus faible (variation proche de 50 % de la perception acide lorsque l'on passe de pH 4 à pH 3,5-3).

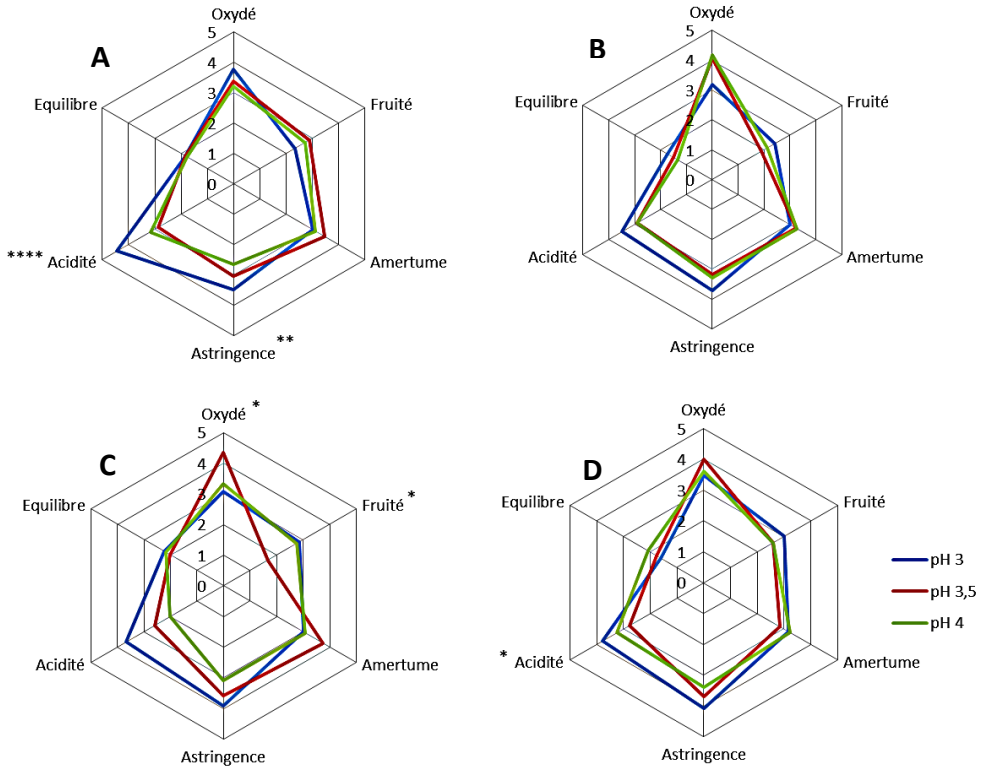


Figure 23 : Analyses sensorielles au quatrième mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables.
A : Sans oxygène ; **B :** 2 mg/L ; **C :** 8 mg/L ; **D :** 20 mg/L
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Au quatrième mois, pour l'acidité, la différence est extrêmement forte pour la modalité sans oxygène (figure 23 A). Seule la modalité à 20 mg/L d'oxygène conduit à une différence dans la perception d'acidité, mais de manière beaucoup moins importante que pour la modalité sans oxygène (figure 23 D). Seule la modalité à 8 mg/L montre la perception d'un degré d'oxydation plus fort pour le vin à pH 3,5 (figure 23 C). Toujours à pH 3,5 et pour 8 mg/L d'oxygène, la perception du fruité est nettement moins intense que pour les autres pH, d'environ 50 %.

Dans la modalité sans oxygène, le vin à pH 3 est perçu comme plus astringent et plus acide (figure 23 A).

Au quatrième mois, en plus de l'étude des pH pour chaque dose d'oxygène, la qualité sensorielle des vins a été évaluée d'une autre manière, à savoir toutes les doses d'oxygène pour chaque pH. Les résultats sont donnés dans la figure 24.

Les résultats montrent qu'à pH 3, aucun descripteur ne montre de différence en fonction des doses d'oxygène qui ont été fournies au vin (figure 24). A pH 3,5, la modalité avec 20 mg/L d'oxygène est perçue comme la plus acide, la moins équilibrée, la moins fruitée et la plus oxydée. A pH 4, la modalité à 8 mg/L d'oxygène est perçue comme plus équilibrée, et celle sans oxygène comme moins astringente.

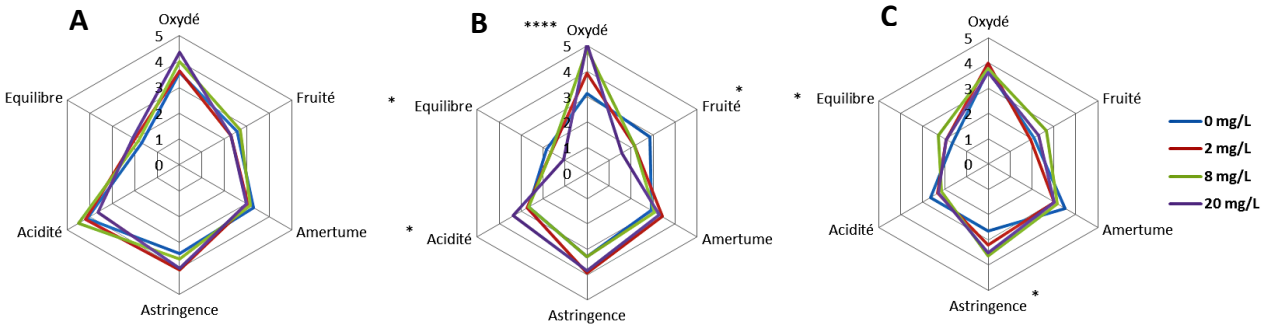


Figure 24 : Analyses sensorielles au quatrième mois pour le vin d'IPT 76 lors d'apports d'oxygène variables
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001

Dans tous les cas, les résultats sur le fruité concordent avec ceux de la littérature, pour les pH 3 et pH 4, où il n'y a pas d'impact de l'oxygène (Arfelli et al., 2011; del Carmen Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011c; Heras et al., 2008) mais ne peuvent pas concorder avec une étude où l'oxygène augmentait la perception du fruité (Cejudo-Bastante et al., 2011b). (del Carmen Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011a). L'absence d'impact de l'oxygène sur l'amertume concorde avec l'étude (Arfelli et al., 2011), mais diffère d'une autre où les vins micro-oxygénés montraient une diminution de l'amertume (Cejudo-Bastante et al., 2011a). L'oxygène apparait ne pas avoir d'impact sur l'astringence sauf à pH 4, où la perception est augmentée. Ces résultats, à pH 3 et pH 3,5, peuvent concorder avec certaines publications où l'oxygène n'a pas d'impact sur ce descripteur (De Beer et al., 2008; Sánchez-Iglesias et al., 2009; Arfelli et al., 2011; Cejudo-Bastante et al., 2011b), mais les résulats à pH 4 sur ce paramètre ne sont pas en accord avec certaines publications qui montrent une diminution de l'astringence par l'oxygène (del Carmen Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011a). Deux études montrent un effet inexistant de l'oxygène sur l'acidité, comme dans notre cas à pH 3 et pH 4 (Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011b). Cependant, à pH 3,5, la modalité à 20 mg/L d'oxygène est perçue comme plus acide. Pour terminer, au niveau de l'équilibre, seuls les vins à pH 3,5 montrent une diminution de ce descripteur avec l'oxygène.

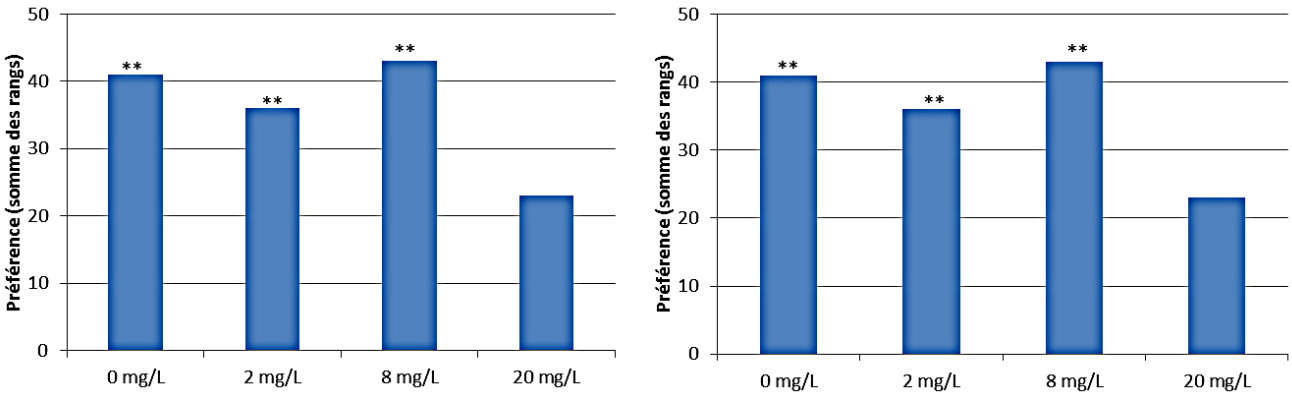


Figure 25 : Préférences au quatrième mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5

Au niveau des préférences, il apparait clair que pour les pH 3 et pH 3,5 les modalités à 20 mg/L ont été nettement moins appréciées que les trois autres modalités (figure 25 A, B). Ceci est certainement dû au caractère oxydé plus fortement présent dans la modalité à 20 mg/L d'oxygène.

Conclusion

Les résultats des analyses réalisées pour le vin d'IPT 76 montrent que les teneurs en phénols totaux augmentent au premier mois. Par contre, l'oxygène ou le pH n'ont aucun impact sur ces évolutions.

Les consommations d'oxygène sont influencées par les doses d'oxygène. De 2 à 20 mg/L d'oxygène présent dans les vins, les consommations sont multipliées par un facteur entre 4 et 5. De plus, de pH 3 à pH 4, les consommations d'oxygène pour une même dose d'oxygène sont multipliées par 2. Inversement, le SO_2 libre est moins consommé à pH 4, du fait de la présence du H_2SO_3 en plus faible quantité (équilibre pH-dépendant). Par conséquent, ces données suggèrent que le vin est nettement moins bien protégé contre les risques d'oxydation à mesure que le pH augmete.
Les teneurs en tannins totaux montrent peu d'évolutions au cours du temps, les teneurs sont proches de 4 g/L à T0 et T4. L'indice DMACH, qui réagit spécifiquement avec la première unité des tannins polymérisés, montre des diminutions liées à l'oxygène, suggérant que des réactions de polymérisation se produisent en présence d'oxygène. A pH 3, au quatrième mois, la modalité sans oxygène a un indice DMACH supérieur à celui de la modalité à 20 mg/L de l'ordre de 50 %. Ces différences sont plus importantes avec l'acidité, et quasi inexistantes à pH 4. Quant au DPm, il diminue au cours des deux derniers mois, après avoir été stable lors des deux premiers mois. Cela ne correspond pas réellement avec les données de l'indice DMACH, qui tendraient à montrer que les tannins se polymérisent ; cependant, il faut bien garder à l'esprit que dans le cas où les polymérisations se produisent sous forme de ponts éthyl ou sous forme oxydative de cycle B, l'analyse du DPm ne permet pas d'obtenir des résultats fiables de par la nature de la méthode elle-même. Les pourcentages de prodelphinidines diminuent de l'ordre de 30 % au cours du temps. L'oxygène et le pH n'ont aucun impact sur ces cinétiques.

Les anthocyanes totales diminuent d'environ 50 % en 4 mois. Cette diminution est favorisée par la présence d'oxygène dans les vins. Les anthocyanes moléculaires montrent une stabilité au cours du premier mois, puis une forte diminution de l'ordre de 50 % à partir du deuxième mois. Cette diminution continue sur les deux mois suivants de façon croissante avec les doses d'oxygène. Les pourcentages d'anthocyanes libres augmentent légèrement au cours des deux premiers mois de l'ordre de 25 %. Ensuite, elles diminuent lorsque les doses d'oxygène et l'acidité augmentent. Parallèlement à ceci, les anthocyanes se combinent aux tannins polymères à partir deu troisième mois lorsque l'acidité et l'oxygène augmentent. *In fine*, au quatrième mois, le pourcentage d'anthocyanes combinées aux tannins polymères à 20 mg/L d'oxygène est deux fois supérieur comparé à la modalité sans oxygène, à pH 3. Il est supérieur de 66 % à pH 3,5, pour ne montrer presque aucune différence à pH 4. Ces résultats suggèrent que les liaisons se font principalement sous forme de ponts éthyl, puisque leur formation nécessite la présence d'acidité et d'oxygène.

Sur les paramètres colorimétriques, on a constaté que le pH diminue l'intensité colorante, puisque les anthocyanes sont sensibles aux différences de pH et que leur forme rouge colorée (cation flavylium) est favorisée par l'acidité. Les intensités colorantes restent stables au cours du temps à pH 3,5 et pH 4. Par contre, elles diminuent d'environ 15 % à pH 3. Inversement, la teinte, qui est l'évolution du vin vers l'orange, montre une augmentation avec le pH. A pH 3, les doses d'oxygène augmentent la teinte (environ 9 % pour 20 mg/L d'oxygène). Pour les mesures dans le système CIELab, les variations sont plus importantes à pH 3, où l'oxygène fait diminuer la luminosité, la composante rouge (a) mais augmente la composante jaune (b). Au quatrième mois à pH 3, la composante jaune pour la modalité à 20 mg/L d'oxygène est le double de celle sans oxygène. Cette différence diminue avec le pH. Le pH induit des différences, puisque de pH 3 à pH 4, la composante rouge (a) diminue de 40 %, tandis que la luminosité (L) augmente de 20 %.

Comme pour le vin précédent, on remarque une forte similarité des résultats entre nos travaux et ceux d'une autre étude menée dans des conditions similaires (Kontoudakis et al., 2011). L'oxygène induit une polymérisation des tannins (diminution de l'indice DMACH) et des anthocyanes, tandis que les teneurs en anthocyanes moléculaires diminuent. Ces effets sont plus importants à pH acide. De plus, l'acidité amène une intensité colorante plus importante et une luminosité moins forte.

Au niveau des analyses sensorielles, on peut retenir que, de façon gnérale, l'amertume a plutôt tendance à être plus forte à pH 4, et pH 3,5 dans une moindre mesure. Cette tendance se retrouve aussi sur la peception d'oxydation, ce qui confirmerait les résultats qui montrent que lorsque le pH augmente, la consoommation d'oxygène est plus forte tandis que celle du SO_2 diminue. Sur la perception d'astringence, on a pu remarquer que les vins à pH 4 ont très souvent des notes plus faibles que les deux autres, mais il faut savoir que les vins à pH 3 sont perçus comme nettement plus acides, ce qui pourrait inciter les dégustateurs à les noter comme plus astringents de façon involontaire. On note peu d'effets sur le fruité et l'équilibre. Au quatrième mois, les tests sensoriels efectués en fonction des doses d'oxygène pour chaque pH montrent que les doses d'oxygène n'induisent pas de différences à pH 3. Les différences d'oxydation sont très fortement perçues à pH 3,5. De même, la modalité à 20 mg/L est perçue comme moins équilibrée, plus acide et moins fruitée, tandis que celle sans oxygène est nettement plus fruitée. A pH 4, les vins sans oxygène sont perçus comme moins astringents et ceux à 8 mg/L comme plus équilibrés. Les tests de préférences sont significatifs pour les vins à pH 3 et pH 3,5, où ceux avec les doses de 20 mg/L d'oxygène sont toujours moins préférés que les autres.

E. Essais sur un vin rouge de Merlot d'IPT 63 (« faible ») millésime 2011, enrichi en fraction d'ellagitannins

Les résultats présentés dans cette partie portent sur l'évolution d'un vin rouge de Merlot 2012 enrichi en fraction d'ellagitannins, lors d'un essai d'oxygénation contrôlée. L'évolution a été suivie sur 4 mois. Les doses d'oxygène ajoutées sont de 0, 2, 8 et 20 mg/L. Chaque dose d'oxygène a été étudiée pour 3 pH : pH 3, pH 3,5 et pH 4. Chaque modalité comprend une dose d'oxygène pour un pH donné, et a été

réalisée en triplicat. Les modalités témoins (sans oxygène) sont réalisées en réplicat. Chaque semaine, les niveaux d'oxygène sont réajustés aux niveaux de 2, 8 et 20 mg/L par l'ajout de l'oxygène consommé.

Ce vin avait une teneur polyphénolique faible, puisque son Indice en Phénols Totaux (IPT) était de 53. Nous avons choisi d'augmenter sa teneur en phénols totaux par l'ajout de 1 g/L de fraction d'anthocyanes, dont la composition est de 10 % d'anthocyanes totales et 80 % de tannins totaux (tableau 1). Après dissolution complète, les mesures au spectromètre à 280 nm ont donné un IPT de 63, rendant ainsi la richesse phénolique de ce vin comparable à celle du vin d'IPT 61 (partie C). Nous avons réalisé un essai pour un vin de Merlot d'IPT 61, et ici nous obtiendrons des résultats pour un vin de même cépage d'IPT 63, avec un apport en ellagitannins.

Tableau 1 : Composition de la fraction d'anthocyanes.

DPm	Prodelphinidines (%)	Tannins totaux (en mg/g)	Anthocyanes totales (mg/g)
3,7 ± 0,3	6,7 ± 0,1	822 ± 26,8	97,5 ± 0,5

Les valeurs sont la moyenne de deux échantillons.

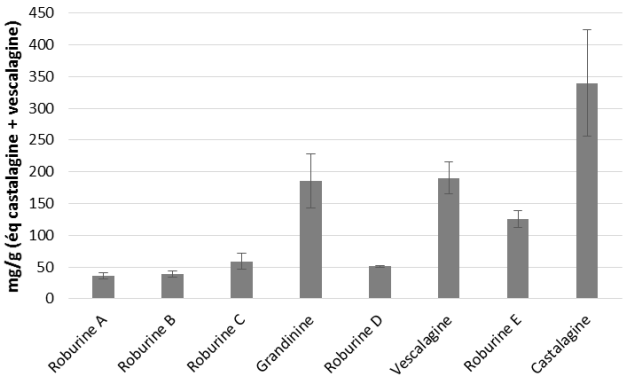


Figure 1 : Composition en ellagitannins moléculaires de la fraction d'ellagitannins.
Les valeurs sont la moyenne de deux échantillons.

Après ajout de ces deux fractions dans le vin, celui-ci a été analysé afin de déterminer sa composition de départ (tableaux 2 et 3). L'apport en fraction d'ellagitannins pour ce vin a été réalisé à raison de 120 mg/L. La composition est donnée figure 1. Cette fraction contient principalement de la castalagine, avec une teneur de 350 mg/g, suivie par la grandinine et la vescalagine (180 mg/g chacune). Les autres ellagitannins moléculaires, les roburines A, B, C et D, n'excèdent pas 50 mg/g chacune (figure 1).

Tableau 2 : Composition de départ du vin d'IPT 63.

Composés phénoliques totaux (g/L éq. Ac. Gallique)	Tannins totaux (g/L)	Anthocyanes totales (mg/L)	Anthocyanes moléculaires (mg/L)	DPm	Prodelphi-nidines (%)	pH
2,69 ± 0,02 g/L	3,38 ± 0,09	423,63 ± 29,14	197,28 ± 2,48	3,37 ± 0,08	16,90 ± 0,22	3,52

Les valeurs sont les moyennes de deux échantillons

Tableau 3 : Caractéristiques de départ du vin d'IPT 63.

Acidité totale	Acide malique	Acide lactique	Titre alcoométrique volumique	Acidité volatile
3,80 g H_2SO_4/L	0,32 g/L	1,01 g/L	12,70 % volume	0,18 g H_2SO_4/L

Les valeurs sont les moyennes de deux valeurs.

I. Evolution des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques totaux ont été suivis au cours des 4 mois. Les résultats sont présentés ci-dessous.

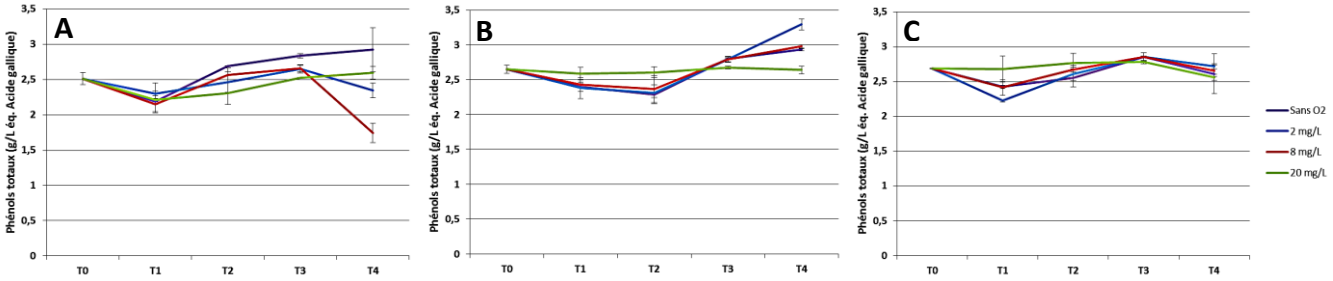


Figure 2 : Evolution des composés phénoliques totaux dans le vin d'IPT 63 au cours de 4 mois (indice de Folin-Ciocalteu) pour des apports variables d'oxygène

A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 4 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 2.

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	2,51 **ab**	0,05
	T1	2,22 **a**	0,19
	T2	2,49 **ab**	0,18
	T3	2,62 **b**	0,13
	T4	2,38 **ab**	0,42
O_2	0 mg/L	2,63 **a**	0,30
	2 mg/L	2,44 **a**	0,15
	8 mg/L	2,35 **a**	0,34
	20 mg/L	2,41 **a**	0,19

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	2,65 **ab**	0,04
	T1	2,43 **a**	0,30
	T2	2,40 **a**	0,17
	T3	2,75 **b**	0,09
	T4	2,87 **b**	0,29
O_2	0 mg/L	2,61 **a**	0,26
	2 mg/L	2,61 **a**	0,42
	8 mg/L	2,63 **a**	0,24
	20 mg/L	2,63 **a**	0,07

Phénols totaux (g/L éq. Ac. Gallique) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	2,69 **ab**	0,00
	T1	2,49 **a**	0,31
	T2	2,65 **a**	0,12
	T3	2,81 **b**	0,06
	T4	2,61 **a**	0,15
O_2	0 mg/L	2,62 **a**	0,19
	2 mg/L	2,61 **a**	0,22
	8 mg/L	2,65 **a**	0,15
	20 mg/L	2,71 **a**	0,21

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT) varient très peu au cours du temps (figure 2). La plus grande variation observée en 4 mois est de 7,7 % pour le pH 3,5 (tableau 4, facteur Tps). Les doses d'oxygène n'ont aucun impact sur l'évolution en CPT, puisque nous n'observons pas de variations significatives (tableau 4, facteur O_2). Globalement, si l'on écarte la valeur du 8 mg/L d'oxygène à pH 3 à T4 (figure 2A), on peut dire que les teneurs en polyphénols totaux ne varient pas, ni au cours du temps, ni en fonction des doses d'oxygène. Ces résultats ne concordent pas réellement

avec ceux de Cano-López et al., 2010, où les phénols totaux diminuaient au moins en fonction du temps, tandis que pour les travaux de Castellari et al., 2000, le temps ainsi que l'oxygène amenaient les teneurs des phénols totaux à diminuer.

II. Comparaison des teneurs en SO_2 et des consommations d'oxygène

1. Consommations d'oxygène

Les consommations d'oxygène ont été suivies chaque semaine afin d'évaluer les variations dans la capacité du vin rouge Merlot d'IPT 63 à consommer l'oxygène qui lui est fourni. Les résultats sont donnés dans la figure 3.

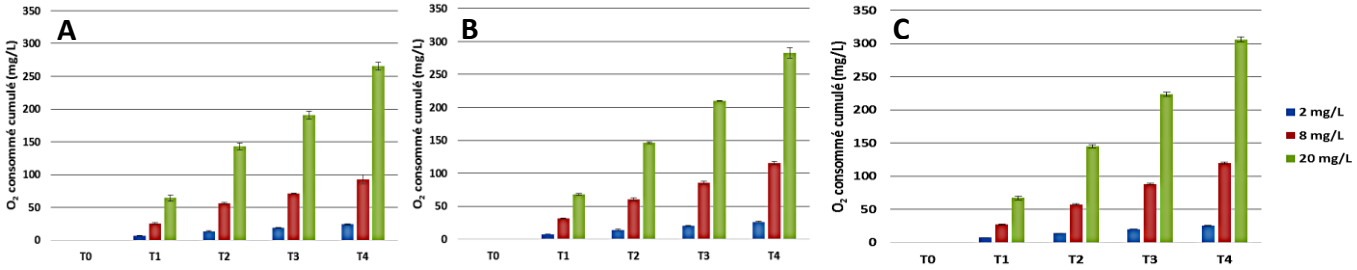


Figure 3 : Suivis des consommations cumulées d'oxygène pour le vin d'IPT 63 au cours des 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 5 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 3.

O_2 consommé cumulé (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	0,00 **a**	0,00
	T1	22,99 **ab**	25,21
	T2	57,94 **b**	58,62
	T3	76,64 **b**	78,18
	T4	104,16 **b**	109,22
O_2	0 mg/L	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	12,58 **ab**	8,79
	8 mg/L	49,12 **bc**	34,25
	20 mg/L	137,89 **c**	97,82

O_2 concommé cumulé (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	0,00 **a**	0,00
	T1	25,22 **ab**	25,76
	T2	60,18 **b**	59,75
	T3	86,06 **b**	85,73
	T4	115,68 **b**	116,04
O_2	0 mg/L	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	13,58 **ab**	9,54
	8 mg/L	58,65 **bc**	41,80
	20 mg/L	146,43 **c**	105,41

O_2 consommé cumulé (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	0,00 **a**	0,00
	T1	23,90 **ab**	25,59
	T2	59,06 **b**	59,35
	T3	90,56 **b**	91,81
	T4	123,13 **b**	126,18
O_2	0 mg/L	0,00 **a**	0,00
	2 mg/L	13,43 **ab**	9,40
	8 mg/L	58,57 **bc**	44,09
	20 mg/L	154,23 **c**	114,37

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Pour ce vin, et pour tous les pH testés, plus les doses d'oxygène ajoutées sont importantes et plus le vin est capable de consommer l'oxygène qui lui est fourni (figure 3). Ici aussi, comme dans le cas des deux vins précédents d'IPT 61 et 76, ces données prouvent que les doses d'oxygène fournies sont en-dessous des capacités maximales du vin à consommer l'oxygène.

Ce vin consomme globalement plus d'oxygène que les précédents, car il est moins sujet aux variations de pH. Pour le vin d'IPT 61, où les consommations étaient les plus fortes, les moyennes des consommations toutes modalités confondues au T4 étaient respectivement de 28, 98 et 126 mg/L (tableau 4, partie C). Or, ici, les valeurs respectives sont de 104, 116 et 123 mg/L de pH 3 à pH 4 (tableau 5, facteur Tps). Il est probable que l'ajout d'ellagitannins conduise à une augmentation de la consommation d'oxygène par ce vin.

Nous avons cependant la même tendance, à savoir l'augmentation de la consommation d'oxygène avec le pH, comme déjà observé pour d'autres travaux (Singleton, 1987; Du Toit et al., 2006).

2. Suivis des cinétiques des SO_2

Les SO_2 libre, SO_2 total et SO_2 combiné ont été suivis afin de déterminer l'incidence de l'apport d'oxygène trop forte sur le vin. Les résultats sont donnés dans les figures suivantes.

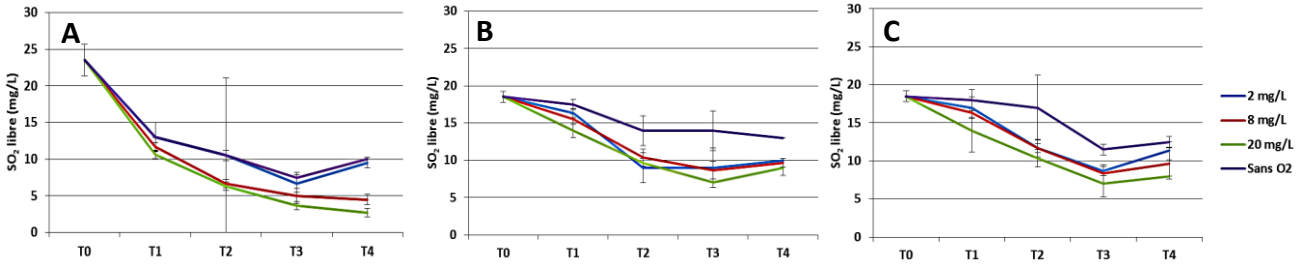


Figure 4 : Cinétiques du SO_2 libre pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 6 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 4.

SO_2 libre (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	23,50 **a**	1,34
	T1	12,20 **ab**	1,40
	T2	7,36 **bc**	4,61
	T3	5,55 **c**	1,69
	T4	5,09 **c**	3,99
O_2	0 mg/L	12,90 **a**	5,95
	2 mg/L	11,30 **ab**	8,07
	8 mg/L	9,97 **ab**	7,71
	20 mg/L	9,32 **b**	8,18

SO_2 libre (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	18,50 **a**	0,45
	T1	15,30 **ab**	2,31
	T2	10,45 **bc**	2,16
	T3	9,27 **c**	2,83
	T4	10,18 **bc**	1,60
O_2	0 mg/L	15,40 **a**	2,46
	2 mg/L	12,57 **b**	4,37
	8 mg/L	12,17 **b**	3,96
	20 mg/L	11,46 **b**	4,42

SO_2 libre (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	18,50 **a**	0,45
	T1	16,10 **b**	1,97
	T2	12,27 **c**	2,87
	T3	8,64 **d**	1,86
	T4	10,18 **d**	2,04
O_2	0 mg/L	15,50 **a**	3,44
	2 mg/L	13,10 **b**	3,78
	8 mg/L	12,90 **bc**	4,17
	20 mg/L	11,54 **c**	4,68

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

L'observation des teneurs en SO_2 libre en fonction du temps montre que les teneurs diminuent en fonction des doses d'oxygène pour tous les pH (figure 4). Ces diminutions sont fonction des doses d'oxygène. Si l'on regarde le tableau 6 (facteur O_2), on note que les moyennes des teneurs en SO_2 libre diminuent au fur et à mesure que les doses d'oxygène augmentent. En ce qui concerne les pH, il est clair que les vins à pH 3 sont ceux dont les teneurs en SO_2 libre diminuent le plus fortement, de 23,5 à

5 mg/L en 4 mois (tableau 6, facteur Tps). Les pH 3,5 et pH 4 montrent tous deux une évolution similaire, avec des teneurs en SO_2 libre passant de 18,5 à 10 mg/L en 4 mois.

La diminution des teneurs en SO_2 libre pour le vin d'IPT 63 apparait intermédiaire par rapport aux vins d'IPT 61 et d'IPT 76 : elle est plus faible que pour le vin d'IPT 61, mais plus forte que pour le vin d'IPT 76. Les résultats sont concordants avec ceux de McCord, 2003, où les vins oxygénés avaient des teneurs plus faibles en SO_2 libre.

Les évolutions des teneurs en SO_2 total ont été suivies. Les résultats sont donnés dans la figure ci-après.

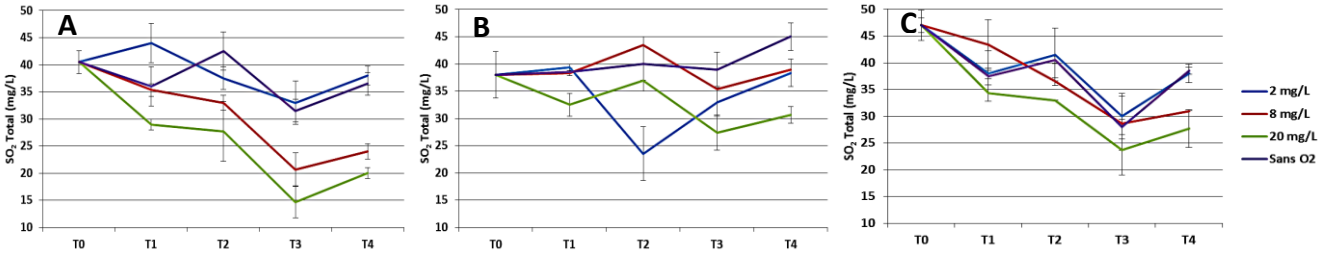


Figure 5 : Cinétiques du SO_2 total pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 7 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 5.

SO_2 total (mg/L) pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	40,50 **a**	1,34
	T1	36,30 **ab**	5,14
	T2	32,36 **b**	7,53
	T3	24,36 **b**	8,49
	T4	28,64 **b**	8,62
O_2	**0 mg/L**	37,50 **a**	4,35
	2 mg/L	37,37 **a**	5,20
	8 mg/L	29,70 **ab**	8,28
	20 mg/L	26,18 **b**	9,75

SO_2 total (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	38,00 **a**	2,68
	T1	37,50 **a**	2,80
	T2	35,18 **a**	8,12
	T3	33,27 **a**	4,90
	T4	36,91 **a**	5,65
O_2	**0 mg/L**	40,20 **a**	3,16
	2 mg/L	35,73 **a**	6,09
	8 mg/L	37,27 **ab**	4,27
	20 mg/L	32,50 **b**	4,72

SO_2 total (mg/L) pH 4			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	47,00 **a**	0,89
	T1	38,55 **ab**	4,56
	T2	34,36 **bc**	7,09
	T3	26,91 **c**	4,37
	T4	34,00 **bc**	5,23
O_2	**0 mg/L**	38,30 **a**	6,60
	2 mg/L	37,47 **a**	7,51
	8 mg/L	37,13 **a**	8,02
	20 mg/L	32,04 **b**	9,34

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les teneurs en SO_2 total diminuent au cours du temps, comme on peut le voir sur la figure 5. Les différences sur les niveaux d'oxygène sont sgnificatives, car plus les doses d'oxygène augmentent et plus les moyennes des teneurs en SO_2 total tous mois confondus diminuent (tableau 7, facteur O_2). Cependant, les diminutions en SO_2 total en fonction du pH ne semblent pas suivre de logique précise. En effet, les diminutions en SO_2 total après 4 mois pour les pH 3 et pH 4 sont proches et respectivement de 30 et 28 % (tableau 7, facteur Tps). En revanche, celle pour le pH 3,5 n'est que de 6 %. Les résultats concordent avec le travail de McCord, 2003, où les teneurs en SO_2 total étaient plus faibles pour les vins oxygénés.

Les évolutions du SO_2 combiné sont également suivies, et données dans la figure ci-dessous.

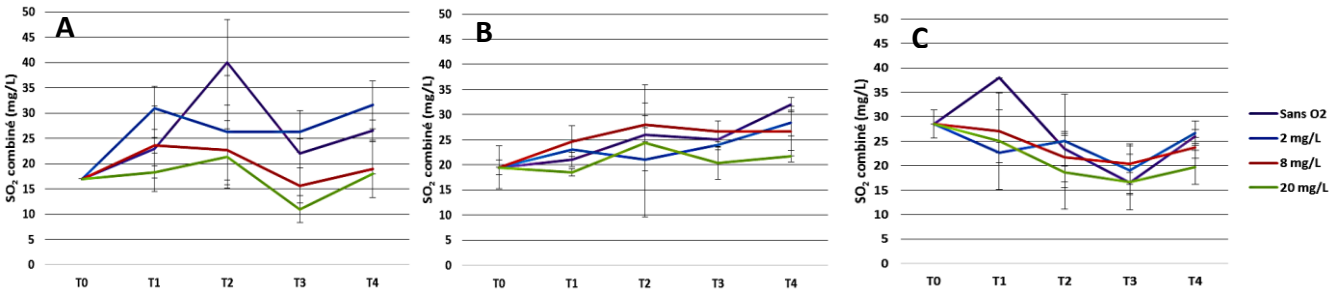


Figure 6 : Cinétiques du SO_2 combiné pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 8 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 6.

SO_2 combiné (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	17,00 **a**	0,00
	T1	24,10 **b**	4,68
	T2	25,00 **b**	7,39
	T3	18,82 **ab**	7,19
	T4	23,55 **ab**	6,80
O_2	0 mg/L	24,60 **a**	5,34
	2 mg/L	26,07 **a**	7,26
	8 mg/L	19,73 **b**	4,45
	20 mg/L	16,86 **b**	4,35

SO_2 combiné (mg/L) pH3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	19,50 **a**	2,24
	T1	22,20 **ab**	2,82
	T2	24,73 **ab**	7,23
	T3	24,00 **ab**	3,13
	T4	26,73 **b**	4,52
O_2	0 mg/L	24,80 **a**	4,80
	2 mg/L	23,17 **a**	5,49
	8 mg/L	25,10 **a**	4,99
	20 mg/L	21,04 **a**	3,42

SO_2 combiné (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	28,50 **a**	1,34
	T1	22,45 **b**	4,34
	T2	22,09 **b**	6,50
	T3	18,27 **b**	4,27
	T4	23,82 **ab**	3,66
O_2	0 mg/L	22,80 **a**	4,89
	2 mg/L	24,37 **a**	5,49
	8 mg/L	24,23 **a**	4,46
	20 mg/L	20,50 **a**	6,01

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les cinétiques du SO_2 combiné restent difficiles à interpréter (figure 6). Si l'on prend les moyennes de chaque mois (tableau 8, facteur Tps), on observe que pour les pH 3 et pH 3,5, les teneurs augmentent respectivement de 41 et 37 % au cours des 4 mois d'évolution.

III. Etude sur l'évolution des tannins

L'évolution des tannins a été suivie par plusieurs analyses complémentaires afin de voir les effets de l'apport de doses variables d'oxygène.

1. Dosage des tannins totaux

Les tannins totaux ont été dosés par hydrolyse acide (methode Bate-Smith). Les résultats sont donnés dans la figure suivante.

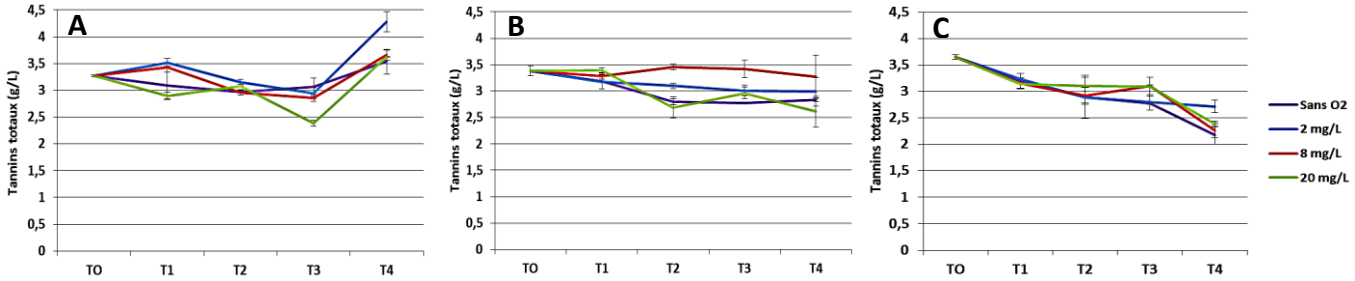


Figure 7 : Evolution des teneurs en tannins totaux (méthode Bate-Smith) pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 9 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 7.

Tannins totaux (g/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,27 **bc**	0,01
	T1	3,32 **bc**	0,29
	T2	2,98 **ab**	0,15
	T3	2,84 **a**	0,25
	T4	3,67 **c**	0,37
O_2	0 mg/L	3,18 **ab**	0,25
	2 mg/L	3,37 **b**	0,43
	8 mg/L	3,21 **ab**	0,34
	20 mg/L	3,09 **a**	0,39

Tannins totaux (g/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,39 **a**	0,06
	T1	3,24 **ab**	0,12
	T2	3,06 **ab**	0,32
	T3	3,02 **b**	0,23
	T4	2,94 **b**	0,36
O_2	0 mg/L	3,00 **a**	0,26
	2 mg/L	3,16 **ab**	0,21
	8 mg/L	3,29 **b**	0,24
	20 mg/L	3,02 **a**	0,35

Tannins totaux (g/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,65 **a**	0,03
	T1	3,12 **ab**	0,18
	T2	2,95 **bc**	0,20
	T3	2,95 **bc**	0,19
	T4	2,40 **c**	0,24
O_2	0 mg/L	2,94 **a**	0,53
	2 mg/L	3,02 **a**	0,38
	8 mg/L	3,02 **a**	0,47
	20 mg/L	3,07 **a**	0,43

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les analyses des teneurs en tannins totaux montrent, pour les vins à pH 3 (figure 7 A), une tendance à la diminution des teneurs en tannins totaux jusqu'à T3. A T4, pH 3, hormis la modalité à 2 mg/L d'oxygène les valeurs en tannins sont proches de c elles observées à T0 et T1. Pour les autres pH, plus celui-ci augmente, et plus les teneurs en tannins totaux diminuent (figure 7 B et C). Pour les vins à pH 3,5, les teneurs en tannins diminuent de 13 % en quatre mois, et de 34 % à pH 4. L'étude du facteur oxygène en revanche ne montre pas d'effet clair sur la variation des teneurs en tannins (tableau 9, effet O_2).

Ces résultats apparaissent différents en comparaison des deux autres vins d'IPT 61 et 76. Dans le cas présent du vin d'IPT 63 des variations (tendance à la diminution) liés aux pH. Or, pour les deux vins précédents, les teneurs en tannins étaient globalement stables au cours du temps, excepté une augmentation à T2 (observée dans la majorité des cas).

2. Suivis de l'indice DMACH

Le réactif DMACH réagit spécifiquement avec la première unité des tannins condensés. Ainsi, pour des teneurs égales en tannins, une baisse de cet indice signifie une augmentation dans la polymérisation. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 8.

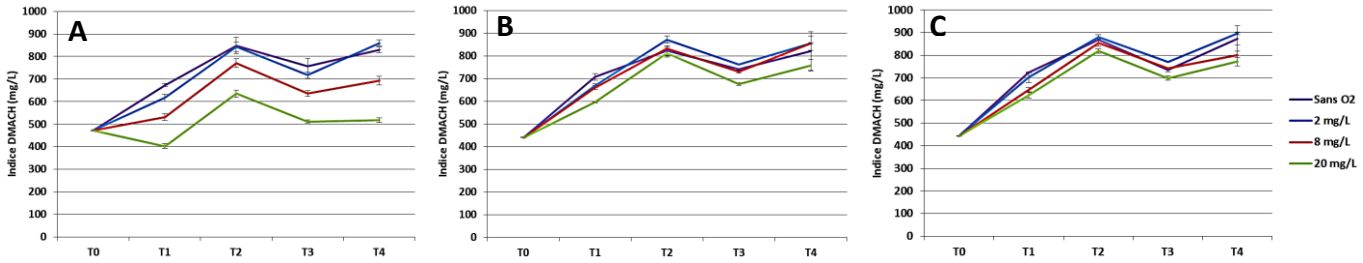


Figure 8 : Evolutions de l'indice DMACH pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 10 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 8.

DMACH (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	472,60 **a**	2,20
	T1	541,89 **a**	106,58
	T2	773,13 **b**	85,48
	T3	651,78 **b**	99,44
	T4	715,38 **b**	144,71
O_2	0 mg/L	716,03 **a**	145,03
	2 mg/L	704,80 **a**	151,00
	8 mg/L	618,17 **b**	114,71
	20 mg/L	513,17 **c**	87,08

DMACH (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	440,26 **a**	0,99
	T1	653,60 **ab**	41,47
	T2	835,45 **c**	27,50
	T3	730,04 **bc**	37,59
	T4	764,22 **bc**	145,08
O_2	0 mg/L	706,52 **a**	150,98
	2 mg/L	699,29 **a**	164,30
	8 mg/L	705,77 **a**	154,83
	20 mg/L	634,54 **b**	143,52

DMACH (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	442,87 **a**	1,22
	T1	669,56 **ab**	42,80
	T2	847,09 **c**	29,28
	T3	735,93 **bc**	28,89
	T4	820,36 **c**	60,61
O_2	0 mg/L	728,72 **a**	166,12
	2 mg/L	724,54 **a**	160,95
	8 mg/L	696,70 **b**	150,55
	20 mg/L	671,24 **b**	137,03

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Sur la figure 8, il apparait clair que l'indice DMACH est en augmentation quasi continue pour tous les pH, avec un pic au temps T2. Ainsi, au cours du temps, la proportion des premières unités de tannins condensés serait moins importante et moins réactive mais implique probablement des changements structuraux.

Les doses d'oxygène ont un effet sur l'évolution de l'indice DMACH, mais de façon beaucoup plus nette à pH 3 (figure 8 A), où plus les doses d'oxygène augmentent et plus l'indice diminue, ce qui indique une polymérisation plus importante des tannins lorsque les doses d'oxygène augmentent. D'après les analyses statistiques (tableau 10, facteur O_2), les différences significatives à pH 3 permettent de différencier 3 groupes, tandis que pour les deux autres pH, seulement deux groupes sont statistiquement différenciés.

Le vin de Merlot d'IPT 63 réagit de façon différente en comparaison avec les deux autres vins précédents d'IPT 61 et 76. En effet, sur les évolutions observées au cours des 4 mois, la plus grande variation observée pour le DMACH entre le T0 et le T4 était de 20 %, dans le cas du vin d'IPT 76 à pH 3,5. Dans tous les autres cas, les variations étaient beaucoup plus faibles. Or, ici, les augmentations de l'indice DMACH en 4 mois sont en moyenne de 70 % (tableau 10, facteur Tps). De plus, si l'on compare nos résultats obtenus dans le cadre de ce vin, avec d'autres travaux publiés comme celui de del Carmen Llaudy et al., 2006, les résultats ne concordent pas, puisque notre indice DMACH

augmente fortement au cours du temps tout en étant moins fort avec les doses d'oxygène, tandis que dans leurs travaux il est stable.

3. Suivis du DPm et du pourcentage de prodelphinidines

Les évolutions du Degré de Polymérisation moyen (DPm), ainsi que du pourcentage de prodelphinidines ont été suivies afin de savoir si les tannins subissent des modifications structurelles au cours de l'expérience. Les résultats sont donnés dans la figure suivante.

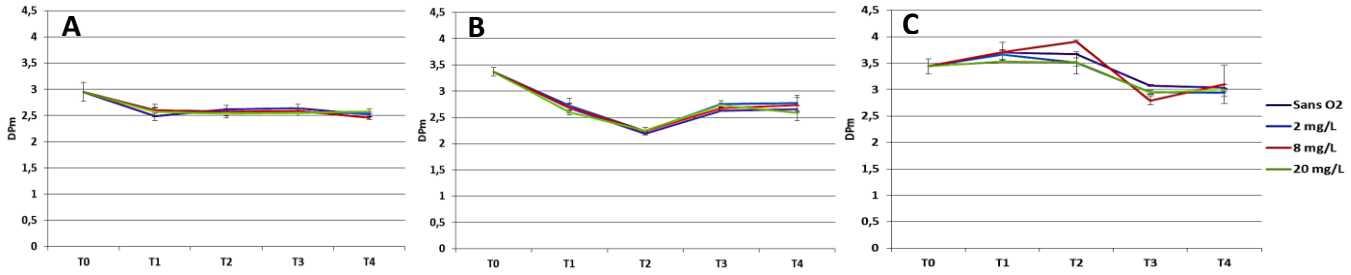


Figure 9 : Evolution du DPm pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 11 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 9.

DPm pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	2,94 **a**	0,12
	T1	2,57 **b**	0,08
	T2	2,57 **b**	0,06
	T3	2,58 **b**	0,05
	T4	2,52 **b**	0,06
O_2	0 mg/L	2,64 **a**	0,19
	2 mg/L	2,64 **a**	0,16
	8 mg/L	2,63 **a**	0,18
	20 mg/L	2,63 **a**	0,17

DPm pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,36 **a**	0,05
	T1	2,67 **b**	0,10
	T2	2,23 **c**	0,04
	T3	2,70 **b**	0,06
	T4	2,69 **b**	0,13
O_2	0 mg/L	2,70 **a**	0,40
	2 mg/L	2,77 **a**	0,38
	8 mg/L	2,74 **a**	0,38
	20 mg/L	2,71 **a**	0,38

DPm pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	3,43 **ab**	0,09
	T1	3,63 **a**	0,15
	T2	3,52 **a**	0,30
	T3	2,94 **c**	0,12
	T4	3,07 **b**	0,21
O_2	0 mg/L	3,39 **a**	0,31
	2 mg/L	3,33 **a**	0,30
	8 mg/L	3,32 **a**	0,43
	20 mg/L	3,27 **a**	0,26

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les évolutions de DPm montrent des variations en fonction du pH (figure 9). Il est clair qu'à pH 3, après une diminution de 20 % au cours du premier mois, les valeurs restent stables jusqu'à la fin de l'expérience (figure 9 A). A pH 3,5, le DPm chute de 34 % au cours des deux premiers mois. Cette diminution est suivie d'une légère augmentation au cours des deux derniers mois (figure 9 B). Quant au pH 4, les valeurs restent stables au cours des deux premiers mois, puis elles diminuent de l'ordre de 15 % (figure 9 C).

Ce vin d'IPT 63 se distingue des deux autres précédents (IPT 61 et IPT 76) par l'évolution différentielle des DPm en fonction des pH. Pour le vin d'IPT 63, les DPm varient au cours du temps, et ces variations ne sont pas identiques selon le pH du vin (figure 9). En revanche, en ce qui concerne les effets dus à l'oxygène, ce vin est identique aux deux précédents d'IPT 61 et 76, puisque les analyses statistiques ne montrent pas d'effet lié à l'oxygène (tableau 11, effet O_2). Il est possible que la présence d'ellagitannins modifie le type de polymérisation des tannins du vin ainsi que la cinétique associée.

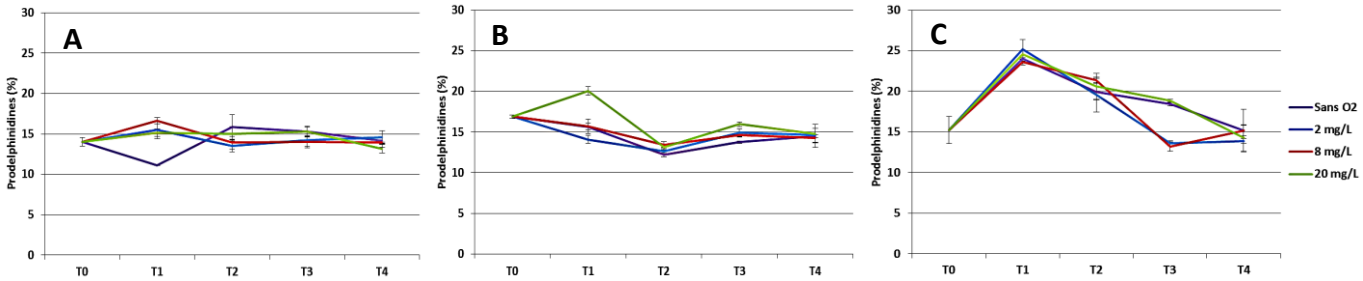


Figure 10 : Evolutions du pourcentage de prodelphinidines pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 12 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 10.

Prodelphinidines (%) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	14,00 **a**	0,33
	T1	14,92 **a**	2,05
	T2	14,46 **a**	1,21
	T3	14,64 **a**	0,86
	T4	13,93 **a**	0,88
O_2	0 mg/L	14,08 **a**	1,90
	2 mg/L	14,37 **a**	0,96
	8 mg/L	14,49 **a**	1,19
	20 mg/L	14,52 **a**	1,00

Prodelphinidines (%) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	16,90 **a**	0,14
	T1	16,02 **a**	2,17
	T2	12,91 **c**	0,55
	T3	14,91 **b**	0,84
	T4	14,56 **bc**	0,71
O_2	0 mg/L	14,60 **a**	1,70
	2 mg/L	14,63 **a**	1,50
	8 mg/L	14,99 **a**	1,37
	20 mg/L	15,87 **b**	2,15

Prodelphinidines (%) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	15,22 **ab**	1,06
	T1	24,29 **c**	1,49
	T2	19,92 **bc**	2,24
	T3	15,37 **a**	2,81
	T4	15,38 **ab**	2,11
O_2	0 mg/L	18,56 **a**	3,55
	2 mg/L	17,72 **a**	4,66
	8 mg/L	17,60 **a**	4,43
	20 mg/L	18,44 **a**	3,94

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les valeurs des pourcentages en prodelphinidines montrent une forte stabilité pour les pH 3 et pH 3,5 (figure 10 A, B). Les évolutions pour les vins à pH 4 sont plus importantes, puisque les pourcentages augmentent de 67 % au cours du premier mois pour ensuite redescendre à la même valeur que pour le T0 au cours des trois mois suivants de façon graduelle (figure 10 C). On peut dire que l'oxygène n'a aucun impact sur ces résultats. Seule la modalité à 20 mg/L d'oxygène pour le pH 3,5 est différente des autres modalités (tableau 12, facteur O_2).

Ces résultats sont différents en comparaison avec le vin précédent d'IPT 76, où les valeurs diminuaient dans tous les pH au cours du temps. Ici, les pourcentages restent stables à pH 3 et pH 3,5, tandis que de fortes variations sont visibles à pH 4.

IV. Anthocyanes et indices chromatiques

Dans le vin rouge, les anthocyanes sont une famille de molécules assez importantes puisque ce sont elles qui participent à l'expression de sa couleur. Leur évolution a été suivie, de même que l'évolution de la couleur des vins pour les différentes conditions.

1. Anthocyanes totales

Les anthocyanes totales sont quantifiées par décoloration au bisulfite de sodium. Les résultats sont donnés dans la figure ci-dessous.

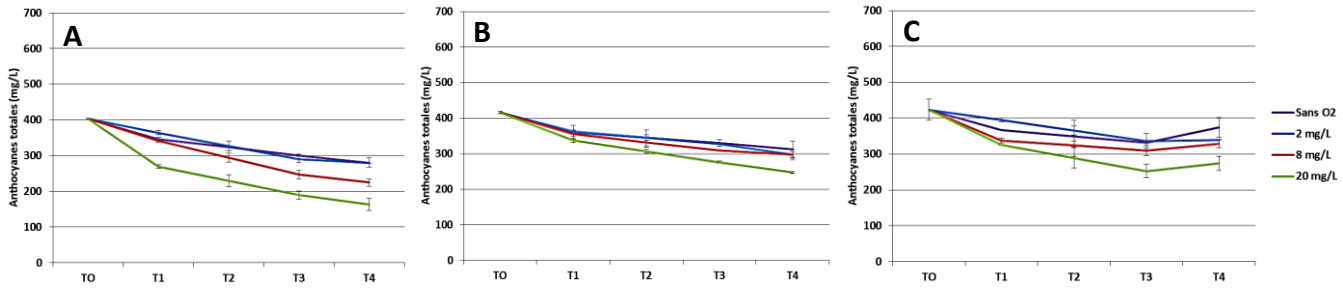


Figure 11 : Evolution des anthocyanes totales pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 13 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 11.

Anthocyanes totales (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	404,15 **a**	0,08
	T1	326,19 **ab**	41,69
	T2	289,53 **b**	43,35
	T3	252,86 **b**	46,75
	T4	241,55 **b**	65,51
O_2	0 mg/L	340,08 **a**	42,75
	2 mg/L	333,30 **a**	48,29
	8 mg/L	300,82 **ab**	67,08
	20 mg/L	249,64 **b**	87,91

Anthocyanes totales (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	415,07 **a**	2,27
	T1	349,03 **ab**	15,17
	T2	328,94 **bc**	15,91
	T3	308,84 **bc**	23,14
	T4	284,92 **c**	30,27
O_2	0 mg/L	352,23 **a**	38,61
	2 mg/L	348,28 **a**	39,19
	8 mg/L	336,06 **b**	47,43
	20 mg/L	317,84 **c**	60,44

Anthocyanes totales (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	422,64 **a**	18,51
	T1	355,41 **b**	25,54
	T2	330,33 **c**	29,62
	T3	305,26 **d**	38,44
	T4	333,18 **bc**	36,03
O_2	0 mg/L	369,29 **ab**	35,15
	2 mg/L	369,42 **a**	35,58
	8 mg/L	344,28 **ab**	43,12
	20 mg/L	321,11 **b**	63,79

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les teneurs en anthocyanes totales diminuent plus fortement à pH 3 que pour les autres pH (figure 11). Au cours des 4 mois, les diminutions de pH 3 à pH 4 sont respectivement de 40, 31 et 21 % (tableau 13, facteur Tps). Comme dans le cas des vins précédents, cette diminution plus forte avec l'acidité peut s'expliquer par le fait que les réactions de polymérisation sont favorisées en milieu acide.

L'oxygène a un effet notable sur l'évolution des teneurs en anthocyanes totales, puisque plus les doses augmentent et plus les diminutions des teneurs en anthocyanes totales sont fortes. Les différences sont statistiquement significatives (tableau 13, facteur O_2).

Ces tendances sont assez similaires avec celles observées pour les vins précédents d'IPT 61 et 76, où les teneurs en anthocyanes totales diminuaient en fonction du temps et de l'oxygène, et ce plus fortement à pH plus acide. De plus, les résultats ne sont pas éloignés de ceux publiés dans des travaux antérieurs, où il est connu que l'oxygène et le temps font chuter les teneurs en anthocyanes totales (McCord, 2003; Perez-Magarino et al., 2007; Kovacevic Ganic et al., 2008; González-del Pozo et al., 2010).

2. Anthocyanes moléculaires

Les 9 anthocyanes moléculaires majoritaires présentes dans les vins rouges ont été quantifiées par HPLC-UV. Les résultats sont donnés dans les figures 12, 13 et 14 ci-dessous.

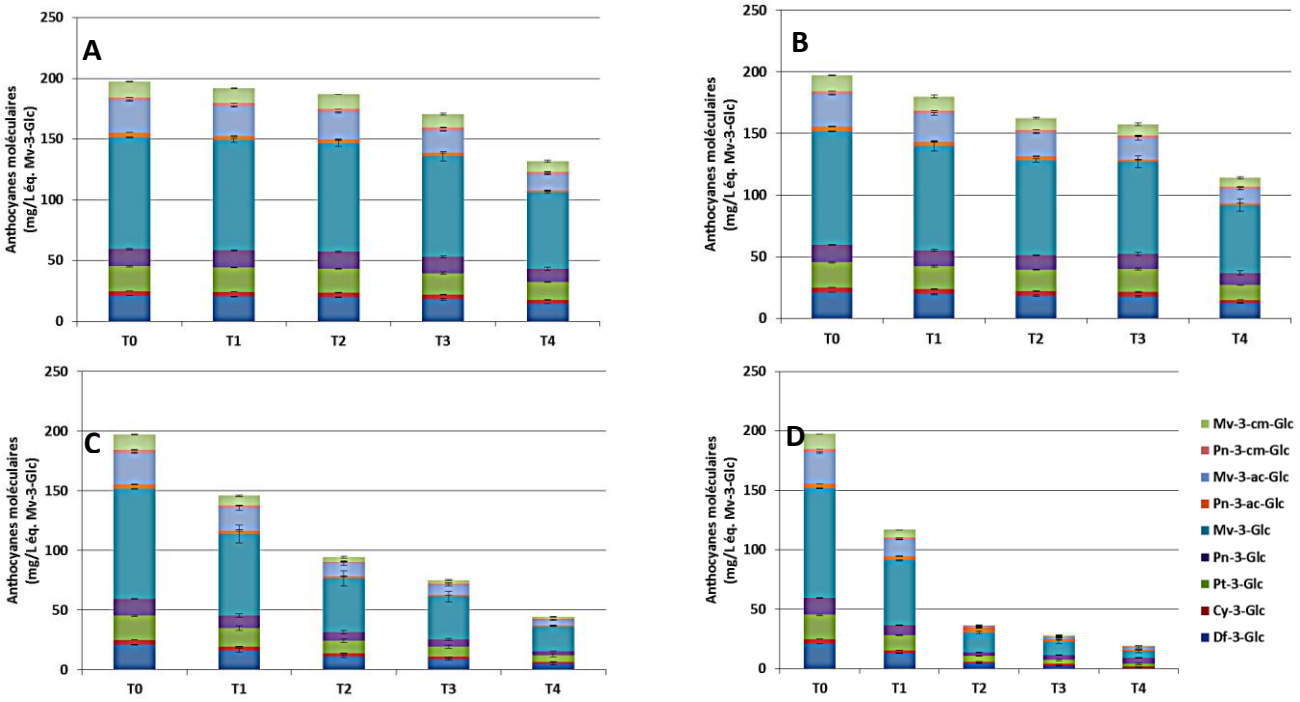


Figure 12 : Evolution des anthocyanes moléculaires à pH 3 dans le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : Sans O_2 ; **B :** 2 mg/L d'O_2 ; **C :** 8 mg/L d'O_2 ; **D :** 20 mg/L d'O_2

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

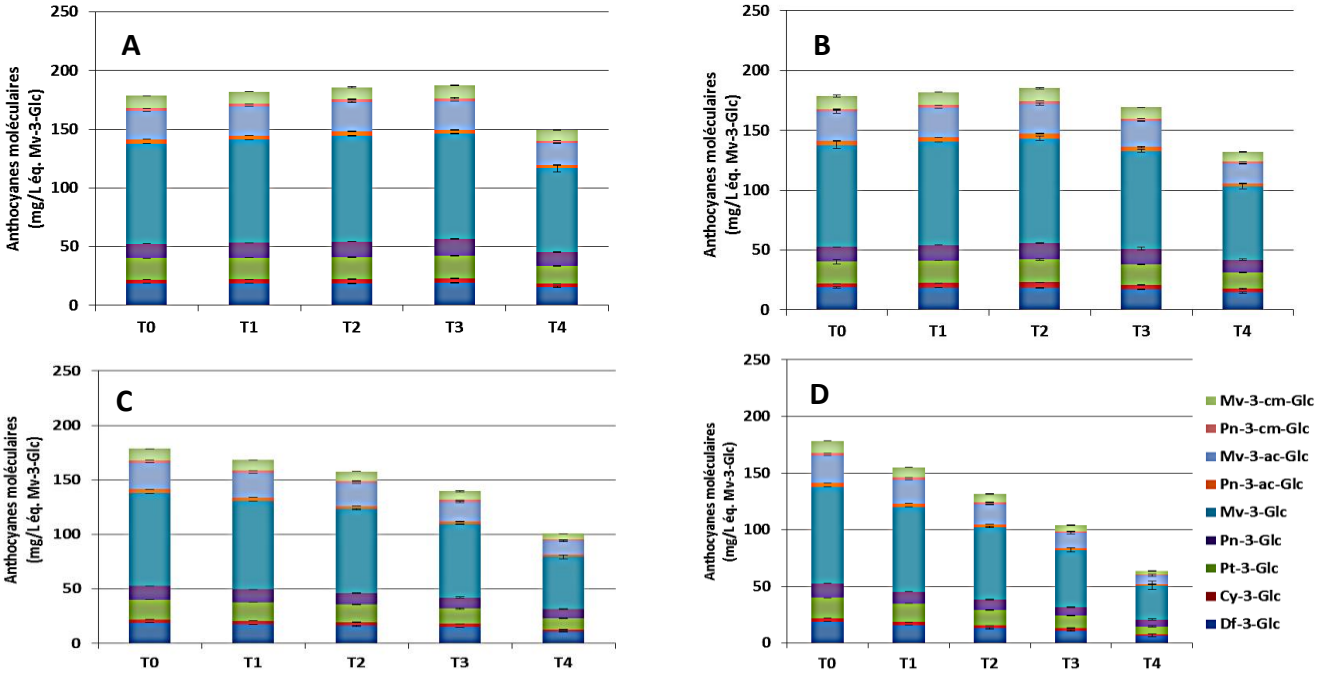


Figure 13 : Evolution des anthocyanes moléculaires à pH 3,5 dans le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : Sans O_2 ; **B :** 2 mg/L d'O_2 ; **C :** 8 mg/L d'O_2 ; **D :** 20 mg/L d'O_2

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

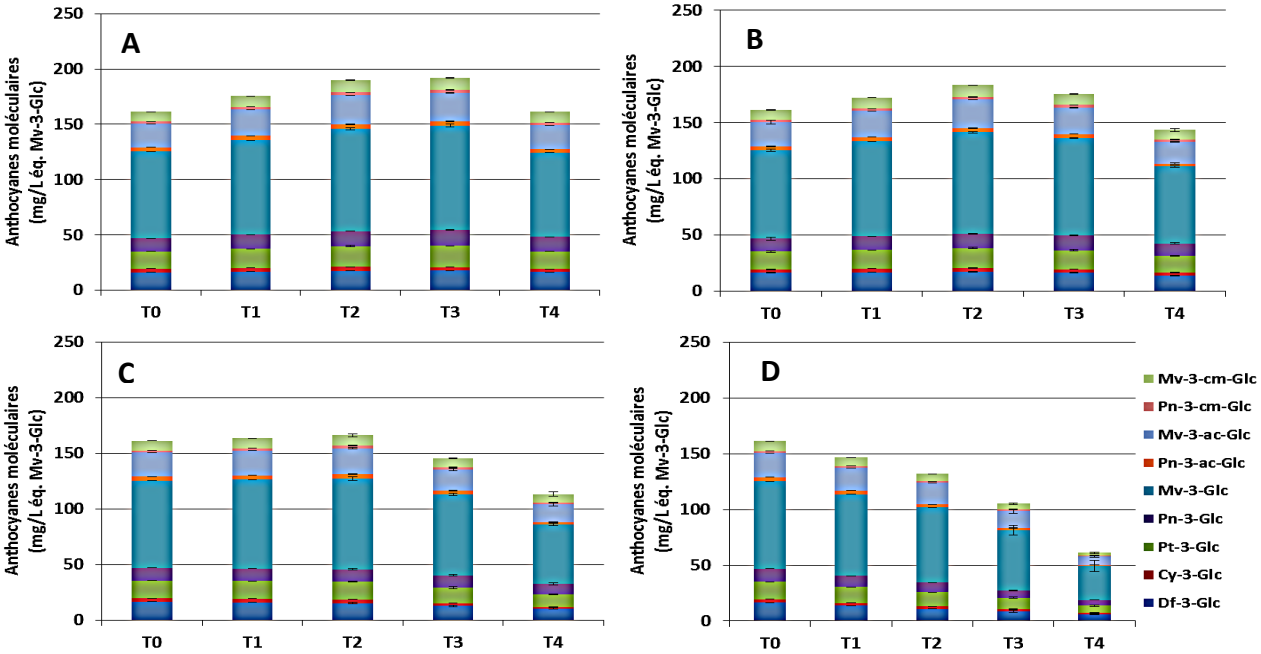


Figure 14 : Evolution des anthocyanes moléculaires à pH 4 dans le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : Sans O_2 ; **B :** 2 mg/L d'O_2 ; **C :** 8 mg/L d'O_2 ; **D :** 20 mg/L d'O_2

Mv-3-cm-Glc : malvidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Pn-3-cm-Glc :** Péonidine-3-*O*-coumaroyl-glucoside ; **Mv-3-ac-Glc :** Malvidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Pn-3-ac-Glc :** Péonidine-3-*O*-acétyl-glucoside ; **Mv-3-Glc :** malvidine-3-*O*-glucoside ; **Pn-3-Glc :** Péonidine-3-*O*-glucoside ; **Pt-3-Glc :** Pétunidine-3-*O*-glucoside ; **Cy-3-Glc :** Cyanidine-3-*O*-glucoside ; **Df-3-Glc :** Delphinidine-3-*O*-glucoside

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 14 : Analyses statistiques se rapportant aux figures 12, 13 et 14.

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	196,45 **a**	0,81
	T1	155,20 **ab**	30,47
	T2	114,00 **b**	61,00
	T3	97,55 **b**	66,96
	T4	67,51 **b**	43,24
O_2	0 mg/L	170,06 **a**	35,64
	2 mg/L	162,16 **b**	28,54
	8 mg/L	110,81 **c**	56,41
	20 mg/L	76,17 **d**	73,20

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	178,35 **a**	4,89
	T1	170,76 **a**	12,10
	T2	163,16 **a**	23,54
	T3	146,63 **ab**	32,60
	T4	107,98 **b**	33,86
O_2	0 mg/L	176,67 **a**	15,00
	2 mg/L	169,28 **b**	20,32
	8 mg/L	148,85 **c**	28,33
	20 mg/L	126,46 **d**	41,66

Antho. moléculaires totales (mg/L) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	161,11 **ab**	2,65
	T1	163,45 **a**	11,78
	T2	165,78 **a**	23,56
	T3	150,79 **ab**	34,23
	T4	115,91 **b**	39,25
O_2	0 mg/L	175,80 **a**	14,23
	2 mg/L	167,10 **b**	14,31
	8 mg/L	149,69 **c**	20,46
	20 mg/L	121,18 **d**	36,80

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Les anthocyanes moléculaires dosées par HPLC suivent globalement la même tendance que les anthocyanes totales décrites précédemment. Pour chaque pH, plus les doses d'oxygène augmentent et plus les teneurs en anthocyanes moléculaires diminuent (figures 12, 13 et 14). Par exemple à pH 3,5, les teneurs en anthocyanes moléculaires diminuent de 18 % en 4 mois dans la modalité sans oxygène, contre 65 % dans la modalité à 20 mg/L d'oxygène (figure 13).

Dans tous les cas, les tests statistiques permettent de différencier chaque modalité d'oxygénation, ce qui indique que l'oxygène a un impact très fort dans l'évolution de ces anthocyanes moléculaires (tableau 14, effet O_2). Le pH a également un impact non négligeable, puisque les diminutions des teneurs en 4 mois, toutes modalités d'oxygène confondues, sont respectivement de 65, 39 et 28 % de pH 3 à pH 4. On remarquera aussi que lorsque le pH augmente, les différences des teneurs en anthocyanes moléculaires en fonction du facteur temps apparaissent plus tardivement dans le temps (tableau 14, facteur Tps).

Ces résultats sur les anthocyanes moléculaires concordent plutôt avec ceux obtenus pour le vin d'IPT 61, où les évolutions en fonction du temps et de l'oxygène étaient importantes, ainsi que l'influence du pH où l'acidité favorisait la diminution de leurs teneurs. En comparaison avec des travaux antérieurs, ces résultats concordent (Castellari et al., 2000; Atanasova et al., 2002; Cano-López et al., 2007; Sartini et al., 2007; Cano-López et al., 2008; Kovacevic Ganic et al., 2008; González-del Pozo et al., 2010).

3. Anthocyanes polymérisées

Les diminutions observées dans le cadre des anthocyanes totales, ainsi que moléculaires indiquent que des réactions de polymérisation doivent avoir lieu au cours de l'expérimentation, puisque les diminutions des teneurs sont liées au temps, à l'oxygène ainsi qu'à l'acidité. Des analyses sur les teneurs relatives en anthocyanes polymérisées ont donc été effectuées, dont les résultats sont donnés ci-dessous.

La dénomination « anthocyanes libres » correspond aux anthocyanes se trouvant sous leur forme libre dans le milieu. Elles ne sont liées à aucun autre composé. La dénomination « anthocyanes + oligomères » correspond aux anthocyanes qui sont polymérisées à des tannins dont la taille n'excède

pas celle du trimère. Enfin, les « anthocyanes + polymères » correspondent aux anthocyanes qui sont polymérisées à des tannins dont la taille est au moins égale à celle d'un tétramère.

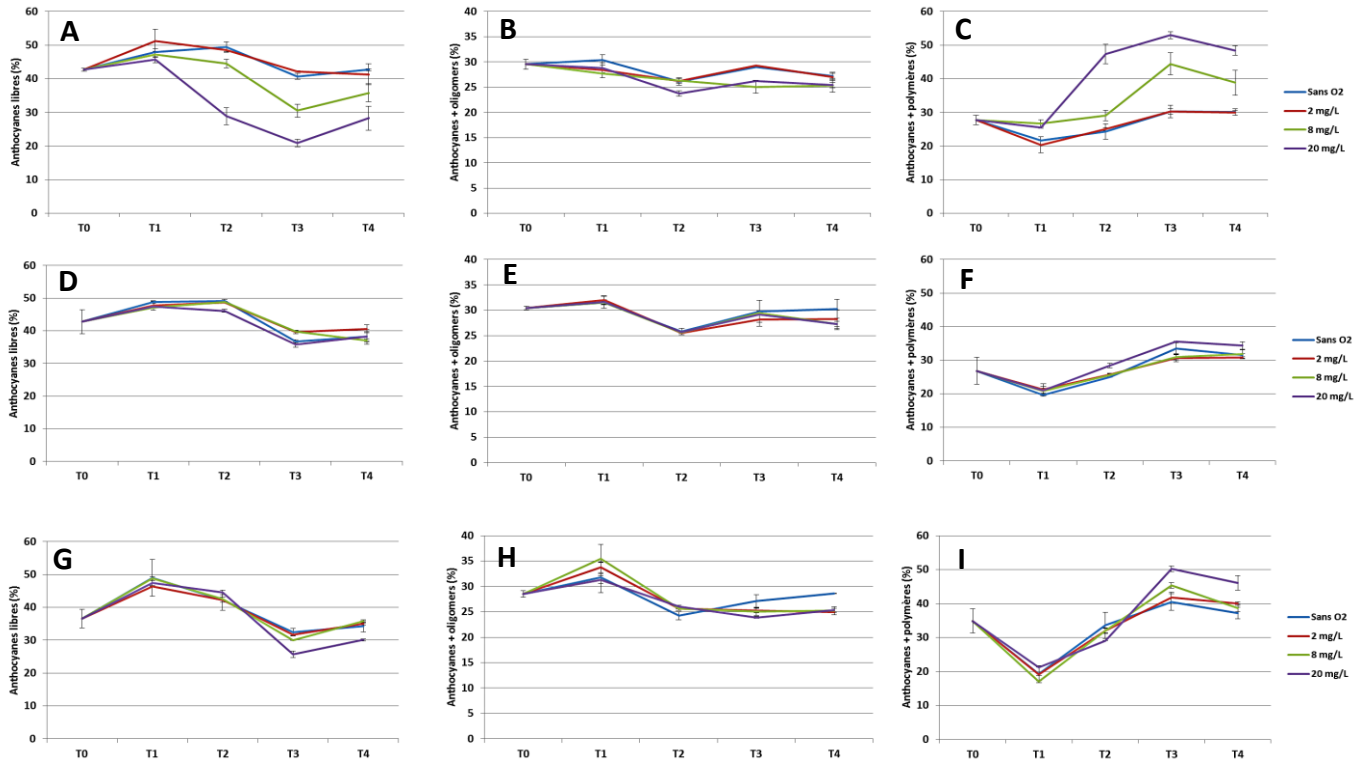


Figure 15 : Evolution des anthocyanes polymérisées dans le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.

A : pH 3, % d'anthocyanes libres ; **B** : pH 3, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **C** : pH 3, anthocyanes + tannins polymères ; **D** : pH 3,5, % d'anthocyanes libres ; **E** : pH 3,5, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **F** : pH 3,5, anthocyanes + tannins polymères ; **G** : pH 4, % d'anthocyanes libres ; **H** : pH 4, % d'anthocyanes + tannins oligomères ; **I** : pH 4, anthocyanes + tannins polymères ;

Chaque valeur est la moyenne de 3 échantillons, 2 pour le sans oxygène.

Tableau 15 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 15

Anthocyanes libres (%) pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	42,72 **ab**	0,29
	T1	48,04 **a**	2,56
	T2	42,29 **ac**	8,92
	T3	32,76 **b**	9,90
	T4	36,39 **bc**	6,46
O_2	**0 mg/L**	44,716 **a**	3,65
	2 mg/L	44,96 **a**	4,65
	8 mg/L	40,70 **ab**	5,94
	20 mg/L	32,81 **b**	10,48

Anthocyanes + oligomères (%) pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	29,54 **a**	0,60
	T1	28,54 **a**	1,34
	T2	25,56 **b**	1,24
	T3	27,38 **ab**	1,71
	T4	26,07 **b**	1,13
O_2	**0 mg/L**	28,45 **a**	1,73
	2 mg/L	27,93 **a**	1,41
	8 mg/L	26,88 **b**	1,84
	20 mg/L	26,76 **b**	2,28

Anthocyanes + polymères (%) pH 3			
Facteurs		**Moyenne**	**Ec-types**
Tps	**T0**	27,74 **b**	0,90
	T1	23,42 **a**	2,88
	T2	32,15 **c**	10,07
	T3	39,85 **d**	11,20
	T4	37,54 **d**	7,32
O_2	**0 mg/L**	26,83 **ab**	3,68
	2 mg/L	27,11 **a**	4,63
	8 mg/L	32,42 **ab**	7,09
	20 mg/L	40,43 **b**	12,24

Anthocyanes libres (%) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	42,75 **ab**	2,33
	T1	47,71 **a**	0,89
	T2	47,95 **a**	1,36
	T3	37,80 **b**	1,90
	T4	38,58 **b**	3,11
O_2	0 mg/L	43,12 **a**	5,61
	2 mg/L	43,61 **a**	4,56
	8 mg/L	42,94 **a**	5,05
	20 mg/L	42,22 **a**	4,60

Anthocyanes + oligomères (%) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	30,42 **ab**	0,21
	T1	31,52 **a**	1,12
	T2	26,09 **c**	0,74
	T3	29,13 **b**	1,19
	T4	28,08 **bc**	1,53
O_2	0 mg/L	29,58 **a**	2,28
	2 mg/L	28,85 **a**	2,13
	8 mg/L	29,03 **a**	2,32
	20 mg/L	28,90 **a**	2,08

Anthocyanes + polymères (%) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	26,83 **a**	2,53
	T1	20,77 **c**	1,20
	T2	25,96 **a**	1,39
	T3	33,07 **b**	2,68
	T4	33,35 **b**	3,66
O_2	0 mg/L	27,30 **a**	5,34
	2 mg/L	27,54 **a**	4,94
	8 mg/L	28,03 **a**	5,89
	20 mg/L	28,89 **a**	5,56

Anthocyanes libres (%) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	36,62 **ac**	1,79
	T1	47,63 **a**	2,25
	T2	42,87 **ab**	2,24
	T3	29,68 **b**	2,40
	T4	34,02 **bc**	3,08
O_2	0 mg/L	38,88 **a**	6,80
	2 mg/L	38,91 **a**	6,07
	8 mg/L	38,06 **a**	7,04
	20 mg/L	37,04 **a**	7,85

Anthocyanes + oligomères (%) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	28,51 **a**	0,43
	T1	33,41 **a**	2,12
	T2	25,71 **a**	0,95
	T3	25,38 **b**	1,45
	T4	25,82 **b**	1,93
O_2	0 mg/L	28,07 **a**	2,83
	2 mg/L	28,10 **a**	3,25
	8 mg/L	27,90 **a**	4,07
	20 mg/L	27,10 **a**	3,38

Anthocyanes + polymères (%) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	34,87 **c**	2,22
	T1	18,96 **a**	2,36
	T2	31,42 **b**	2,87
	T3	44,94 **e**	3,67
	T4	40,15 **d**	4,51
O_2	0 mg/L	33,05 **ab**	8,00
	2 mg/L	33,00 **a**	8,57
	8 mg/L	34,04 **ab**	10,56
	20 mg/L	35,85 **b**	10,64

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Sur la figure 15 B, E, H, on peut déjà remarquer que les teneurs en anthocyanes + oligomères varient relativement peu au cours du temps. En effet, pour les vins à pH 3 qui montrent la plus grande variation à ce niveau, les teneurs relatives en anthocyanes + oligomères ne diminuent que de 12 % en 4 mois. Sur ces adduits, l'oxygène semble n'avoir que très peu d'influence, puisque les différences sont significatives pour le pH 3 seulement (figure 15 B). Toutefois, à pH 3, on notera une faible diminution en anthocyanes + oligomères au cours des deux premiers mois, qui n'excède pas 14 %, suivie d'une très légère augmentation sur les deux mois suivants.

Les pourcentages d'anthocyanes libres augmentent légèrement au cours des deux premiers mois pour les pH 3,5 et pH 4, de 12 et 17 % respectivement. Ces teneurs relatives diminuent ensuite au cours des deux mois suivants (figure 15 D, G). Pour le pH 3 en revanche, les valeurs sont différenciées de façon significative dès le premier mois en fonction des teneurs en oxygène : plus les doses augmentent et plus les teneurs relatives en anthocyanes libres diminuent au cours du temps. Pour les doses de 0 et 2 mg/L d'oxygène on retrouve en moyenne près de 45 % d'anthocyanes libres, tandis que pour les doses d'oxygène variant de 8 à 20 mg/L on retrouve respectivement 41 et 33 % d'anthocyanes libres, soit une diminution de près de 25 % entre les doses de 0 et 20 mg/L d'oxygène (figure 15 A et tableau 15, facteur O_2).

Pour tous les pH une diminution du pourcentage d'anthocyanes + polymères est observée au cours du premier mois (figure 15 C, F, I), puis les évolutions dépendent des pH. A pH 3,5 et à pH 4, les valeurs en anthocyanes + polymères remontent progressivement de telle sorte que de T0 à T4, les augmentations en pourcentages d'anthocyanes + polymères sont de 22 et 14 % pour les pH respectifs de pH 3,5 et pH 4 (tableau 15, facteur Tps). Les différences liées à l'oxygène sont plus importantes, et significatives pour les vins à pH 4 (tableau 15, facteur O_2). A pH 3 en revanche, les évolutions au cours

du temps sont très nettement influencées par les doses d'oxygène fournies : plus elles sont importantes et plus le pourcentage d'anthocyanes + polymères est important (figure 15 C). L'augmentation du pourcentage en anthocyanes + polymères est de 48 % entre la modalité sans oxygène et celle à 20 mg/L d'oxygène. Il est cependant étonnant que les différences liées à l'oxygène ne soient pas plus marquées que pour le cas des vins à pH 4 (tableau 15, facteur O_2).

On soulignera l'existence de similitudes entre l'évolution des anthocyanes polymérisées dans le cadre du vin d'IPT 63, avec les deux précédents d'IPT 61 et 76. En effet, dans tous les cas, on observe un transfert possible d'une partie des anthocyanes + oligomères vers les anthocyanes libres, au cours des deux premiers mois. Cette caractéristique est présente dans les trois vins, même si elle est nettement moins marquée pour le vin d'IPT 63. En revanche à pH 3, on voit très nettement que pour le vin d'IPT 63 une partie des anthocyanes libres est utilisée pour former des anthocyanes + polymères. En réalité, ceci est aussi valable pour les autres pH : graphiquement, on peut s'apercevoir que les courbes des anthocyanes libres et celles des antocyanes + polymères sont inversées : au cours du temps, les teneurs relatives en anthocyanes libres diminuent, tandis que celles des anthocyanes + polymères augmentent d'autant. Le vin d'IPT 63 se différencie des autres, puisque d'une part, les pourcentages d'anthocyanes + polymères évoluaient peu à pH 3,5 et pH 4 pour le vin d'IPT 61, et que d'autre part, les données antérieures indiquaient qu'il y avait utilisation à la fois des anthocyanes libres et des anthocyanes + oligomères pour former les anthocyanes + polymères dans le cas du vin d'IPT 76.

Globalement, les anthocyanes + polymères ont des teneurs qui augmentent avec le temps et l'oxygène. Ceci est en accord avec d'autres travaux déjà publiés (Castellari et al., 2000; McCord, 2003; del Carmen Llaudy et al., 2006; Du Toit et al., 2006; Perez-Magarino et al., 2007; Kovacevic Ganic et al., 2008).

4. Cinétiques de formation des pyranoanthocyanes

a) Identification

Les cinétiques de formation des pyranoanthocyanes ont été suivies au cours des quatre mois. On a pu ainsi déterminer leur formation en fonction des paramètres temps, acidité et oxygène.

13 pyranoanthocyanes ont été analysées par LC-spectrométrie de masse Q-TOF (Quadripôle Time of Flight) avec validation de leur identification, comme indiqué dans le tableau 16, à savoir : vitisine A ; vitisine B ; vitisine B acétylée ; Malvidine-3-*O*-glucoside-4-vinyl(épi)catéchine ; Malvidine-3-*O*-acétylglucoside-4-vinyl(épi)catéchine ; Malvidine-3-*O*-coumaroylglucoside-4-vinyl(épi)catéchine ; Malvidine-3-*O*-glucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine ; Malvidine-3-*O*-acétylglucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine ; Malvidine-3-*O*-coumaroylglucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine ; Pyranopéonidine-3-*O*-glucoside ; Pyranopéonidine-3-*O*-acétylglucoside ; Pyranopétunidine-3-*O*-glucoside ; Pyranopétunidine-3-*O*-acétylglucoside

Tableau 16 : Identification de pyranoanthocyanes par analyses Q-TOF

Nom	Tps de rétention (min)	Différence de masse (ppm)	Formule brute	Score	Masse
Carboxypyranomalvidine-3-*O*-glucoside (Vitisine A)	8,05	0,96	$C_{26}H_{25}O_{14}$	99,79	561,1244
Pyranomalvidine-3-*O*-glucoside (Vitisine B)	7,63	-0,6	$C_{25}H_{25}O_{12}$	98,39	517,1338
Pyranomalvidine-3-*O*-acétylglucoside (Vitisine B acétylée)	7,85	1,13	$C_{27}H_{27}O_{13}$	99,04	559,1452
Malvidine-3-*O*-glucoside-4-vinyl(épi)catéchine	9,32	-0,72	$C_{40}H_{37}O_{18}$	97,57	805,1968
Malvidine-3-*O*-acétylglucoside-4-vinyl(épi)catéchine	9,60	-0,26	$C_{42}H_{39}O_{19}$	96,59	847,2078
Malvidine-3-*O*-coumaroylglucoside-4-vinyl(épi)catéchine	9,78	-2,02	$C_{49}H_{43}O_{20}$	94,33	951,2323
Malvidine-3-*O*-glucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine	7,50	-0,98	$C_{55}H_{49}O_{24}$	93,1	1093,2608
Malvidine-3-*O*-acétylglucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine	7,68	6,08	$C_{57}H_{51}O_{25}$	73,1	1135,2649
Malvidine-3-*O*-coumaroylglucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine	8,50	1,64	$C_{64}H_{55}O_{26}$	94,9	1239,2961
Pyranopéonidine-3-*O*-glucoside	7,48	1,4	$C_{24}H_{23}O_{11}$	99,24	487,1242
Pyranopéonidine-3-*O*-acétylglucoside	7,78	0,18	$C_{26}H_{25}O_{12}$	77,55	529,1319
Pyranopétunidine-3-*O*-glucoside	7,08	1,84	$C_{24}H_{23}O_{12}$	96,04	503,1193
Pyranopétunidine-3-*O*-acétylglucoside	7,33	-3,85	$C_{26}H_{25}O_{13}$	90,38	545,1269

La plupart des molécules identifiées possèdent des scores élevés, ce qui indique que les molécules identifiées doivent être celles recherchées. Tous les scores sont au-dessus de 90, excepté celui de la pyranopéonidine-3-*O*-acétylglucoside qui n'est que de 77,5 et de la malvidine-3-O-glucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine acétylée avec un score de 73,1 (tableau 16). De même, les différences de ppm, qui calculent les écarts de masse entre celle la formule brute et la molécule analysée par le Q-TOF, sont inférieures à 2 pour tous les composés, excepté pour la pyranopétunidine-3-*O*-acétylglucoside dont le score est de 3,85, et pour la malvidine-3-O-glucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine acétylée dont la différence est de 3,08 (tableau 16). Ces valeurs qui peuvent être considérées comme très bonnes nous incitent à penser que les molécules détectées correspondent à celles recherchées.

Les analyses quantitatives ont été effectuées par injections HPLC-ESI-MS en utilisant l'acide chlorogénique comme étalon interne. Des exemples de chromatogrmmes obtenus sont donnés en figure 16.

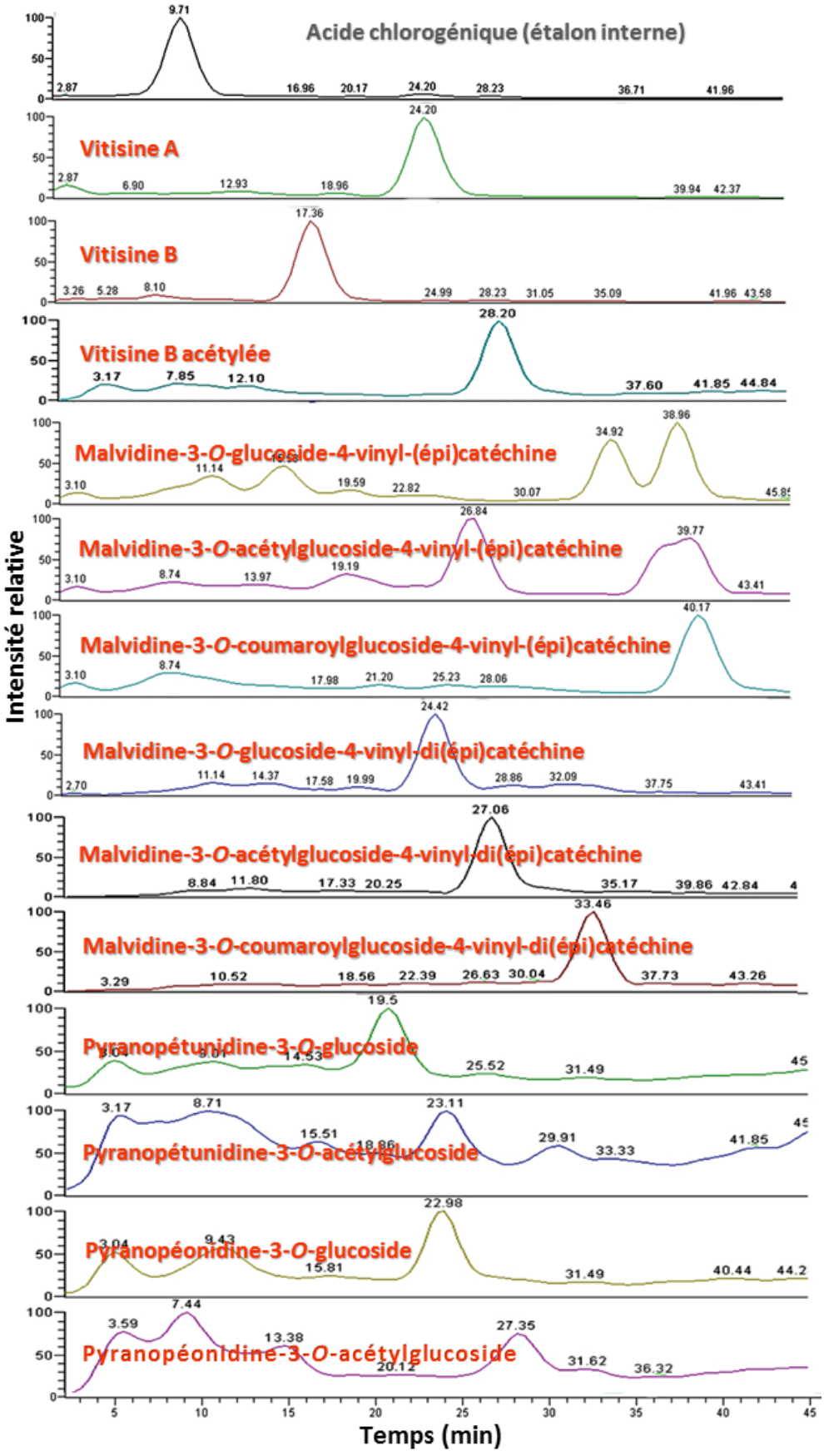


Figure 16 : Chromatogrammes obtenus lors de la quantification des 13 pyranoanthocyanes.

b) Suivis des cinétiques de formation

Les cinétiques de formation des pyranoanthocyanes sont très différentes selon les différentes modalités étudiées. A pH 3 (figure 17), les tendances entre 0 et 2 mg/L d'oxygène sont assez proches. La modalité à 2 mg/L d'oxygène conduit à une teneur légèrement plus élevée en pyranoanthocyanes que celle sans oxygène : 23,3 en moyenne contre 15,5 (tableau 17, facteur O_2). Quant aux modalités 8 et 20 mg/L d'oxygène, les tendances sont différentes : de T0 à T2, les teneurs en pyranoanthocyanes augmentent tandis qu'elles diminuent entre T2 et T4. Là aussi, plus les doses d'oxygène augmentent et plus les teneurs en pyranoanthocyanes sont élevées, passant en moyenne de 27 à 32 mg/L entre 8 et 20 mg/L d'oxygène (tableau 17, facteur O_2). En général, les teneurs moyennes en pyranoanthocyanes tous temps confondus augmentent avec les doses d'oxygène : de 0 à 20 mg/L d'oxygène, les teneurs moyennes tous temps confondus sont respectivement de 15, 23, 27 et 32 mg/L (tableau 17, facteur O_2).

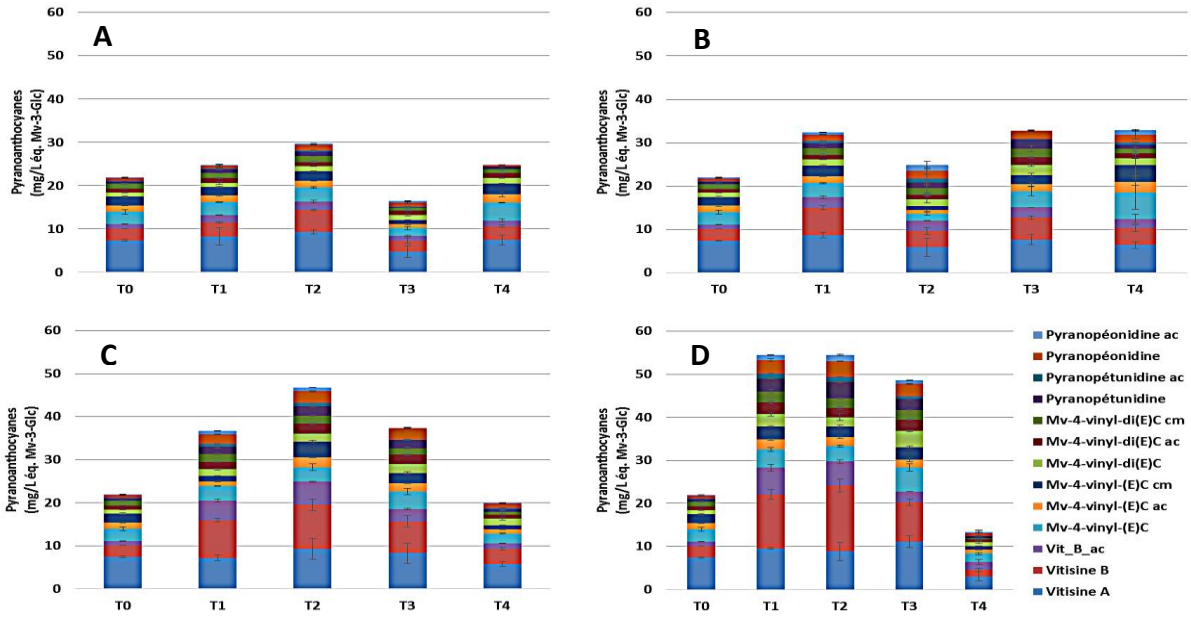


Figure 17 : Cinétiques de formation des pyranoanthocyanes pour un vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois à pH 3.

A : Sans oxygène ; **B :** 2 mg/L d'oxygène; **C :** 8 mg/L d'oxygène ; **D :** 20 mg/L d'oxygène

Vit : vitisine ; **Mv :** Malvidine-3-*O*-glucoside ; **ac :** acétyl ; **cm :** coumaroyl

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Dans les vins à pH 3,5, toutes les modalités d'oxygènation montrent des tendances similaires (figure 18) : les teneurs augmentent au cours du temps, excepté à T3 où toutes sont plus basses sans exception (tableau 17, facteur Tps). De plus, les augmentations au cours du temps sont couplées aux doses d'oxygène. En effet, de 0 à 20 mg/L d'oxygène, les teneurs moyennes sont respectivement de 13, 17, 19 et 26 mg/L (tableau 17, facteur O_2).

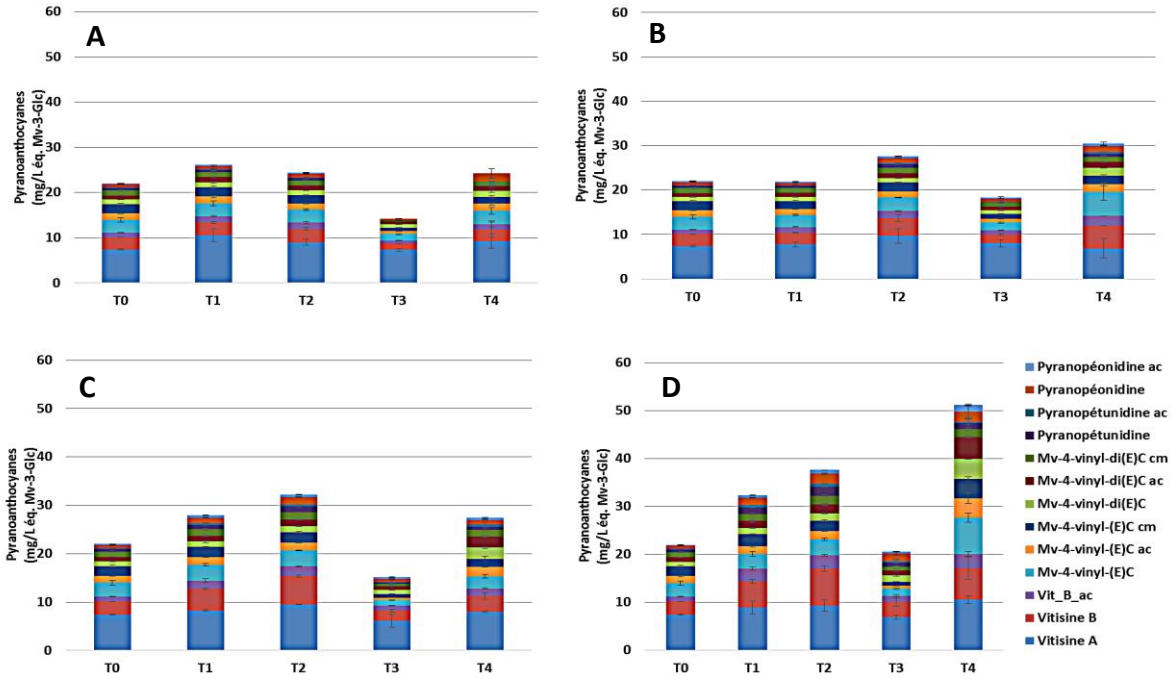


Figure 18 : Cinétiques de formation des pyranoanthocyanes pour un vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois à pH 3,5.

A : Sans oxygène ; **B :** 2 mg/L d'oxygène; **C :** 8 mg/L d'oxygène ; **D :** 20 mg/L d'oxygène

Vit : vitisine ; **Mv :** Malvidine-3-*O*-glucoside ; **ac :** acétyl ; **cm :** coumaroyl

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

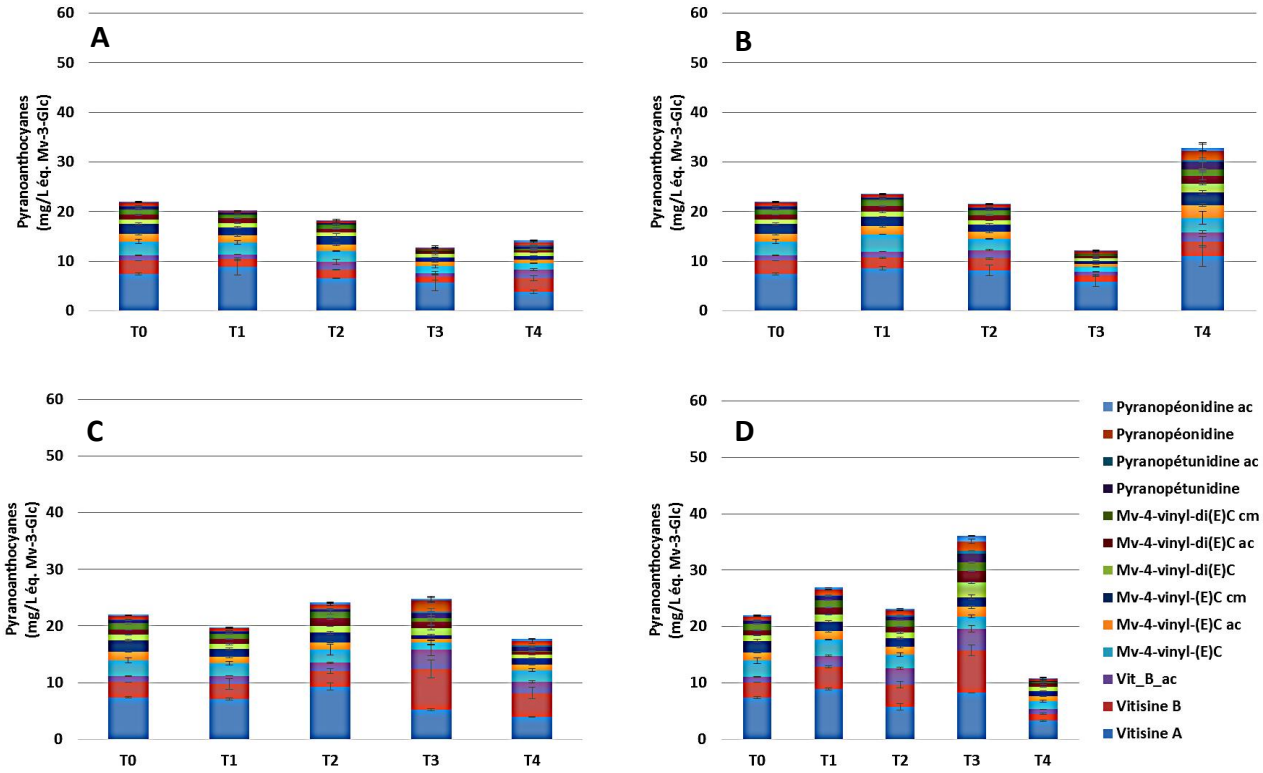


Figure 19 : Cinétiques de formation des pyranoanthocyanes pour un vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois à pH 4.

A : Sans oxygène ; **B :** 2 mg/L d'oxygène; **C :** 8 mg/L d'oxygène ; **D :** 20 mg/L d'oxygène

Vit : vitisine ; **Mv :** Malvidine-3-*O*-glucoside ; **ac :** acétyl ; **cm :** coumaroyl

Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 17 : Analyses statistiques se rapportant aux figures 16, 17 et 18.

Pyranoanthocyanes (mg/L éq. Mv-3-Glc) pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	21,77 **a**	0,61
	T1	37,09 **c**	10,24
	T2	38,88 **c**	17,59
	T3	34,20 **bc**	11,90
	T4	25,34 **ab**	9,90
O_2	0 mg/L	23,97 **a**	2,93
	2 mg/L	28,40 **ab**	9,28
	8 mg/L	35,54 **ab**	14,27
	20 mg/L	39,91 **b**	16,64

Pyranoanthocyanes (mg/L éq. Mv-3-Glc) pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	21,77 **ab**	0,61
	T1	27,03 **abc**	5,48
	T2	30,43 **c**	5,07
	T3	17,25 **a**	6,58
	T4	32,70 **c**	14,10
O_2	0 mg/L	22,02 **a**	3,70
	2 mg/L	23,76 **a**	5,87
	8 mg/L	24,84 **a**	7,88
	20 mg/L	32,72 **b**	12,13

Pyranoanthocyanes (mg/L éq. Mv-3-Glc) pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	21,77 **a**	0,61
	T1	26,93 **a**	2,97
	T2	23,20 **a**	2,48
	T3	36,11 **a**	9,59
	T4	14,40 **a**	11,98
O_2	0 mg/L	17,77 **a**	3,20
	2 mg/L	22,39 **a**	9,87
	8 mg/L	22,05 **a**	4,72
	20 mg/L	24,48 **a**	6,33

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Pour la modalité sans oxygène des vins à pH 4, les teneurs en pyranoanthocyanes diminuent d'environ 25 % au cours du temps (figure 19 A). Les doses d'oxygène apparaissent avoir peu d'impact à pH 4 puisque les tests statistiques montrent que toutes les doses d'oxygène font partie du même groupe (tableau 17, effet O_2).

L'effet pH est très important pour les teneurs en pyranoanthocyanes. En effet, de pH 3 à pH 4, les moyennes des teneurs en pyranoanthocyanes tous temps et doses d'oxygène confondues sont respectivement de 25, 19 et 15 mg/L. De plus, dans le tableau 17, on peut remarquer que les doses d'oxygène se différencient davantage les unes des autres à mesure que l'acidité augmente (tableau 17, effet O_2).

Par comparaison avec le vin d'IPT 61, où la malvidine-3-*O*-glucoside-4-vinyl-di-(épi)catéchine avait été quantifiée, on peut dire que les résultats conduisent aux mêmes tendances, car pour les deux cas, les teneurs en pyranoanthocyanes augmentent en fonction à la fois de l'oxygène et de l'acidité. Cependant, dans le cas du vin d'IPT 61, les teneurs de cette molécule pouvaient atteindre un maximum de 20 mg/L pour les vins à pH 3 avec 20 mg/L d'oxygène. Or, ici (vin d'IPT 63), le maximum atteint pour cette même molécule est seulement de 5 mg/L pour la modalité à 20 mg/L d'oxygène, à pH 3, au 3ème mois, soit 4 fois moins que dans l'autre vin (figure 17 D).

Dans la littérature scientifique, il existe plusieurs études assez contradictoires sur la quantification de pyranoanthocyanes. En ce qui concerne les pyranoanthocyanes de type A et qui sont issues de la cyclisation avec l'acide pyruvique (carboxypyranoanthocyanes), certaines études ne voient pas d'effet avec l'ajout d'oxygène, comme pour del Carmen Llaudy et al., 2006, ou très peu, comme pour Cano-López et al., 2010. Nous observons globalement la même chose avec nos résultats, puisque la vitisine A ne montre aucune implication dans l'augmentation des teneurs en pyranoanthocyanes, que nous observons particulièrement à 20 mg/L d'oxygène pour les vins à pH 3 (figure 17 D). Ce résultat serait théoriquement le plus attendu, puisque les vitisines A sont issues de la cyclisation avec l'acide pyruvique, et non pas l'éthanal : l'oxygène ne devrait donc pas influer sur la formation des vitisines A. Dans une autre publication écrite par Cejudo-Bastante et al., 2011b, les résultats montrent que la vitisine A et la vitisine A acétylée voient leur concentration doublée en fin de micro-oxygénation. Même si les valeurs chutent ensuite et voient leur différence diminuer, ces résultats montrent un

comportement très différent par rapport à celui de la vitisine A que nous avons quantifiée dans nos travaux.

Pour les pyranoanthocyanes autres que la vitisine A, les études publiées montrent que les concentrations n'augmentent pas de manière spectaculaire au cours d'une micro-oxygénation. Dans l'étude de Cano-López et al., 2010, la somme des flavanylpyranoanthocyanes et vinylpyranoanthocyanes passe de 2,8 à 3,9 mg/L en trois mois de micro-oxygénation. Pour Cejudo-Bastante et al., en 2011b, la somme des vitisine B, + vitisine B acétylée et coumaroylée, passe de 3,59 à 4,17 mg/L lorsqu'un vin de Petit Verdot est micro-oxygéné. Dans un vin de Merlot, toujours par le même auteur, la somme d'une dizaine de pyranoanthocyanes de type vitisine B passe de 26,3 à 28,5 mg/L avec la micro-oxygénation (Cejudo-Bastante et al., 2011b). Dans une autre étude, la somme de la vitisine B, + vinylcatéchine-malvidine et vinylphénol-malvidine passe de 7,7 à 7,9 mg/L. Dans ce cas, on peut dire que les concentrations ne varient pas (del Carmen Llaudy et al., 2006). Ainsi, comme on peut le voir, même si les quantités de pyranoanthocyanes de type vitisine B augmentent pour certains travaux, elles restent tout de même relativement faibles. Dans notre étude, les concentrations observées sont nettement au-dessus des valeurs rapportées que nous venons de décrire, puisque nos concentrations ne descendent pas en-dessous de 7 mg/L pour toutes les pyranoanthocyanes de type B additionnées.

En réalité, il faut bien avoir à l'esprit que c'est majoritairement l'acidité qui va permettre la formation des pyranoanthocyanes de type B. Or, dans les travaux de del Carmen Llaudy et al., 2006, Cejudo-Bastante et al., 2011b et 2011c, les pH des vins sont compris entre 3,65 et 3,99, ce qui expliquerait que les conditions d'acidité ne sont pas optimales pour favoriser la formation de pyranoanthocyanes, même si d'autres facteurs tels que la composition des vins entrent probablement en jeu.

V. Paramètres colorimétriques

Les évolutions de la couleur des vins ont été suivies à l'aide des analyses colorimétriques de l'intensité colorante, la teinte, et l'analyse de la couleur dans le sytème CIELab.

1. Teinte et Intensité colorante

L'intensité colorante détermine l'intensité de la couleur du vin rouge. Les résultats sont donnés dans la figure ci-dessous. Les intensités colorantes (IC) sont stables au cours des deux premiers mois pour les vins à pH 3 et pH 3,5 (figure 20 A et B). Pour les vins à pH 4, les IC sont stables lors du premier mois (figure 20 C). Puis les IC augmentent en fonction des doses d'oxygène : plus elles sont élevées et plus les intensités colorantes sont fortes. A T4, les valeurs des différentes doses d'oxygène sont différenciées les unes des autres dans les vins à pH 3 (figure 20 A).

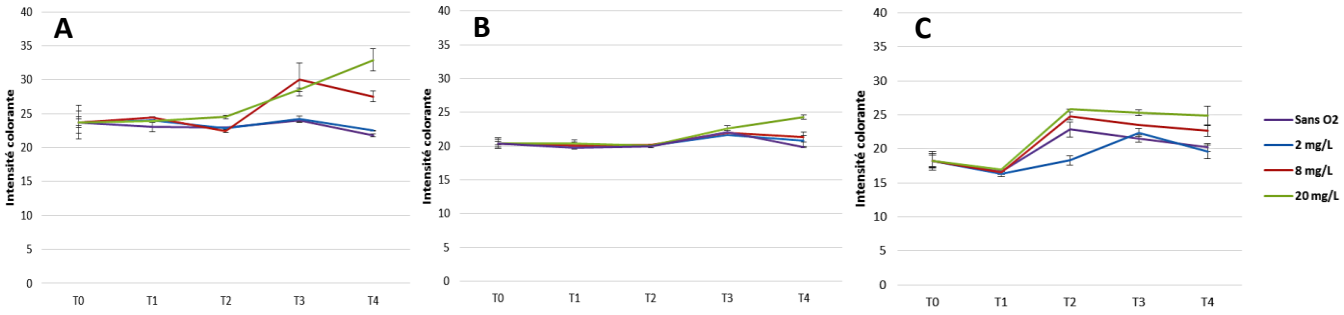


Figure 20 : Evolution de l'intensité colorante pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 18 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 19.

Intensité Colorante pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	23,7 **ab**	0,4
	T1	23,8 **ab**	0,7
	T2	23,3 **a**	1,3
	T3	26,4 **b**	2,8
	T4	25,8 **ab**	4,1
O_2	0 mg/L	23,1 **a**	0,9
	2 mg/L	23,4 **a**	0,8
	8 mg/L	25,1 **ab**	2,7
	20 mg/L	26,3 **b**	3,3

Intensité Colorante pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	20,4 **ab**	0,3
	T1	20,1 **ab**	0,4
	T2	20,1 **a**	0,1
	T3	22,4 **c**	0,9
	T4	21,8 **bc**	1,7
O_2	0 mg/L	20,4 **a**	0,9
	2 mg/L	20,8 **ab**	1,3
	8 mg/L	20,9 **ab**	1,1
	20 mg/L	21,4 **b**	1,6

Intensité Colorante pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	18,2 **ab**	0,2
	T1	16,6 **a**	0,3
	T2	22,2 **bc**	3,3
	T3	23,3 **c**	1,5
	T4	22,0 **bc**	2,4
O_2	0 mg/L	19,9 **a**	2,4
	2 mg/L	19,0 **a**	2,1
	8 mg/L	21,1 **a**	3,2
	20 mg/L	21,7 **a**	4,0

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Là aussi, le pH possède ont une influence directe sur les intensités colorantes, puisque plus il augmente et plus ces dernières diminuent. Pour les pH 3, 3,5 et 4, les moyennes respectives des intensités colorantes, toutes doses d'oxygène et tous temps confondus sont de 25, 21 et 20. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans les deux vins précédents d'IPT 61 et 76. Concernant les tendances des courbes d'évolution des IC, elles semblent proches de celles obtenues pour le vin d'IPT 61. En effet, dans les deux cas, l'oxygène apporte une augmentation de l'intensité colorante, ce qui était nettement moins le cas pour le vin d'IPT 76. Tous ces résultats montrent des tendances déjà rapportées dans d'autres travaux (Castellari et al., 2000; McCord, 2003; del Carmen Llaudy et al., 2006; du Toit et al., 2006; Perez-Magarino et al., 2007; Kovacevic Ganic et al., 2008), mais diffèrent d'autres travaux où l'intensité colorante diminue avec l'oxygène (del Carmen Llaudy et al., 2006; Rudnitskaya et al., 2009).

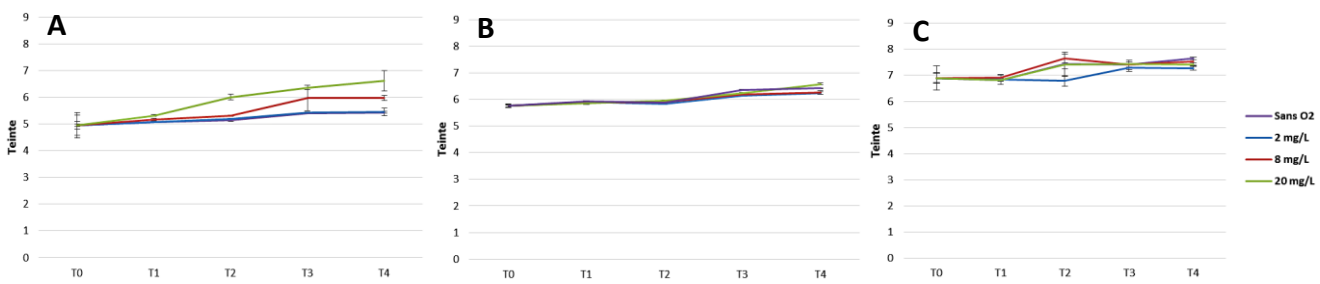


Figure 21 : Evolution de la teinte pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 19 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 20.

Teinte pH 3			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	5,0 **a**	0,0
	T1	5,2 **ab**	0,1
	T2	5,4 **bc**	0,4
	T3	5,8 **c**	0,5
	T4	5,9 **c**	0,5
O_2	0 mg/L	5,2 **a**	0,2
	2 mg/L	5,2 **a**	0,2
	8 mg/L	5,5 **a**	0,5
	20 mg/L	5,9 **a**	0,7

Teinte pH 3,5			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	5,8 **a**	0,1
	T1	5,9 **ab**	0,1
	T2	5,9 **ab**	0,1
	T3	6,3 **bc**	0,1
	T4	6,4 **c**	0,1
O_2	0 mg/L	6,1 **a**	0,3
	2 mg/L	6,0 **a**	0,2
	8 mg/L	6,0 **a**	0,2
	20 mg/L	6,1 **a**	0,3

Teinte pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	6,9 **ab**	0,1
	T1	6,9 **a**	0,1
	T2	7,3 **bc**	0,4
	T3	7,4 **c**	0,1
	T4	7,50	0,2
O_2	0 mg/L	7,2 **a**	0,4
	2 mg/L	7,0 **b**	0,3
	8 mg/L	7,3 **a**	0,4
	20 mg/L	7,2 **a**	0,3

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

D'après la figure 21, on peut voir que seuls les vins à pH 3 subissent des différences visibles en fonction des doses d'oxygène (figure 21 A). En effet, plus elles augmentent et plus la teinte augmente. En moyenne, la modalité avec 20 mg/L d'oxygène a une teinte supérieure de 14 % par rapport à celle sans oxygène (tableau 19, effet O_2). Cependant, les différences liées à l'oxygène ne sont pas significatives (tableau 19, facteur O_2). Pour les vins à pH 3,5 et à pH 4, l'oxygène ne semble pas induire de grande différence dans l'évolution de la teinte (figure 21 B, C). Ces résultats concordent assez bien avec ceux trouvés par del Carmen Llaudy et al., 2006, puisque chez eux, l'augmentation de la teinte était plus influencée par le temps que par la micro-oxygénation. Les teintes augmentent au cours du temps pour tous les pH de manière significative (tableau 19, facteur Tps). Plus le pH augmente et plus la valeur de la teinte est élevée, avec des moyennes respectives de 5,5, 6,0 et 7,2 pour les pH 3, 3,5 et 4. De pH 3 à pH 4, les valeurs moyennes tous temps et doses d'oxygène confondus sont respectivement de 5,5, 6,1 et 7,2, soit une augmentation d'environ 31 % entre pH 3 et pH 4.

2. Système CIELab

Les analyses colorimétriques des vins ont aussi été réalisées dans le système CIELab. Ce système est une représentation des couleurs dans un espace déterminé par trois composantes : la luminosité (L), le rouge (a) et le jaune (b). Les résultats sont donnés dans la figure 21 ci-dessous.

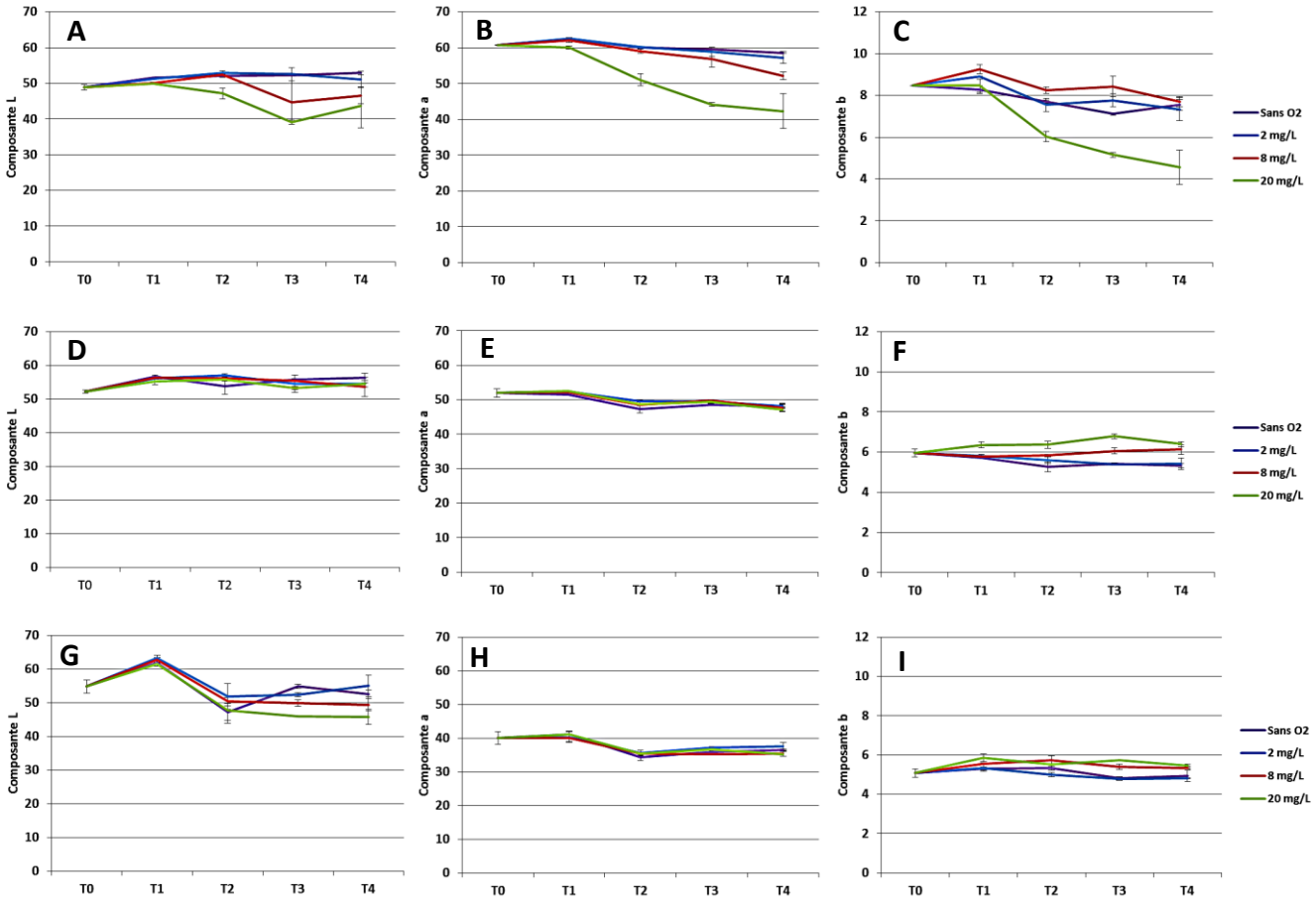


Figure 22 : Evolution des composantes L, a, b pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables sur 4 mois.
A : L à pH 3 ; **B** : a à pH 3 ; **C** : b à pH 3 ; **D** : L à pH 3,5 ; **E** : a à pH 3,5 ; **F** : b à pH 3,5 ; **G** : L à pH 4 ; **H** : a à pH 4 ; **I** : b à pH 4
Les valeurs sont la moyenne de triplicats, et de réplicats pour la modalité sans oxygène.

Tableau 20 : Analyses statistiques se rapportant à la figure 21.

L pH 3

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	48,93 **a**	0,47
	T1	50,86 **a**	1,22
	T2	50,73 **a**	3,41
	T3	46,87 **a**	6,31
	T4	45,93 **a**	9,86
O_2	0 mg/L	51,56 **a**	1,49
	2 mg/L	51,54 **a**	1,95
	8 mg/L	48,52 **ab**	3,75
	20 mg/L	44,00 **b**	8,10

a pH 3

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	60,69 **a**	0,07
	T1	61,52 **a**	1,17
	T2	57,34 **b**	4,16
	T3	54,09 **b**	6,43
	T4	50,57 **b**	10,05
O_2	0 mg/L	60,23 **a**	1,41
	2 mg/L	59,77 **a**	1,89
	8 mg/L	57,68 **a**	4,26
	20 mg/L	50,82 **a**	10,05

b pH 3

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	8,47 **a**	0,00
	T1	8,67 **a**	0,52
	T2	7,28 **b**	0,87
	T3	7,22 **b**	1,24
	T4	6,51 **b**	1,88
O_2	0 mg/L	7,82 **ab**	0,53
	2 mg/L	7,93 **ab**	0,62
	8 mg/L	8,37 **a**	0,61
	20 mg/L	6,46 **b**	1,96

L pH 3,5

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	52,13 **a**	0,30
	T1	56,03 **b**	0,74
	T2	55,87 **b**	1,40
	T3	54,69 **ab**	1,54
	T4	54,56 **ab**	1,76
O_2	0 mg/L	54,91 **a**	2,02
	2 mg/L	54,86 **a**	2,04
	8 mg/L	54,70 **a**	2,02
	20 mg/L	54,21 **a**	1,51

a pH 3,5

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	51,98 **a**	0,77
	T1	52,16 **a**	0,50
	T2	48,71 **b**	0,91
	T3	49,40 **b**	0,51
	T4	47,79 **c**	0,73
O_2	0 mg/L	49,53 **a**	2,06
	2 mg/L	50,31 **b**	1,70
	8 mg/L	50,05 **ab**	1,91
	20 mg/L	49,97 **ab**	2,10

b pH 3,5

Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	6,10 **a**	0,12
	T1	5,94 **a**	0,28
	T2	5,81 **a**	0,43
	T3	6,05 **a**	0,59
	T4	5,86 **a**	0,50
O_2	0 mg/L	5,57 **a**	0,34
	2 mg/L	5,73 **a**	0,35
	8 mg/L	5,98 **b**	0,19
	20 mg/L	6,40 **c**	0,26

L pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	54,81 **ab**	1,23
	T1	62,32 **a**	0,94
	T2	49,50 **d**	3,25
	T3	50,80 **c**	3,27
	T4	50,47 **c**	4,22
O_2	0 mg/L	54,26 **bc**	5,08
	2 mg/L	55,56 **c**	4,60
	8 mg/L	53,41 **b**	5,30
	20 mg/L	51,32 **a**	6,46

a pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	40,07 **a**	1,21
	T1	40,61 **a**	1,07
	T2	35,19 **b**	0,81
	T3	36,12 **b**	0,88
	T4	36,13 **b**	1,26
O_2	0 mg/L	37,59 **a**	2,81
	2 mg/L	37,98 **a**	2,24
	8 mg/L	37,34 **a**	2,46
	20 mg/L	37,57 **a**	2,74

b pH 4			
Facteurs		Moyenne	Ec-types
Tps	T0	5,08 **a**	0,13
	T1	5,52 **b**	0,24
	T2	5,40 **ab**	0,33
	T3	5,17 **ab**	0,39
	T4	5,24 **ab**	0,35
O_2	0 mg/L	5,09 **a**	0,25
	2 mg/L	5,04 **a**	0,24
	8 mg/L	5,42 **b**	0,27
	20 mg/L	5,52 **b**	0,29

Les lettres indiquent les groupes d'appartenance créés à partir des différences calculées pour $p < 0,05$ par test ANOVA ou Kruskal-Wallis sur les facteurs Temps et Oxygène.

Dans les vins à pH 3 (figure 22 A, B et C), la luminosité n'évolue pas en fonction du facteur temps, puisque aucune différence n'est significative pour ce facteur (tableau 20, facteur Tps). Les composantes a et b, en revanche, diminuent au cours des 4 mois. Si l'on regarde l'effet de l'oxygène, on peut dire que plus les doses sont importantes et plus les valeurs des trois composantes L, a et b diminuent. Les différences sont significatives pour les composantes L et b (tableau 20, facteur O2).

Les vins à pH 3,5 et à pH 4 montrent des variations des paramètres CIELab moins visibles que ceux à pH 3. En 4 mois, les valeurs de la luminosité augmentent de 4 % à pH 3,5 et diminuent d'environ 8 % à pH 4 (tableau 20, facteur Tps). La composante a diminue de 8 % en 4 mois pour les vins à pH 3,5 et pH 4 (tableau 20, effet Tps). L'évolution de la composante b, qui correspond au jaune, apparait stable au cours du temps. En revanche, les valeurs augmentent en fonction des doses d'oxygène fournies. Ces différences sont statistiquement significatives (tableau 20, facteur O_2).

Pour ce vin d'IPT 63, les différences liées à l'oxygène sont très marquées à pH 3. Par contre, tandis que les valeurs de la composante b diminuent en fonction de l'oxygène à pH 3, elles augmentent légèrement pour les pH 3,5 et 4, de respectivement 15 et 8 % entre 0 et 20 mg/L d'oxygène (tableau 20, effet O_2). De manière générale, les résultats observés concordent en partie avec ceux du vin d'IPT 61, puisque dans les deux cas, les variations sont plus importantes à pH 3, où les valeurs des composantes L et a diminuent en fonction des doses d'oxygène. En revanche, tandis que les valeurs de la composante b augmentent avec les doses d'oxygène dans le cas du vin d'IPT 61, nous avons observé une diminution de la composante b pour le vin d'IPT 63. Au niveau de l'évolution de la composante b, nos résultats à pH 3,5 et pH 4 concordent globalement avec les résultats d'autres travaux effectués auparavant, tels que (del Carmen Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011c). Par contre, à pH 3, l'oxygène a un effet inverse dans le sens où il diminue la valeur de la composante b, ce qui est en contradiction avec les études citées.

VI. Analyses sensorielles

Les vins ont aussi été suivis chaque mois par des analyses sensorielles effectuées par un panel de dégustateurs, afin d'observer les effets des différentes doses d'oxygène à ce niveau.

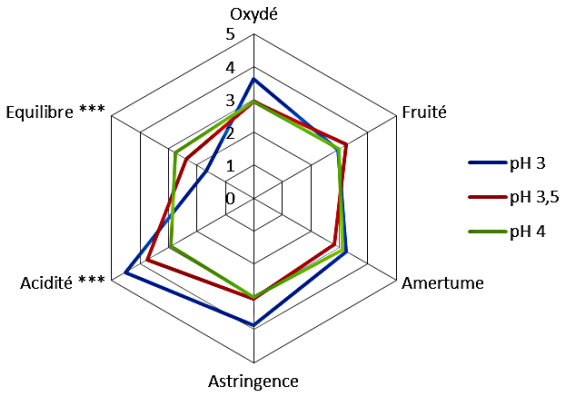


Figure 23 : Analyses sensorielles au commencement de l'expérience pour le vin d'IPT 63
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

Les résultats des analyses sensorielles sont donnés en figure 23. A ce stade, 3 niveaux d'acidité liés aux différents pH ont été très clairement perçus par les panélistes, avec un test significatif de p < 0,001. De la même façon, les vins sont perçus comme plus équilibrés dans l'ordre pH 3 < pH 3,5 < pH 4 de manière significative.

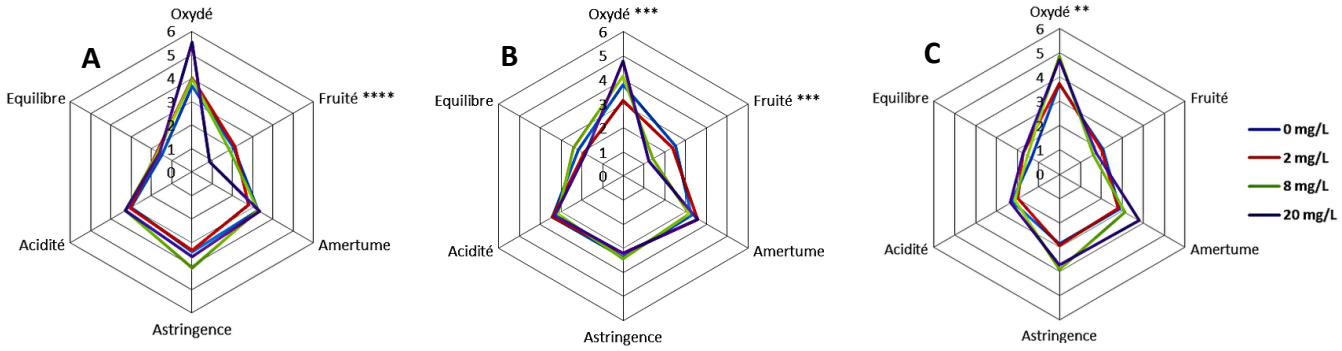


Figure 24 : Analyses sensorielles au premier mois pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

A pH 3, la modalité avec 20 mg/L d'oxygène a été perçue comme nettement moins fruitée que les autres de manière significative, et plus oxydée.

On retrouve cette tendance sur la perception du fruité dans les vins à pH 3,5, où les vins avec les doses d'oxygène de 8 et 20 mg/L apparaissent nettement moins fruitées que les deux autres (figure 24). On retrouve à nouveau les écarts sur la perception de l'oxydation qui sont dus aux doses d'oxygène. La modalité à 20 mg/L d'oxygène est perçue comme plus oxydée et celle à 2 mg/L comme moins oxydée.

A pH 4, seules les différences sur l'oxydation sont significatives. Les modalités à 8 et 20 mg/L d'oxygène semblent plus amères et plus astringentes, mais ceci n'est pas significatif.

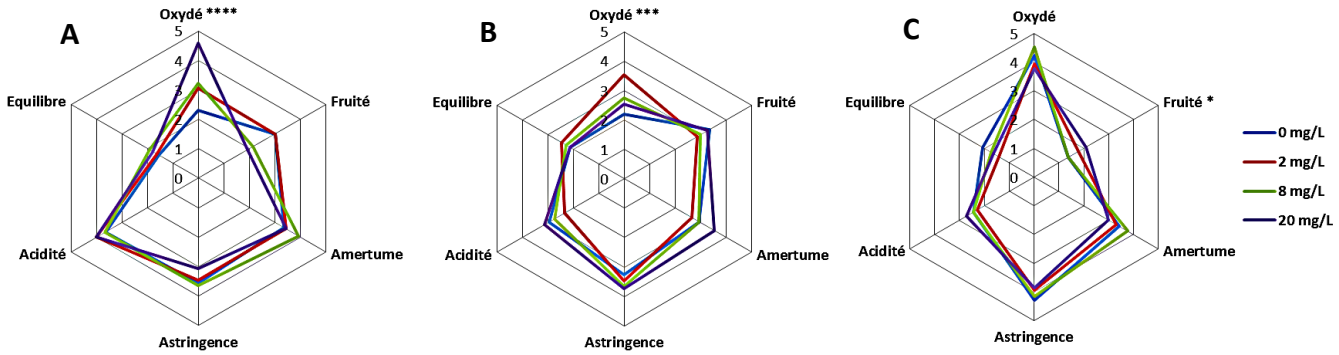


Figure 25 : Analyses sensorielles au deuxième mois pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

Au deuxième mois, dans les vins à pH 3, la modalité à 20 mg/L d'oxygène est perçue comme la plus oxydée, tandis que l'on note l'inverse pour celle sans oxygène (figure 25). Les modalités à 0 et 2 mg/L d'oxygène sont perçues comme les plus fruitées, cependant les différences ne sont pas significatives.

Dans les vins à pH 3,5, seul le paramètre oxydation montre des différences significatives, mais avec la surprise de voir la modalité à 2 mg/L d'oxygène qui est la plus oxydée.

La modalité à 20 mg/L d'oxygène apparait comme la moins fruitée à pH 4 de façon significative. Aucune autre différence n'est perçue pour les vins ajustés à ce pH.

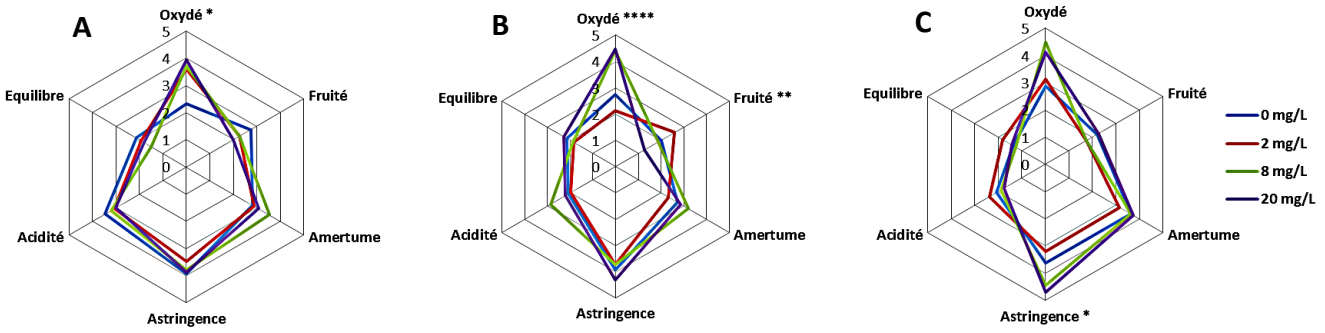


Figure 26 : Analyses sensorielles au troisième mois pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

Seule la perception du niveau d'oxydation montre une différence significative pour les vins à pH 3, où la modalité sans oxygène est nettement moins oxydée que les autres (figure 26). Elle est aussi la plus fruitée, mais cette différence n'est pas significative. Pour les vins à pH 3,5, les modalités à 8 et 20 mg/L

d'oxygène sont perçues comme plus oxydées de manière fortement significative. Au niveau du fruité, la modalité à 2 mg/L d'oxygène est la plus intense, tandis que celle à 20 mg/L d'oxygène est la plus faible. Ces différences sont significatives et logiques.A pH 4, seules des différences au niveau de la perception d'astringence sont perçues de manière significative, avec les modalités à 8 et 20 mg/L perçues comme plus astringentes que celles sans oxygène et à 2 mg/L.

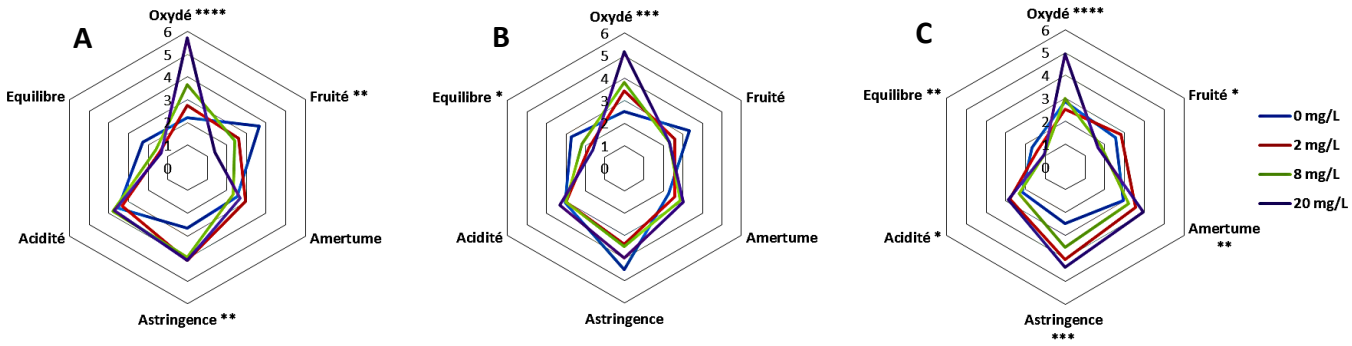


Figure 27 : Analyses sensorielles au quatrième mois pour le vin d'IPT 63 lors d'apports d'oxygène variables
Les astérisques indiquent des différences significatives pour les ANOVAs. * p < 0,05 ; ** p < 0,01 ; *** p < 0,001 ; **** p < 0,0001
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

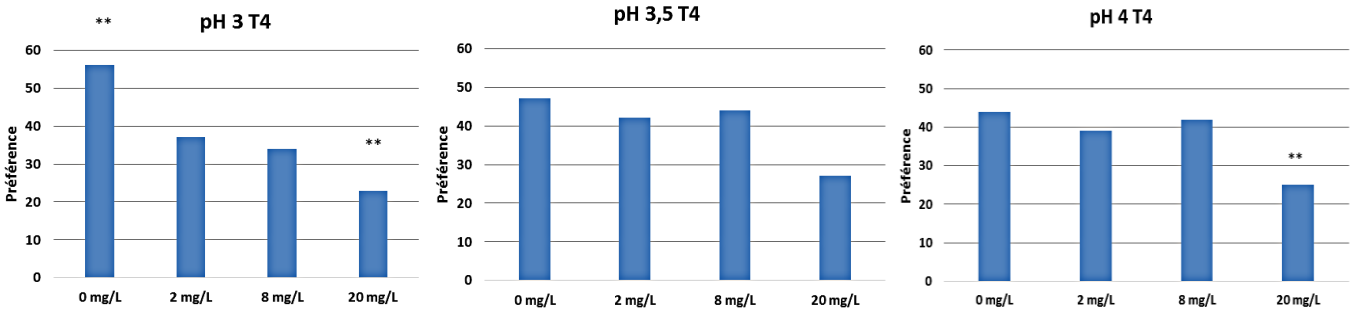


Figure 28 : Analyses de préférence sur les vins d'IPT 63 au quatrième mois.

Au quatrième mois, les vins à pH 3 montrent des notes plus fruitées, moins oxydées et moins astringentes pour les modalités sans oxygène de manière significative (figure 27). La modalité sans oxygène est perçue également comme la plus équilibrée.

A pH 3,5, la modalité sans oxygène est perçue comme la moins oxydée et la plus équilibrée de manière significative. Celle-ci est aussi appréciée comme plus fruitée et moins astringente, mais cela n'est pas significatif. La modalité à 20 mg/L d'oxygène apparait être la plus oxydée de façon significative, comme on pourrait s'y attendre.

A pH 4, tous les descripteurs montrent des différences significatives en fonction des doses d'oxygène. Sur le caractère oxydé, la modalité à 20 mg/L est celle qui se distingue des autres par une plus forte intensité de la perception. Au niveau du fruité, ce sont les modalités sans oxygène et avec 2 mg/L d'oxygène qui sont les plus appréciées et qui se détachent. Au niveau de l'amertume, globalement plus les doses d'oxygène sont fortes et plus celle-ci est perçue comme importante. Il en est de même

pour l'astringence et l'acidité. Au niveau de l'équilibre, les modalités sans oxygène et avec 2 mg/L d'oxygène sont celles qui sont perçues comme les plus équilibrées par les dégustateurs.

De manière générale au quatrième mois, on peut dire que les modalités avec le moins d'oxygène sont celles qui semblent apporter le meilleur impact sensoriel. A pH 3, la modalité sans oxygène se distingue nettement des autres avec plus de fruité, plus d'équilibre et moins d'astringence. On a la même tendance à pH 3,5 excepté pour l'astringence. A pH 4, on retrouve la même tendance qu'à pH 3, avec en plus une milleure note de la modalité sans oxygène au niveau de l'amertume (figure 27).

Ces résultats sont en partie confirmés par les tests de préférence. A pH 3, la préférence sensorielle du vin d'IPT 63 est au témoin, puis à 2 mg/L d'oxygène. La différence est significative. A pH 3,5, la préférence est au témoin puis à 8 et 2 mg/L d'oxygène. Cette différence n'est pas significative. Quant au pH 4, la préférence est à la modalité sans oxygène, puis 8 et 2 mg/L d'oxygène. Ces différences sont significatives. Dans tous les cas, l'apport de 20 mg/L d'oxygène est mal jugé (figure 28).

Si l'on résume les résultats de ces analyses sensorielles, on observe que, globalemet, l'intensité du fruité diminue avec les doses d'oxygène, tandis que celle du caractère oxydé est bien corrélée avec les doses croissantes d'oxygène. Ces résultats ne sont pas totalement en accord avec certains travaux, où une stagnation dans la perception du fruité a été rapportée (del Carmen Llaudy et al., 2006; Heras et al., 2008; Arfelli et al., 2011; Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011c), et pour d'autres, la perception augmente avec l'oxygène (Cejudo-Bastante et al., 2011b). Pour ce qui est de l'équilibre, il faut attendre le quatrième mois pour voir des différences significatives : les vins soumis à moins d'oxygène sont perçus comme plus équilibrés. D'autres paramètres sont moins influencés. C'est notamment le cas de l'astringence où les différences sont globalement non significatives, même si la perception d'astringence aurait tendance à augmenter avec l'oxygène. Cependant, plusieurs études rapportent une diminution de l'astringence avec l'oxygène (del Carmen Llaudy et al., 2006; Cejudo-Bastante et al., 2011b), ou un effet nul de l'oxygène sur ce paramètre (De Beer et al., 2008; Sánchez-Iglesias et al., 2009; Arfelli et al., 2011; Cejudo-Bastante et al., 2011b).

Au niveau de l'amertume, les différences ne sont pas significatives, même si les vins à 8 mg/L d'oxygène, et à 20 mg/L d'oxygène dans une moindre mesure, sont souvent perçus comme les plus amers. Il faut attendre le quatrième mois à pH 4, pour que les différences de perception de l'amertume (qui s'accroissent en fonction des doses d'oxygène) soient significatives. Là aussi, les résultats tirés de la littérature scientifique montrent que l'oxygène aurait plutôt tendance à faire diminuer l'amertume (Arfelli et al., 2011; Cejudo-Bastante et al., 2011a). Enfin, aucun impact réel n'a été montré sur la perception de l'acidité, ce qui est en adéquation avec d'autres études (Cejudo-Bastante et al., 2011a, 2011b).

Conclusion

Au cours de l'étude et du suivi du vin d'IPT 63 enrichi en fraction d'ellagitannins, nous avons montré pour les phénols totaux que les valeurs à T0 et à T4 sont similaires.

Les consommations d'oxygène sont influencées par le pH, puisqu'à pH 4, une même modalité consomme en moyenne 20 % de plus qu'à pH 3. De plus, entre les modalités 0 et 20 mg/L d'oxygène, la consommation d'oxygène est environ 10 fois supérieure.
Les teneurs en SO_2 libre diminuent en fonction du temps et des doses d'oxygène. En 4 mois, la diminution à pH 3 est de 70 %, et de 50 % pour pH 3,5 et pH 4. Il en est de même pour le SO_2 total, où en 4 mois, les diminutions sont respectivement de 30, 28 et 6 % à pH 3, pH 3,5 et pH 4. Ces résultats montrent que lorsque le pH augmente, le vin consomme davantage d'oxygène, tandis que le SO_2 libre est moins utilisé, suggérant que le vin devient plus sensible aux risques d'oxydation avec le pH. Les teneurs en SO2 combiné montrent une diminution de 18 % en 4 mois dans les vins à pH 4. Pour les vins à pH 3, il n'y a pas d'évolution du SO_2 combiné et pour ceux à pH 3,5, les teneurs au quatrième mois sont de 35 % plus élevées qu'au départ.

Les teneurs en tannins totaux dosés par hydrolyse en milieu acide acide (méthode Bate-Smith) sont stables à pH 3. En revanche, en 4 mois, les teneurs diminuent respectivement de 13 et 34 % pour pH 3,5 et pH 4. L'indice DMACH augmente d'environ 75 %, suggérant une forte diminution de la polymérisation. Cependant, il est plus probable que la présence d'ellagitannins moléculaires aboutisse à la formation de nouvelles structures par la fixation des ellagitannins sur les sommets des tannins polymérisés, ou moléculaires, comme c'est le cas notamment avec la création de flavano-ellagitannins en présence de flavan-3-ols (Saucier et al., 2006). L'oxygène joue aussi un rôle dans l'évolution de l'indice DMACH, puisque la modalité à 20 mg/L d'oxygène est 28 % plus basse que celle sans oxygène. Les analyses de DPm ne montrent aucune évolution notable à pH 3, alors que l'évolution est la plus forte dans les vins à pH 3,5, où les tannins ont un DPm qui diminue de 34 % au deuxième mois, pour se stabiliser ensuite. Quant aux pourcentages de prodelphinidines, les évolutions sont stables à pH 3 et à pH 3,5. Pour les vins à pH 4, les valeurs à T0 et T4 sont très proches. Cependant, les valeurs à T1 étaient 67 % plus hautes qu'au départ.

Les anthocyanes totales, dosées par décoloration au bisulfite de sodium, voient leurs concentrations diminuer au cours du temps. Ces cinétiques sont dépendantes de l'acidité, puisque de pH 3 à pH 4, les diminutions des concentrations sont respectivement de 40, 31 et 21 %. De plus, les diminutions en anthocyanes totales pour les modalités à 20 mg/L d'oxygène sont 10 % plus élevées que celles sans oxygène. On retrouve les mêmes tendances pour les anthocyanes moléculaires dosées par HPLC-UV. En 4 mois, les diminutions des concentrations sont respectivement de 65, 39 et 28 % pour les pH 3, pH 3,5 et pH 4. De plus, dans la modalité sans oxygène, les concentrations en anthocyanes moléculaires diminuent en moyenne de 18 % en 4 mois, tandis que celles avec 20 mg/L d'oxygène diminuent de 65 %. Pour tous les pH, les pourcentages d'anthocyanes libres augmentent jusqu'au deuxième mois d'environ 15 %. Par contre, les valeurs diminuent à pH 3 en fonction des doses d'oxygène, puisqu'au quatrième mois, les valeurs sont 10 % plus basses dans la modalité à 8 mg/L d'oxygène, et 25 % plus basses pour la modalité à 20 mg/L d'oxygène. Inversement, les pourcentages

d'anthocyanes + tannins polymères augmentent plus fortement avec les doses d'oxygène dans les vins à pH 3 : 20 % de plus dans la modalité à 8 mg/L d'oxygène, et 60 % de plus dans la modalité avec 20 mg/L d'oxygène. Pour les autres pH, l'augmentation est d'environ 20 % sur les deux derniers mois.

Au cours de ce plan d'essai, 13 pyranoanthocyanes ont été identifiées et quantifiées (Vitisine A, Vitisine B, vitisine B acétylée, pyranomalvidine-(épi)catéchine, pyranomalvidine-(épi)catéchine acétylée, pyranomalvidine-(épi)catéchine coumaroylée, pyranomalvidine-di(épi)catéchine, pyranomalvidine-di(épi)catéchine acétylée, pyranomalvidine-di(épi)catéchine coumaroylée, pyranopétunidine, pyranopétunidine acétylée, pyranopéonidine, pyranopéonidine acétylée. Les résultats montrent que lorsque les conditions ne sont pas favorables à leur apparition, leur concentration moyenne est d'environ 20 mg/L. Cette concentration augmente avec l'acidité et les doses d'oxygène ; les vins à pH 3 sont les plus favorables à la formation de ces composés, où la plus grande concentration se situe au deuxième mois. A ce stade, les teneurs dans les modalités à 8 et 20 mg/L d'oxygène sont 2,5 fois supérieures aux deux autres (0 et 2 mg/L d'oxygène) avec des teneurs de plus de 50 mg/L. Dans les vins à pH 3,5, la modalité à 8 mg/L d'oxygène n'excède pas plus de 30 mg/L de pyranoanthocyanes, et les teneurs augmentent graduellement jusqu'à 50 mg/L au quatrième mois dans les vins à 20 mg/L d'oxygène. Quant aux vins à pH 4, seule la modalité avec 20 mg/L d'oxygène montre des teneurs supérieures aux autres modalités, avec un maximum de 35 mg/L en pyranoanthocyanes au troisième mois. Ces résultats montrent que plus le pH augmente, et plus il est difficile de voir ces composés se former ; en revanche, l'oxygène favorise l'apparition de différences dans les teneurs en pyranoanthocyanes avec augmentation de leurs concentrations.

Les indices chromatiques montrent que des différences apparaissent à partir du troisième mois sur les intensités colorantes. Au quatrième mois, la modalité à 20 mg/L d'oxygène dans les vins à pH 3 présenteune intensité colorante 14 % plus basse que la modalité sans oxygène. Cette différence diminue avec le pH. De plus, le pH diminue l'intensité colorante, puisque les valeurs moyennes à pH 3, pH 3,5 et pH 4 sont respectivement de 2,5, 2,1 et 2. Sur le paramètre de teinte, les différences induites par les doses d'oxygène sont presque exclusivement visibles à pH 3. De 0 à 20 mg/L d'oxygène, le niveau de la teinte augmente de l'ordre de 14 %. Par contre, le pH augmente la valeur de la teinte d'environ 31 % entre pH 3 et pH 4. Dans les mesures CIElab, les variations induites par les doses d'oxygène sont nettement plus visibles pour les vins à pH 3. Entre les vins sans oxygène, et ceux à 20 mg/L d'oxygène à pH 3, la luminosité baisse de 20 %, la composante rouge (a) de 30 % et la composante jaune (b) de 50 %. Le pH influence également les composantes rouge et jaune. De pH 3 à pH 4, la composante rouge diminue de 30 %, et la jaune de 38 %.

Ici aussi, comme dans le cadre des deux vins précédents, les résultats obtenus entre nos travaux et ceux menés par Kontoudakis et al., en 2011, sont en accord. En effet, l'oxygène induit une polymérisation des tannins (diminution de l'indice DMACH) et des anthocyanes, tandis que les teneurs en anthocyanes moléculaires diminuent. Ces effets sont plus importants à pH acide. De même, la formation de nouveaux pigments, telles que les pyranoanthocyanes de type B, est favorisée par la présence d'oxygène en milieu acide. Enfin, l'intensité colorante est plus importante avec l'acidité, tandis que la luminosité est moins forte.

Au niveau des analyses sensorielles, on a vu que l'intensité du fruité diminue avec les doses d'oxygène, tandis que celle du caractère oxydé est bien corrélée avec les doses croissantes d'oxygène. Les différences au niveau du descripteur de l'équilibre ne sont visibles qu'au quatrième mois : les vins avec le moins d'oxygène sont perçus comme plus équilibrés. La perception d'astringence est moins influencée, puisque les différences sont globalement non significatives. Cette perception semble avoir tendance à augmenter avec les doses d'oxygène. Sur la perception d'amertume, les différences ne sont pas significatives, même si les vins à 8 mg/L d'oxygène, et à 20 mg/L d'oxygène dans une moindre mesure, sont souvent perçus comme les plus amers. Comme pour l'astringence, ce n'est qu'au quatrième mois, et à pH 4, où les différences de perception de l'amertume sont significatives. La perception d'amertume est plus forte lorsque les doses d'oxygène augmentent.

F. Etude comparative et statistique des trois vins de Merlot d'IPT 61, 63 et 76 en contexte d'apport d'oxygène

L'objet de ce chapitre est de comparer à l'aide d'outils statistiques les résultats obtenus pour les trois vins de Merlot : d'IPT 61, d'IPT 63 (enrichi en ellagitannins) et d'IPT 76.

Le design expérimental que nous avons choisi de mettre en place pour suivre l'évolution de ces trois vins donne la possibilité d'analyser les résultats obtenus pour 4 facteurs différents : le Temps (T0, T1, T2, T3 et T4), les doses d'oxygène (0, 2, 8 et 20 mg/L), le pH (3, 3,5 et 4), ou bien encore en fonction des vins (IPT 61, IPT 63 enrichi en fraction d'ellagitannins, et IPT 76). Pas moins de 33 paramètres chimiques ont été mesurés ou calculés. Sur les 3 vins, avec les 3 pH, les 4 doses d'oxygène, et ce pour les 4 mois d'évolution, cela aboutit à un jeu de données d'environ 16 000 valeurs, réplicats pris en compte. Ce chapitre propose donc une étude globale sur les paramètres chimiques afin de savoir si chaque paramètre chimique est plutôt influencé par le pH, le temps, l'oxygène ou le vin. Une analyse particulière, le Self Organizing Maps (SOM) a été réalisée à l'aide du logiciel R et du package SOM. Le SOM (plus rarement appelée carte auto-adaptative en français) repose sur des méthodes d'apprentissage non-supervisées, donc sans à priori. Cette approche, appliquée à ce jeu de données, permet de comparer des cinétiques d'évolution de paramètres chimiques au cours du temps, et de regrouper entre elles les cinétiques qui présentent une évolution similaire. Cette approche permet ensuite de tester statistiquement (Khi^2) si les groupes formés sans à priori sont liés aux différents facteurs testés (oxygene, pH, vin).

L'intérêt de ce chapitre réside dans la possibilité de comparer ensemble un nombre assez conséquent d'échantillons pour chaque analyse. Toutes ces valeurs sont comparées en fonction des facteurs Temps, Oxygène, pH et Vin pour chaque paramètre étudié et déjà discuté lors des chapitres précédents sur les consommations d'oxygène, les cinétiques des SO_2, les évolutions des tannins ainsi que celles des anthocyanes.

I. Etudes statistiques sur les consommations d'oxygène et cinétiques de SO_2

Le paramètre de consommation d'oxygène cumulée présente deux groupes majoritaires (G1 et G2) (figure 1). Le premier correspond aux échantillons dont les consommations en oxygène diminuent légèrement au cours du temps, tandis que le deuxième regroupe ceux dont la consommation augmente au cours du temps. 48 échantillons appartiennent au premier groupe, 33 au groupe 2.

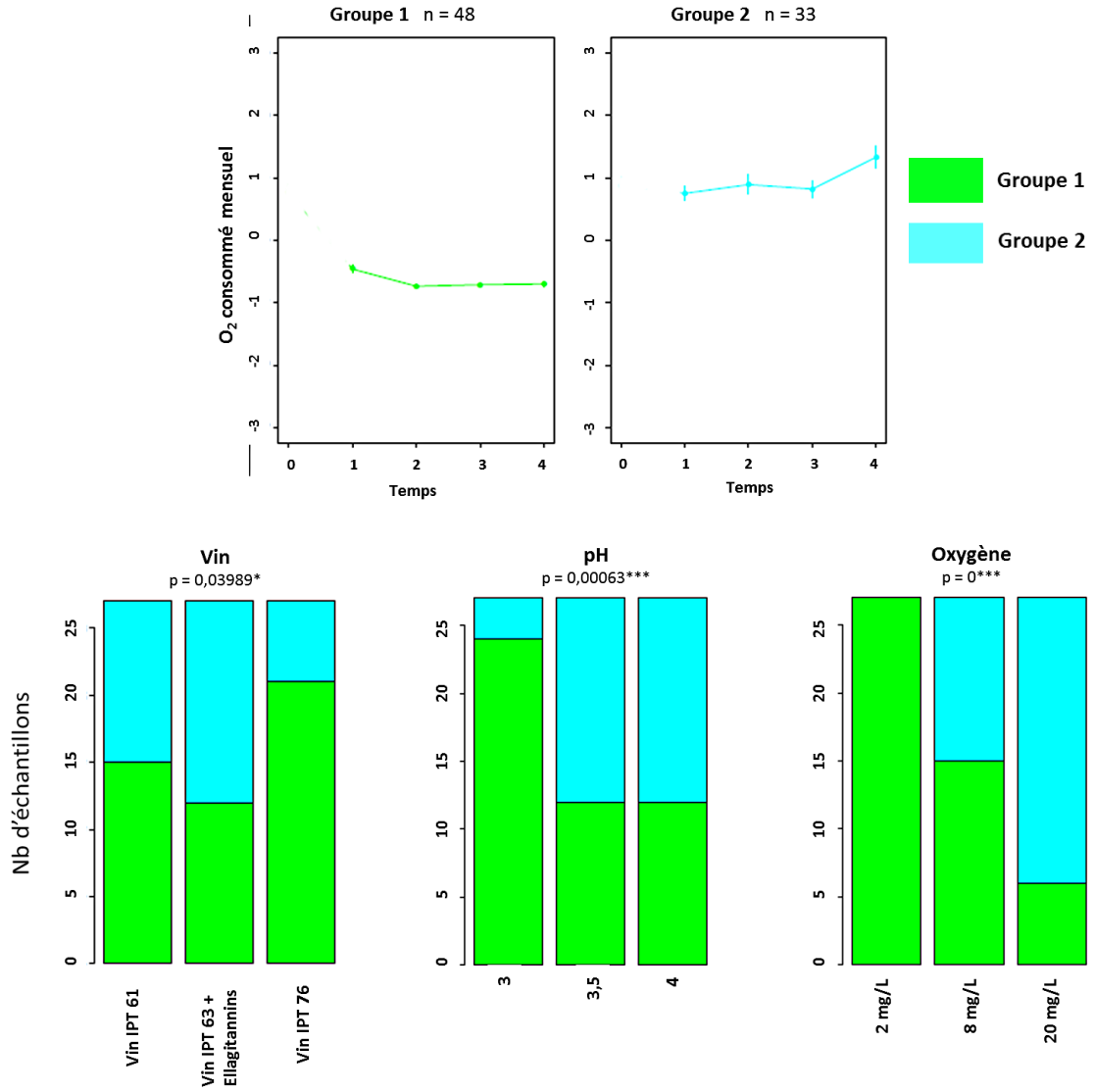


Figure 1 : Self Organizing Map sur l'oxygène consommé mensuel lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Le pH et l'oxygène sont les deux facteurs majeurs qui influent sur la consommaion d'oxygène mensuelle, avec des valeurs $p < 0,001$.

On peut remarquer que plus les doses d'oxygène augmentent, et plus le nombre d'échantillons qui appartiennent au groupe 2 augmentent, indiquant que le vin peut être « forcé » à consommer l'oxygène qui lui est fourni par simple augmentation de la concentration en oxygène dans le milieu.

De la même façon, les pH 3,5 et pH 4 contiennent davantage d'échantillons appartenant au G2, indiquant que les consommations d'oxygène sont favorisées lorsque le pH augmente (figure 2).

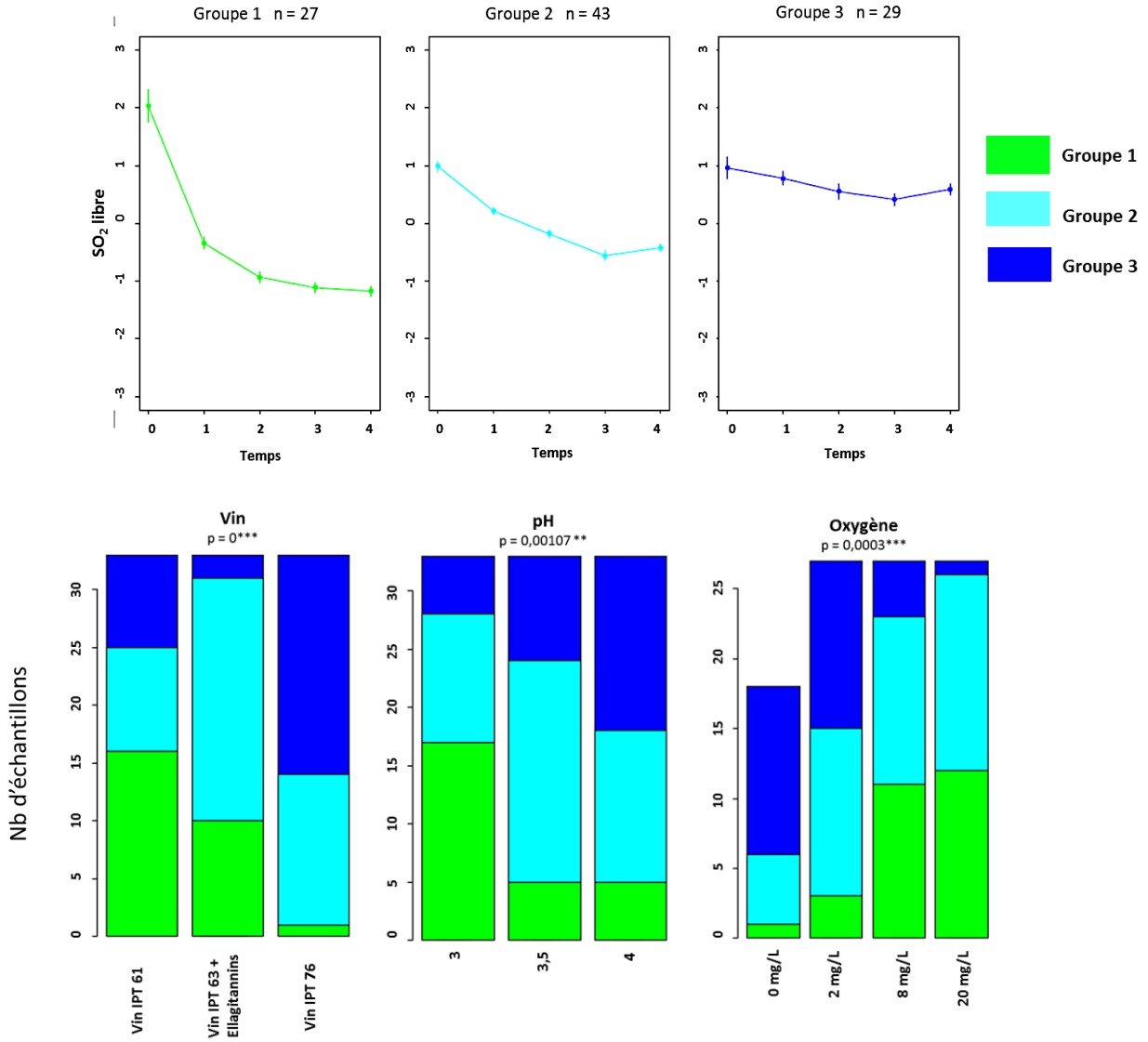


Figure 2 : Self Organizing Map sur le SO_2 libre lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Les différences au niveau des vins sont plus faibles, avec une valeur $p < 0,05$. Le vin d'IPT 76 contient davantage d'échantillons appartenant au G1, indiquant que ce vin a davantage tendance à diminuer sa consommation d'oxygène au cours du temps que les deux autres.

Sur les cinétiques des teneurs en SO_2 libre (figure 2), 3 groupes ont été déterminés (G1, G2, G3). G1 rassemble 27 échantillons dont les teneurs en SO_2 libre diminuent très fortement. G2 ceux dont les teneurs diminuent moins fortement, et G3 ceux dont les teneurs en SO_2 libre diminuent très peu au cours des 4 mois (29 échantillons).

Les effets vin, pH et oxygène sont importants, avec, respectivement, des valeurs $p < 0,001$, $p < 0,01$ et $p < 0,001$.

On peut remarquer que le vin d'IPT 76 est celui pour lequel les diminutions des teneurs en SO_2 libre sont les plus faibles parmi les 3 vins. Le vin d'IPT 61 est celui qui montre le plus de disparités, puisqu'il possède le plus d'échantillons appartenant au G1 (16), mais aussi 8 échantillons appartenant au G3, groupe dont les teneurs en SO_2 libre diminuent le moins au cours du temps (figure 2).

Au niveau des effets pH, on peut observer que le nombre d'échantillons appartenant au G3 passe de 5 à 15 de pH 3 à pH 4, indiquant qu'à fort pH, les teneurs en SO_2 libre ont moins tendance à diminuer au cours du temps. Simultanément, le nombre d'échantillons appartenant au G1 passe de 5 à 16 entre pH 3,5 et pH 3 : on observe ici que le SO_2 libre serait nettement moins utilisé dans les vins qui ont des pH assez élevés. En effet, dans le vin, le SO_2 libre est en équilibre sous deux formes principales : les ions bisulfite (HSO_3^-) et le SO_2 moléculaire (H_2SO_3). Ce sont ces derniers qui réagissent avec le péroxyde d'hydrogène, prévenant ainsi l'oxydation du vin. Or, ceux-ci sont davantage présents lorsque l'acidité du vin augmente.

Les effets dus à l'oxygène n'ont rien de surprenant, dans le sens où plus les doses d'oxygène sont fortes et plus le nombre d'échantillons appartenant au G3 diminue, tandis que celui appartenant au G1 augmente de façon inverse.

Si l'on compare la figure 1 et la figure 2, on peut noter que dans les deux cas, les vins à pH 3,5 et pH 4 se comportent différemment des vins à pH 3 : non seulement ils ont une consommation d'oxygène plus importante et qui s'accroît au cours du temps, mais de plus, ils voient leurs teneurs en SO_2 libre diminuer de manière beaucoup moins forte.

Un test de corrélation a été réalisé afin de confirmer les tendances observées figure 1 et 2, où les consommations d'oxygène augmentent pour les pH 3,5 et pH 4 tandis que les cinétiques du SO_2 libre diminuent moins fortement. Comme on peut le voir sur la figure 3A, à pH 3, les points sont moins étalés sur l'axe x de l'oxygène consommé cumulé, contrairement aux pH 3,5 et pH 4 (figure 3B et 3C). Ceci montre que pour une même concentration en SO_2 libre (axe Y), les vins à pH 3 ont une consommation d'oxygène moindre. On peut vérifier ceci par les équations des régressions linéaires, qui ont une pente moins forte à mesure que le pH augmente (figure 3).

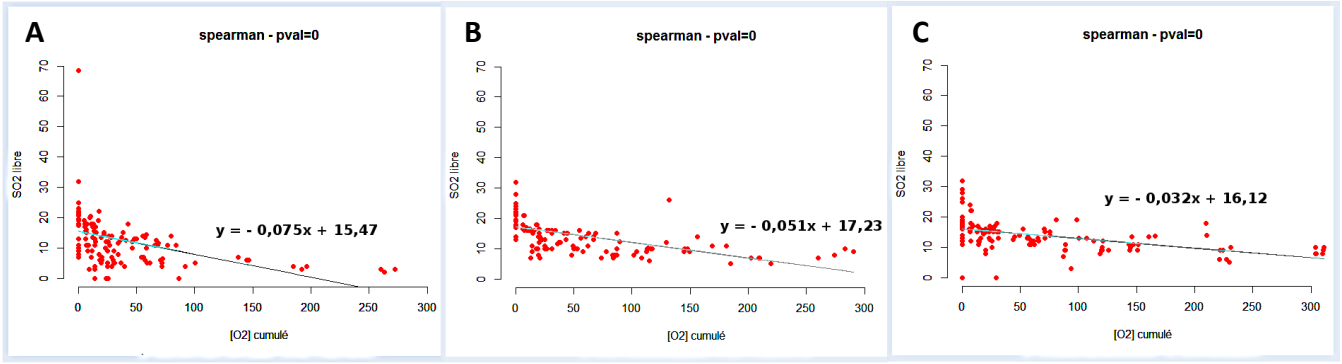


Figure 3 : Tests de corrélation entre oxygène cumulé et teneurs en SO_2 libre.
A : pH 3 ; **B :** pH 3,5 ; **C :** pH 4

On retrouve donc ici une conclusion qui revenait pour les plans d'essai appliqués aux trois vins, à savoir une diminution de l'efficacité du SO_2 libre lorsque le pH augmente, et parallèlement à cela, une augmentation de la consommation d'oxygène.

II. Etudes statistiques sur les tannins

Les Self-Organizing Maps (SOM) ont aussi été générés pour les analyses portant sur les tannins, telles que tannins totaux (méthode Bate-Smith), indice DMACH, rapport Bate-Smith/DMACH et DPm. Le rapport Bate-Smith/DMACH (noté BS/DM) est un calcul permettant d'extrapoler l'évolution de la polymérisation. En effet, le réactif DMACH réagit uniquement avec la première unité des tannins condensés. Pour une même quantité de tannins donnée, plus l'indice DMACH augmente et moins forte est la polymérisation. Il suffit de diviser l'indice DMACH par les valeurs de Bate-Smith pour tenir compte des variations des teneurs en tannins totaux et avoir ainsi des évolutions de polymérisation comparables. L'indice BS/DM n'a pas d'unité.

1. Tannins totaux (Bate-Smith)

Pour les analyses des tannins totaux effectuées par méthode de Bate-Smith, deux groupes ont été choisis : le premier (G1), rassemble 35 échantillons et montre des teneurs constantes de T0 à T4, avec un pic à T2 (figure 4). Le deuxième (G2), montre une faible diminution des tannins totaux au cours du temps, toujours avec la présence d'un pic à T2, de manière plus modérée. La position de la courbe est aussi moins élevée que celle de G1, indiquant que les teneurs sont plus faibles.

Les différents pH et doses d'oxygène n'ont absolument aucun impact sur les allures de courbe (figure 4).

Les teneurs en tannins totaux ne sont influencées que par le facteur vin. En effet, on note que tous les échantillons du vin d'IPT 76 appartiennent à G1. Ceci est principalement dû au fait que le vin d'IPT 76 possède davantage de tannins totaux que les deux autres vins.

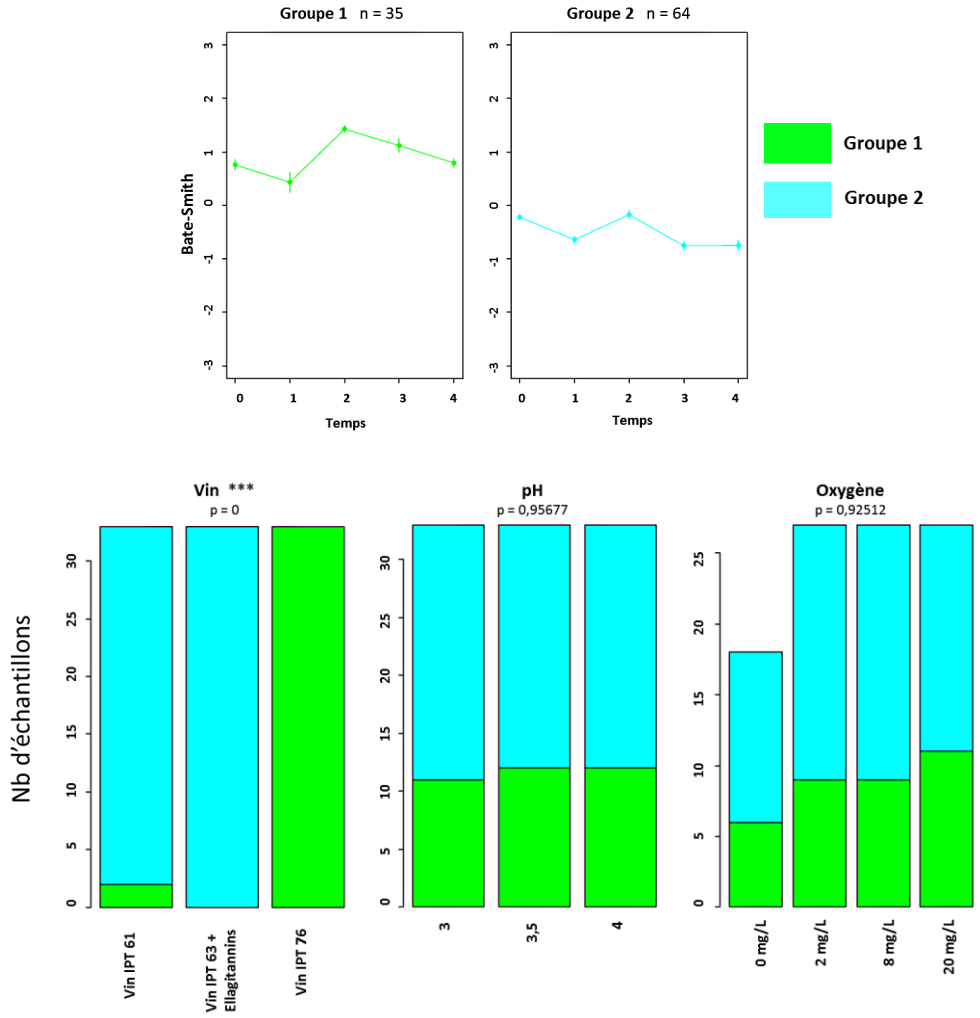


Figure 4 : Self Organizing Map sur les tannins totaux (méthode Bate-Smith) lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

2. Indice DMACH

Les SOM réalisés sur les indices DMACH sont donnés dans la figure 5 ci-dessous.

4 groupes (G1, G2, G3 et G4) ont été générés. De G1 à G4, les tendances des courbes augmentent de plus en plus au fil du temps.

Les vins ont des différences très fortes, avec $p < 0,001$ (figure 5). Le vin d'IPT 63 enrichi en ellagitannins est celui qui possède le plus d'échantillons appartenant à G4, où la tendance de courbe apparait en forte augmentation au cours du temps (figure 5). Le vin d'IPT 76 est celui qui possède le plus d'échantillons appartenant pour 50 % à G1, et 50 % à G2. Pour ce vin, les évolutions de l'indice DMACH au cours du temps sont stables (G2) ou en légère diminution (G1). Le vin d'IPT 61 comprend majoritairement des échantillons appartenant à G2, avec des courbes qui restent stables au cours du temps, et à G3, où la courbe augmente en intensité au cours du temps.

Un effet important est celui de l'oxygène, avec $p < 0,01$. A mesure que les doses augmentent, le nombre d'échantillons appartenant à G1 augmente, tandis que le nombre appartenant à G4 diminue,

indiquant que l'oxygène tend à induire les tendances de courbes vers la diminution au cours du temps, et donc, la polymérisation au cours du temps.

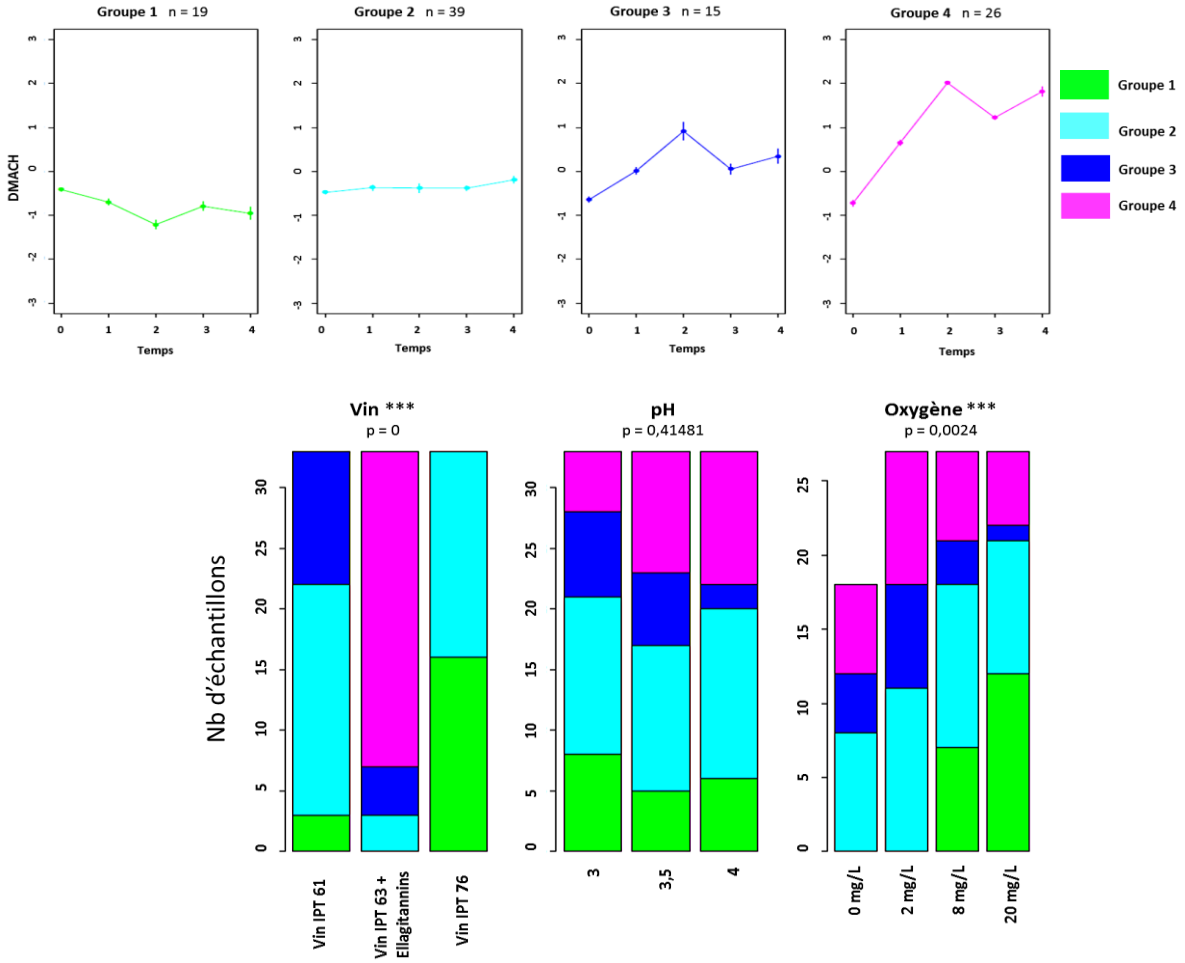


Figure 5 : Self Organizing Map sur l'indice DMACH lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

3. Indice Bate-Smith/DMACH (BS/DM)

Comme expliqué plus haut, la division des valeurs des tannins totaux par celles de l'indice DMACH permet d'avoir un indice de polymérisation sans unité, qui est comparable entre toutes les modalités tous vins confondus. Cet indice est noté arbitrairement BS/DM. Les SOM relatifs à cet indice sont présentés en figure 6.

Pour cet indice BS/DM, 3 groupes (G1, G2, G3) ont été retenus. G1 rassemble les échantillons qui voient leur indice BS/DM fortement diminuer au cours des quatre mois. G2 ceux dont la polymérisation diminue au cours du 1er mois, puis remonte par la suite quasiment au même niveau qu'initialement. Dans le G3, les indices BS/DM augmentent fortement au cours des deux premiers mois, pour ensuite diminuer quasiment au même niveau qu'au point de départ (figure 6).

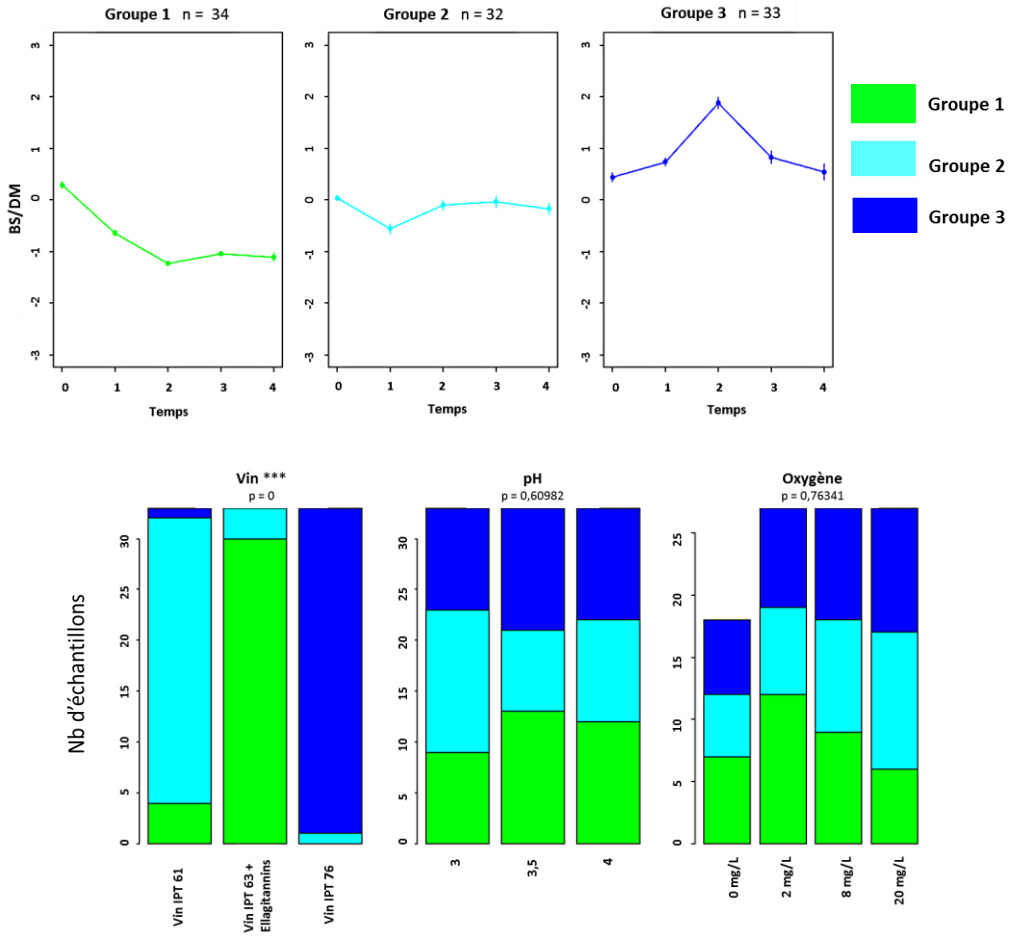


Figure 6 : Self Organizing Map sur l'indice BS/DM lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Les vins montrent de grandes différences dans l'analyse de ces SOM, avec une valeur $p < 0,001$. Le vin enrichi en ellagitannins comprend une grande majorité d'échantillons appartenant au G1. Pour ce vin, il est possible que les polymérisations se fassent d'une manière différente, empêchant le réactif DMACH de se fixer au sommet des chaînes de tannins. Le vin d'IPT 61 possède une grande majorité d'échantillons qui appartiennent au G2 : après une dépolymérisation au cours du premier mois, l'indice de polymérisation revient au niveau initial au cours des mois suivants. Le vin d'IPT 76, présente pratiquement la totalité de ses échantillons qui appartiennent au G3, où la polymérisation augmente au cours des deux premiers mois pour ensuite retrouver le niveau initial.

Les doses d'oxygène ne montrent pas de différences significatives. Cependant, on peut quand même observer une certaine tendance logique, puisque plus les doses d'oxygène augmentent et plus le nombre d'échantillons appartenant au G1 diminue, ce qui indique que l'oxygène freine la baisse de polymérisation. *A contrario*, ceux appartenant au G2 sont plus nombreux : la polymérisation se stabilise et diminue moins fortement lorsque les doses d'oxygène sont plus importantes. On peut noter qu'avec moins d'oxygène, la diminution de la polymérisation continue fortement jusqu'au deuxième mois pour être ensuite stabilisée. L'oxygène semble stabiliser cette chute dès le premier mois (figure 6).

III. Analyses statistiques sur les anthocyanes

1. Anthocyanes totales

Les résultats des SOM réalisés sur les anthocyanes totales sont donnés dans la figure 7 ci-dessous.

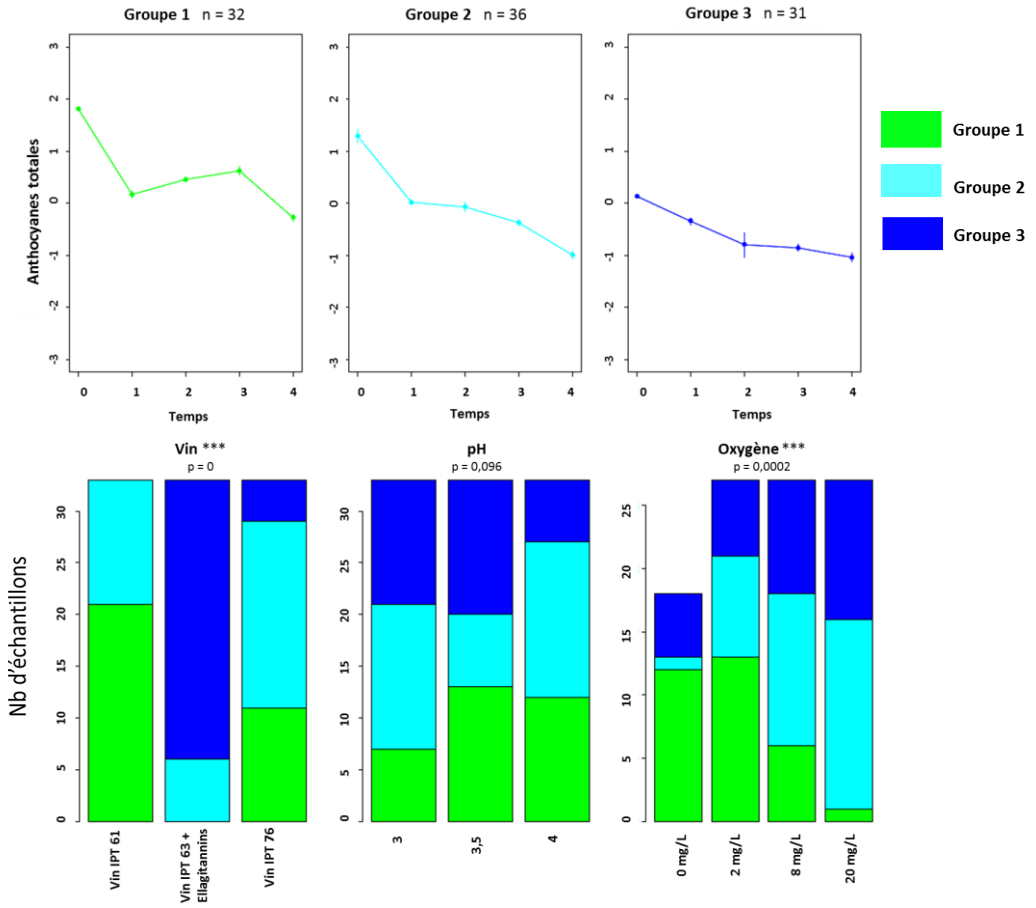


Figure 7 : Self Organizing Map sur les anthocyanes totales lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Pour les SOM sur les anthocyanes totales, 3 groupes ont été retenus (G1, G2 et G3). Dans le premier, les échantillons correspondent aux teneurs en anthocyanes totales diminuent de façon intermédiaire. Le G2 contient les échantillons dont les teneurs en anthocyanes totales qui diminuent le plus fortement au cours du temps. Pour finir, G3 correspond au groupe où les teneurs moyennes sont à la fois les plus basses et diminuent le moins au cours du temps (figure 7).

Les vins montrent des différences significatives, avec $p < 0,001$. La majorité des échantillons du vin d'IPT 63 enrichi en ellagitannins appartiennent au G3, où les teneurs sont les plus basses mais diminuent moins fortement.

L'oxygène conduit à des différences fortement significatives avec $p < 0,01$ (figure 7). On peut voir deux évolutions simultanées : à mesure que les doses d'oxygène augmentent dans les vins, le nombre d'échantillons qui appartiennent au G1 (diminution moyenne des anthocyane avec stagnation entre T1 et T3) diminue, et le nombre de ceux appartenant au G2 (diminution forte et régulière des anthocyanes) augmente. Le nombre d'échantillons appartenant au G3 augmente lui aussi avec les

doses d'oxygène, mais de façon plus modérée. Ces résultats indiquent que l'oxygène favorise la diminution des teneurs en anthocyanes totales dans les vins.

2. Anthocyanes polymérisées

Les SOM réalisées sur les pourcentages d'anthocyanes libres, d'anthocyanes + tannins oligomères ainsi que d'anthocyanes + tannins polymères font l'objet de ce paragraphe et sont donnés en figures 8, 9 et 10.

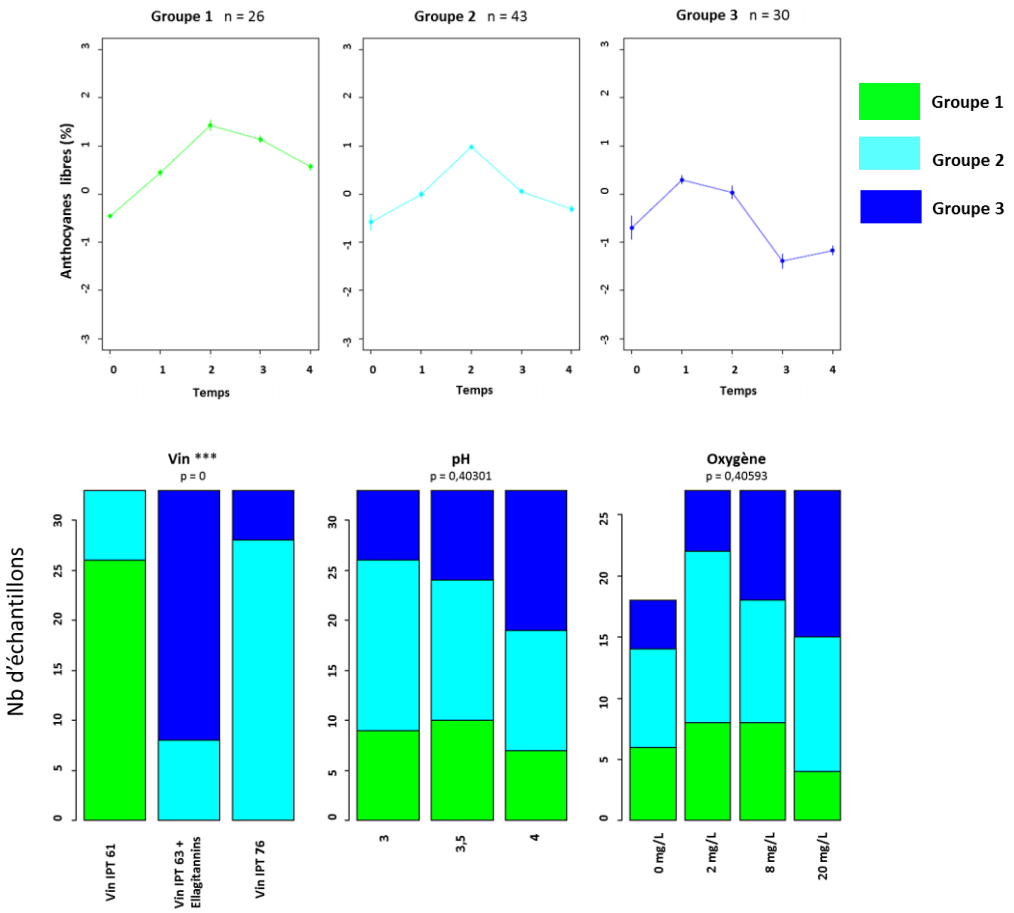


Figure 8 : Self Organizing Map sur les pourcentages d'anthocyanes libres lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Les résultats donnent 3 groupes (G1, G2 et G3). G1 montre un profil de courbe en augmentation entre T0 et T2, suivie d'une diminution sur les deux derniers mois (figure 8). G2 a la même tendance, si ce n'est que la diminution sur les deux derniers mois est plus forte, avec retour ensuite à la valeur de départ. Quant à G3, son profil indique l'atteinte d'un plateau à T1 et T2, suivi par une diminution plus marquée à partir de T2, pour atteindre une valeur légèrement plus basse que celle de T0.

Les différences au niveau des vins sont très fortes avec $p < 0,0001$ (figure 8). Le vin d'IPT 61 est celui qui possède le plus d'échantillons appartenant au G1, où les % d'anthocyanes libres redescendent le

moins après T2. Le vin d'IPT 76 possède une majorité d'échantillons appartenant au G2, où les % d'anthocyanes libres reviennent aux mêmes valeurs qu'à T0 au cours des deux derniers mois. Quant au vin d'IPT 63 + ellagitannins, c'est celui qui semble montrer le plus d'activité dans la polymérisation des pigments, puisque la majorité de ses échantillons appartiennent au G3 (figure 8).

L'oxygène, même si les différences ne sont pas significatives, montre un effet sur cette analyse, puisque plus les doses augmentent et plus le nombre d'échantillons appartenant au G3 augmente (figure 8).
Les résultats sur les pourcentages d'anthocyanes + tannins polymères sont donnés en figure 9.

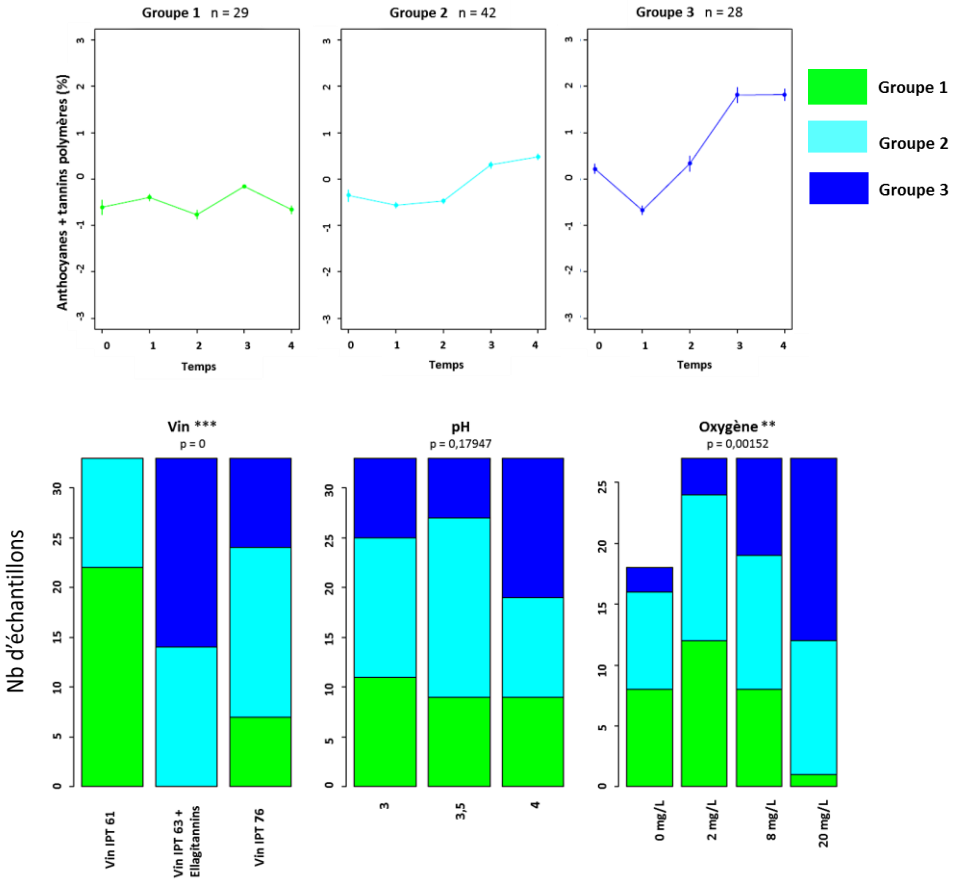


Figure 9 : Self Organizing Map sur les pourcentages d'anthocyanes + tannins polymères lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Les tendances de courbes obtenues varient entre la stagnation (G1), l'augmentation au cours du temps (G2) et une forte augmentation au cours du temps (G3).

Les vins montrent une différence très sigbificative avec p > 0,0001 (figure 9). Le vin d'IPT 63 + ellagitannins est celui pour qui les pigments polymériseraient le plus, puisque ce vin est celui qui a le plus d'échantillons appartenant au G3 (figure 9). Le vin d'IPT 61 est celui dont les pigments

polymérisent le moins, avec la majorité de ses échantillons appartenant au G1. Le vin d'IPT 76 montre une tendance moyenne.

Les différences au niveau de l'oxygène sont aussi très significatives, avec $p < 0,001$ (figure 9). Pour les doses d'oxygène, on peut voir clairement que plus les doses augmentent et plus le nombre d'échantillons appartenant au G3 augmente (figure 9). Parallèlement à cela, le nombre d'échantillons appartenant au G1, le groupe où la polymérisation reste constante au cours du temps, diminue.

Que ce soit sur le facteur du vin ou celui des doses d'oxygène, les résultats concordent avec ceux présentés figure 8. En effet, pour le vin, on a pu voir que l'IPT 63 + ellagitannins était celui où les pourcentages d'anthocyanes libres diminuaient le plus vite : c'est aussi celui où les anthocyanes polymérisent davantage au cours du temps avec les tannins polymères. En ce qui concerne les doses d'oxygène, on a pu voir pour les pourcentages d'anthocyanes libres, en figure 8, que les différences à ce niveau n'étaient pas significatives. Cependant, les tendances suivies concordent avec celles des anthocyanes + tannins polymères en figure 9 : avec des doses d'oxygène plus importantes, tandis que le nombre d'échantillons pour lesquels le pourcentage d'anthocyanes libres diminuent est plus important (figure 8), il y a aussi davantage d'échantillons pour lesquels le pourcentage en anthocyanes + tannins polymères augmente au fil du temps (figure 9).

IV. Analyses statistiques sur les paramètres colorimétriques

Les SOM ont été réalisés sur les analyses de colorimétrie : intensité colorante, teinte, ainsi que paramètres L, a et b.

1. Intensité colorante, Teinte et contribution du mauve

Les SOM effectués sur l'intensité colorante ainsi que la teinte sont donnés dans les figures suivantes.

Les SOM permettent de créer trois groupes (G1, G2 et G3) pour l'intensité colorante (figure 10). G1 rassemble tous les échantillons dont l'intensité colorante diminue au cours du temps. G2 ceux dont l'intensité colorante augmente très légèrement au cours du temps. Quant à G3, les échantillons rassemblés dans ce groupe voient leur intensité colorante augmenter de manière importante au cours du temps (figure 10). De plus, de G1 à G3, les niveaux de courbes se décalent vers le haut.

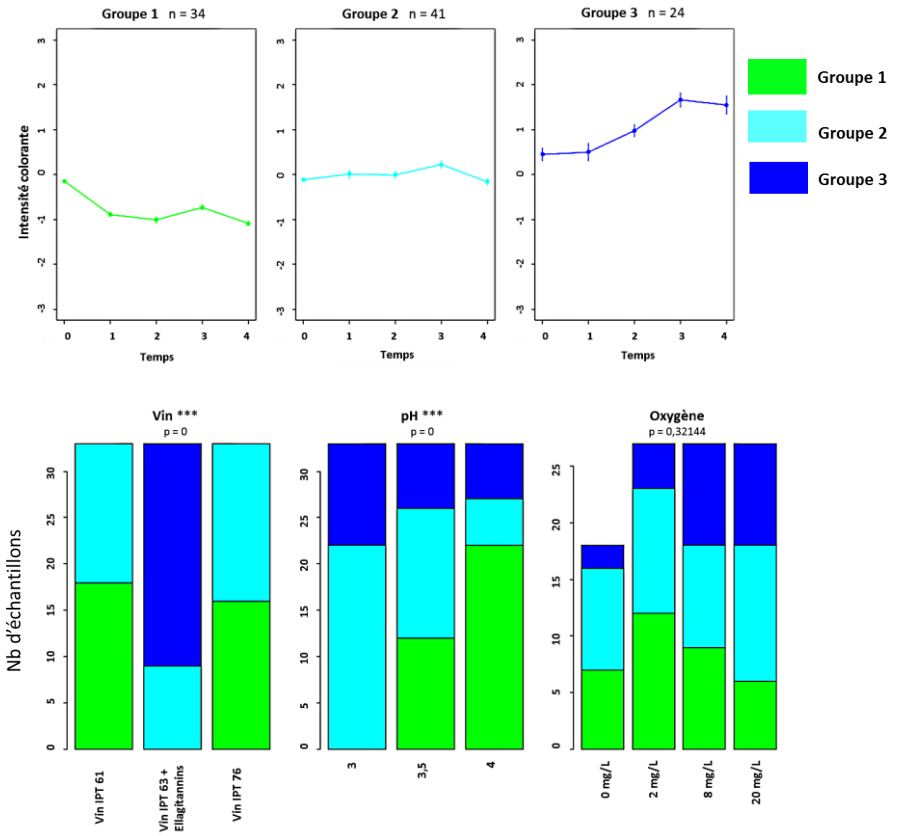


Figure 10 : Self Organizing Map sur l'intensité colorante lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

On peut observer que le vin d'IPT 63 + ellagitannins est différent des deux autres, puisqu'environ 75 % de ses échantillons appartiennent au G3, où les valeurs augmentent fortement au cours du temps. Les deux autres vins sont similaires, avec leurs échantillons répartis de manière égale entre G1 et G2. Les différences sont très significatives, avec $p < 0,0001$. Ces résultats laissent supposer que la présence d'ellagitannins dans le vin rouge serait capable de favoriser la stabilisation de la couleur et ce, principalement à pH acide.

Les différences liées aux pH sont aussi fortement significatives avec $p < 0,0001$ (figure 10). Plus le pH devient acide, et plus le nombre d'échantillons appartenant à G2, et dans une moindre mesure, G3, augmente. Ceci indique deux choses. La première, que l'acidité impacte le niveau d'intensité colorante puisque de G1 à G3, les courbes sont placées plus haut. Comme les anthocyanes sont responsables de la couleur dans les vins rouges, et que la forme flavylium colorée est favorisée en milieu acide, ces résultats sont cohérents. En fait, le pH a une influence directe sur le niveau d'intensité colorante sans regarder l'évolution au cours du temps. La deuxième chose, c'est justement l'impact au cours du temps, où on voit que l'acidité favorise l'augmentation de l'intensité colorante au cours du temps (figure 10).

Les différences liées à l'oxygène ne sont pas significatives. Cependant, on observe une tendance logique puisque plus les doses d'oxygène augmentent, et plus le nombre d'échantillons appartenant à G3 augmente, tandis que le nombre appartenant à G1 diminue. L'oxygène semble donc favoriser la

stabilisation de l'intensité colorante dans le cadre de nos analyses (figure 10), même si les différences ne sont pas statistiquement significatives.

Les SOM relatifs à la teinte sont présentés dans la figure 11 ci-dessous.

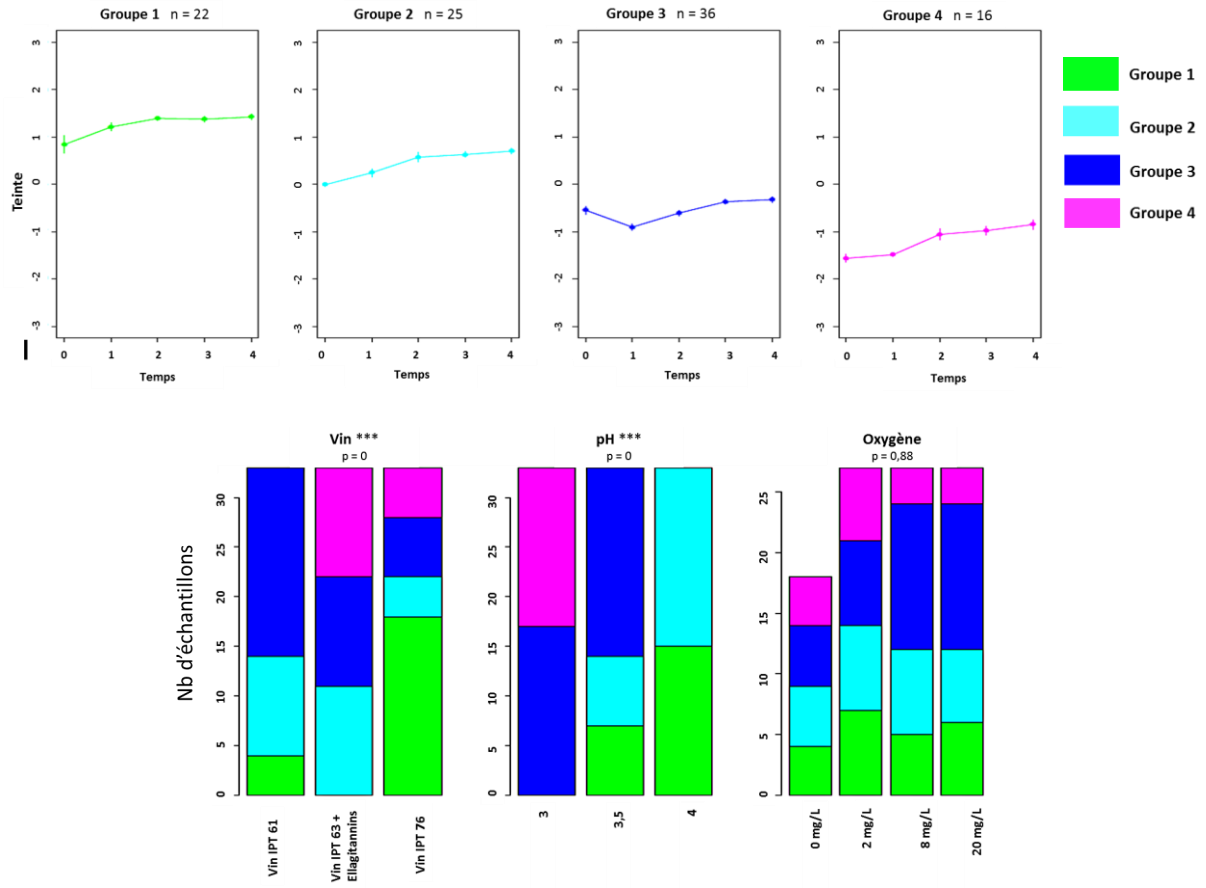


Figure 11 : Self-Organizing Map sur la teinte lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

4 groupes ont été retenus, G1, G2, G3 et G4. Tous les groupes montrent une augmentation de la teinte au cours du temps. La différence réside dans le fait que les valeurs qui diminuent de G1 à G4 (figure 11).

Les différences liées aux vins sont significatives avec $p < 0,0001$ (figure 11). On peut remarquer que le vin d'IPT 76 est celui qui montre une évolution plus importante de la teinte, puisque plus de 50 % de ses échantillons appartiennent au G1, où la teinte est la plus forte et augmentent de manière plus importante au cours du temps (figure 11). Le vin d'IPT 63 + ellagitannins, en revanche, présente une évolution de la teinte beaucoup moins importante , puisque ses échantillons sont répartis de manière égale entre les groupes G2, G3 et G4. C'est aussi le vin qui contient le plus d'échantillons appartenant au G4, où la teinte est la moins forte (figure 11). Pour le vin d'IPT 61, il présente un niveau de teinte intermédiaire.

Le pH est aussi un paramètre au sein duquel les différences sont très marquées, avec $p < 0,0001$ (figure 11). On peut voir que l'augmentation de la teinte au cours du temps est nettement influencée et favorisée lorsque le pH augmente. En effet, les vins à pH 3 sont répartis de manière égale entre G3 et G4, où la teinte est la moins forte. Pour les vins à pH 4, les échantillons sont répartis de manière égale entre G1 et G2, où la teinte est la plus forte (figure 11). Les vins à pH 3,5 ont une répartition intermédiaire : ils expriment une teinte plus importante qu'à pH 3, mais moins forte qu'à pH 4 (figure 11).

Les intensités colorantes montrent l'intensité des couleurs dans le vin rouge. C'est la somme des absorbances à 420, 520 et 620 nm. Or, il est évident que nous ne pouvons pas savoir, avec ce simple paramètre, quelle longueur d'onde participe le plus à l'évolution de l'intensité colorante. Pour cette raison, les résultats de SOM sur le pourcentage de contribution du mauve (absorbance à 620 nm) sont présentés en figure 12. Les pourcentages de contribution du jaune (absorbance à 420 nm) et du rouge (absorbance à 520 nm) ne seront pas présentés, car nous estimons qu'ils peuvent être déduits de par l'évolution de la teinte, où les valeurs sont le ratio d'absorbance à 420 nm sur absorbance à 520 nm.

Pour les SOM réalisés sur le poucentage de contribution du mauve, 4 groupes ont été retenus (G1 à G4). G1 est le groupe où les tendances de courbes sont les plus hautes et augmentent le plus au cours du temps. Plus on va vers G4, et plus les tendances de courbes sont à la diminution du mauve au cours du temps (figure 12).

Le pH montre des différences significatives importantes, avec $p < 0,0001$. A pH 3, plus de 80 % des échantillons sont répartis entre G3 et G4, où les valeurs diminuent le plus au cours du temps (figure 12). Inversement, les vins à pH 4 voient leurs échantillons se répartir entre G1 et G2, où les tendances sont le plus à la hausse au cours du temps. Pour ceux de pH 3,5, on observe une tendance intermédiaire avec ses échantillons presque également répartis entre G2 et G3 (figure 12). Par conséquent, on peut dire qu'une augmentation de pH favorise l'évolution de la couleur de nos vins rouges vers le mauve.

Les vins présentent eux aussi des différences significatives pour ce paramètre, avec $p < 0,0001$ (figure 12). Les vins d'IPT 61 et d'IPT 76 montrent des répartitions proches au niveau de leurs échantillons, entre G2 et G4. Cela signifie que leurs échantillons voient leur pourcentage de contribution du mauve soit augmenter légèrement au cours du temps (G2), soit diminuer (G4) (figure 12). En revanche, le vin d'IPT 63 + ellagitannins montre que près de 50 % de ses échantillons appartiennent à G1, où les pourcentages de contribution du mauve augmentent nettement plus que pour G2, G3 ou G4 (figure 12). Ceci démontre par conséquent que l'enrichissement en ellagitannins peut amener un vin rouge à voir sa couleur dériver vers le mauve. Cet effet a été rapporté par Chassaing et al., en 2010, où la découverte d'un anthocyano-ellagitannin dans son étude serait une explication moléculaire possible de ce changement de couleur observé pour des vins rouges élevés en fûts de chêne.

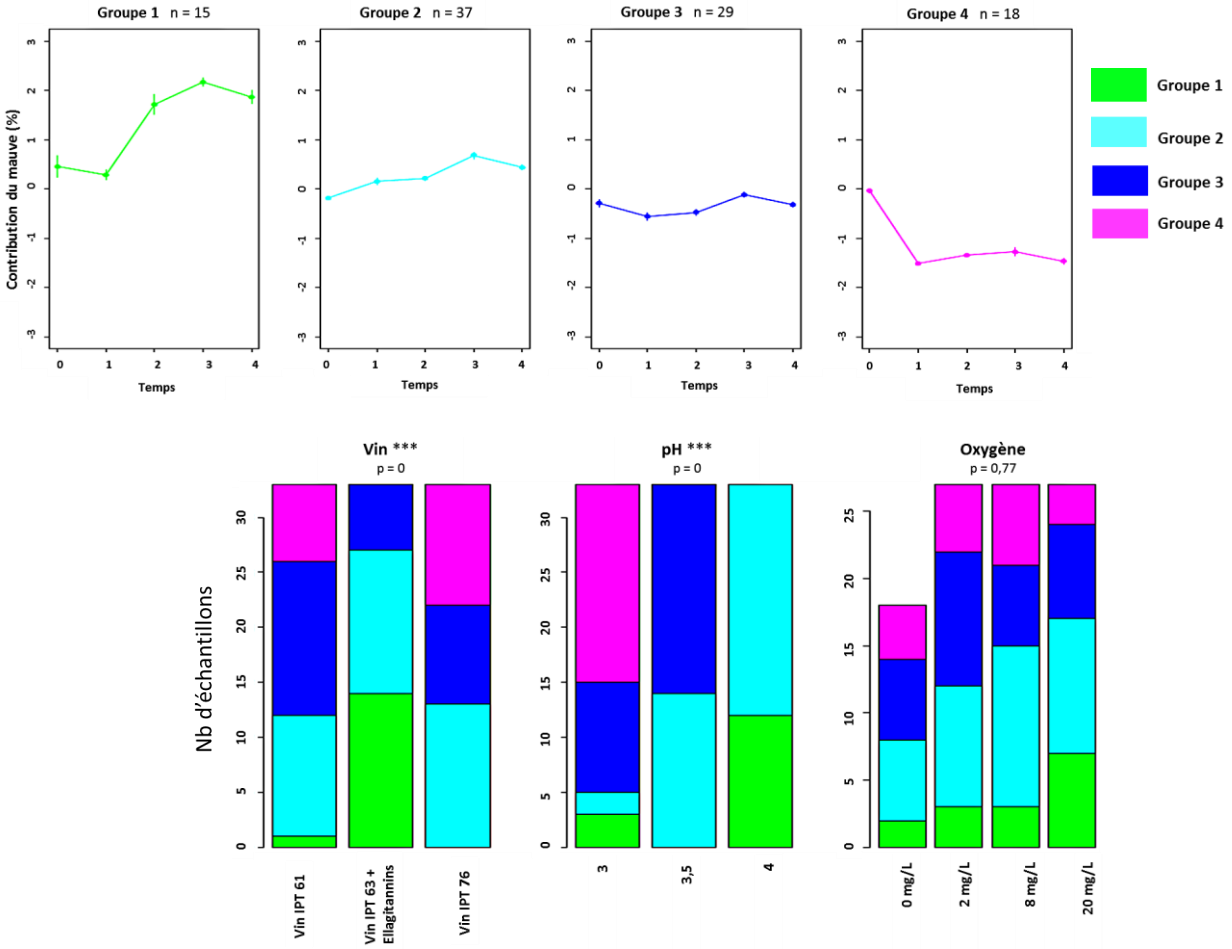


Figure 12 : Self-Organizing Map sur le pourcentage de contribution du mauve lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

2. Système CIELab

Les SOM (Self-Organizing Maps) ont été réalisés sur les paramètres colorimétriques mesurés dans le système CIELab pour chaque composante, L (luminosité), a (rouge) et b (jaune).

Les SOM réalisés sur la composante L sont donnés dans la figure 13 ci-après.

Pour ces SOM, 2 groupes ont été retenus (G1 et G2). G1 regroupe les échantillons dont les valeurs de luminosité sont plus hautes et augmentent au cours du temps. Pour le G2, les valeurs de luminosité sont plus basses et diminuent au cours du temps.

Au niveau des vins, les différences sont fortement significatives avec $p < 0,0001$ (figure 13). Le vin qui se différencie nettement des autres est le vin d'IPT 63 + ellagitannins, où presque la totalité de ses échantillons appartient au G2.

Les pH montrent des différences très significatives avec $p < 0,0001$. On peut voir que plus le pH augmente, et plus le nombre d'échantillons appartenant à G1 augmente, indiquant que l'acidité participe à la diminution de la luminosité dans les vins rouges (figure 13).

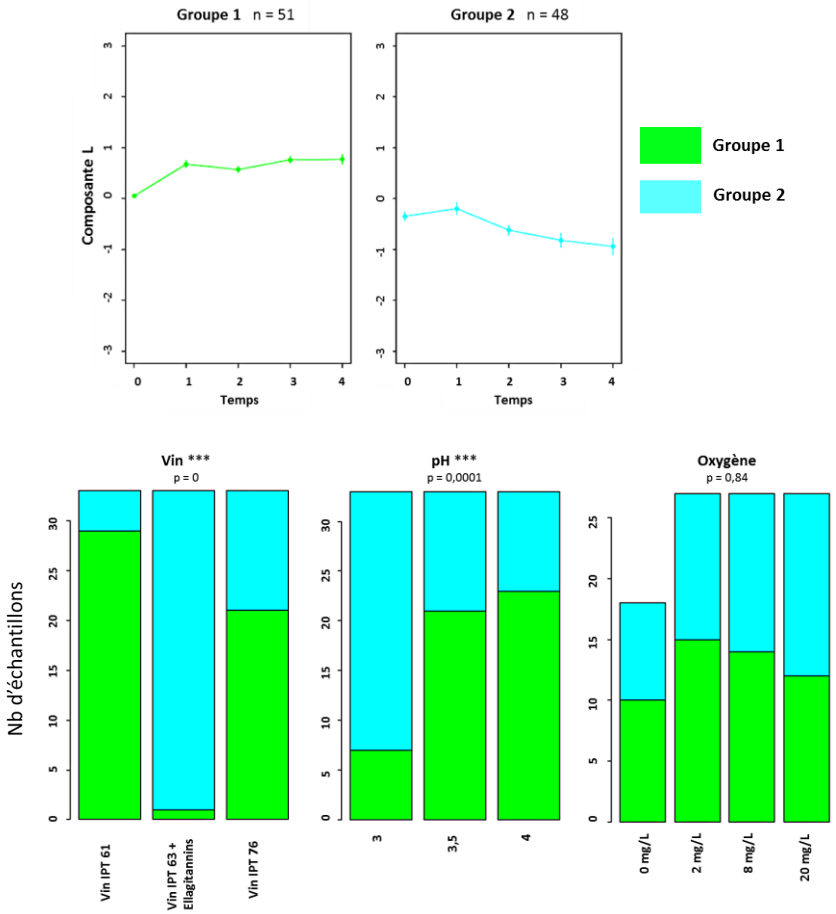


Figure 13 : Self-Organizing Map sur la composante de luminosité (L) lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Les résultats des SOM sur la composante L montrent une forte similarité avec les SOM sur l'intensité colorante, présentés précédemment figure 10. En effet, dans les deux cas, le vin d'IPT 63 + ellagitannins est celui qui se distingue des deux autres. Pour ce vin d'IPT 63, la majorité de ses échantillons possède un niveau de luminosité plus bas qui diminue au cours du temps (figure 13), et une intensité colorante plus élevée qui augmente au cours du temps (figure 10). De même, lorsque l'acidité augmente, l'intensité colorante a tendance à augmenter (figure 10) et la luminosité diminuer (figure 13).

Ainsi, la mesure de la luminosité correspondrait en réalité à l'inverse de l'intensité colorante. Ceci peut se comprendre, puisqu'une augmentation de luminosité dans le vin rouge signifie qu'il est plus clair, et présente donc une intensité colorante moins importante.

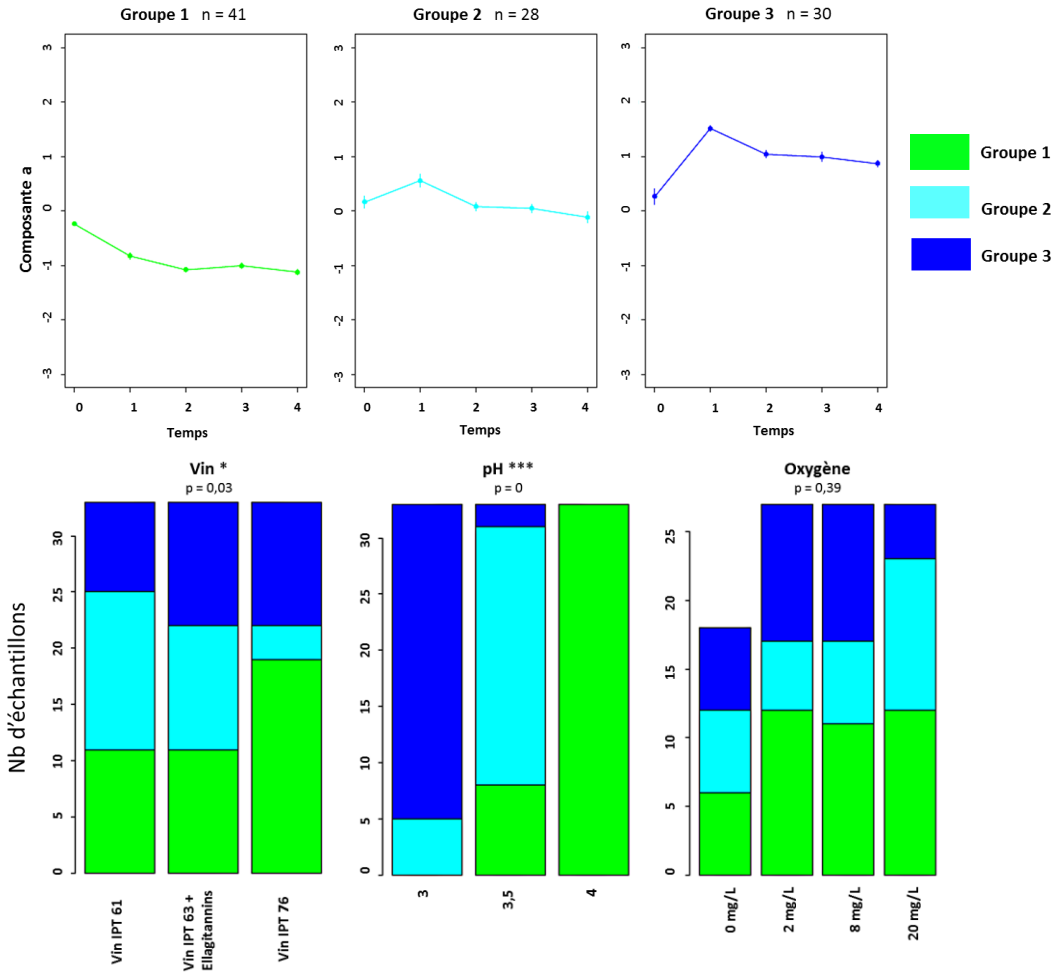


Figure 14 : Self-Organizing Map sur la composante rouge (a) lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Les SOM réalisés sur la composante a (rouge) sont donnés dans la figure 14 ci-dessus. Trois groupes ont été retenus, G1, G2 et G3. Dans G1, la composante a diminue au cours du temps. Dans G2, elle est en moyenne plus haute, et reste constante au cours du temps. Dans G3, les valeurs sont plus hautes que dans G2 et augmentent légèrement au cours du temps (figure 14).

Les différences sont significatives entre les vins avec $p < 0,05$. On peut voir que le vin d'IPT 76 est celui qui comporte le moins d'échantillons appartenant au G2, indiquant que c'est dans ce vin où la composante a diminue globalement le plus au cours du temps.

Sur le pH, les différences sont très significatives avec $p < 0,0001$ (figure 14). L'écrasante majorité des échantllons à pH 3 apaprtiennent au G3, où les valeurs de la composante a sont plus hautes et augmentent au cours du temps. Tous les échantillons à pH 4 appartiennent à G1, où la composante a est plus basse et diminue au cours du temps (figure 14). On peut voir un effet très net du pH, puisque l'acidité permet d'avoir un vin plus rouge. Ceci est assez bien corroboré avec les observations réalisées sur l'intensité colorante, où l'acidité permet d'augmenter ce paramètre (figure 10).

Les SOM effectués sur la composante b (jaune) sont donnés dans la figure 15. 3 groupes (G1, G2 et G3) ont été retenus. G1 est le groupe où les échantillons ont une composante b plus élevée qui

augmente au cours du temps. Dans G3, les valeurs sont les plus basses et diminuent faiblement au cours du temps. Une position de courbe intermédiaire et une stagnation au cours du temps sont les caractéristiques de la courbe G2 (figure 15).

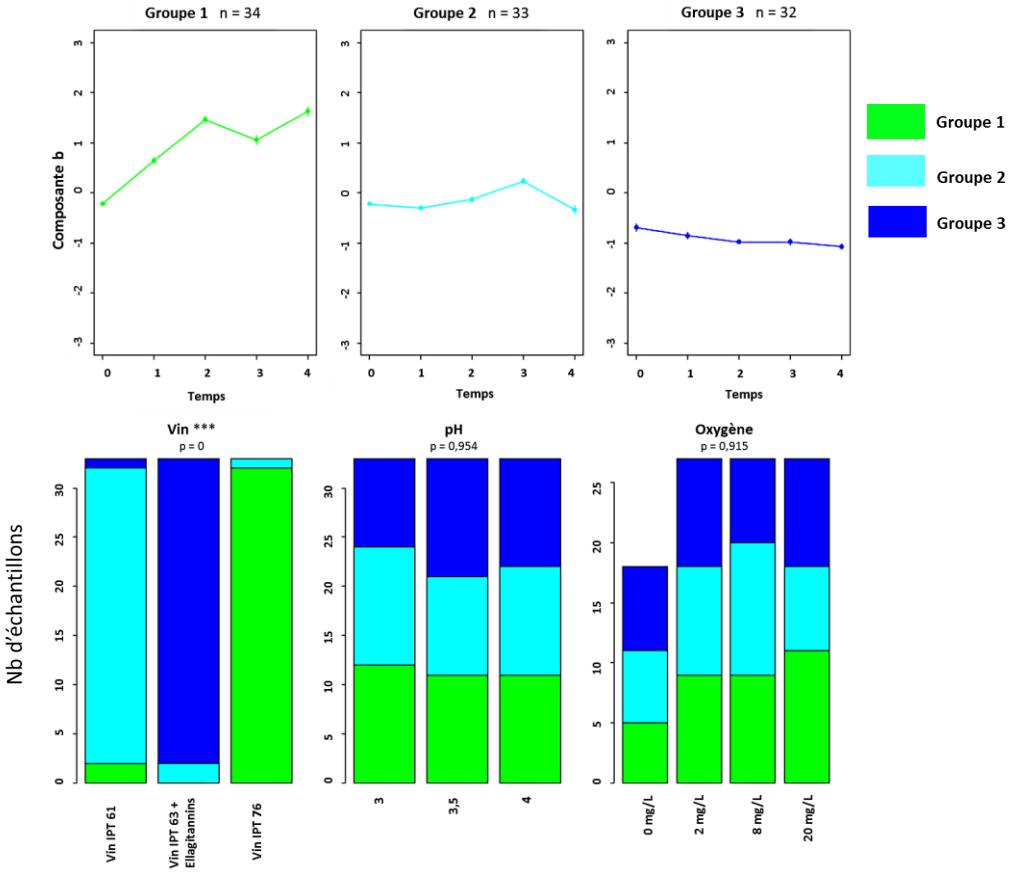


Figure 15 : Self-Organizing Map sur la composante jaune (b) lors d'apports d'oxygène dans des vins de Merlot

Les effets pH et oxygène présentent des profils assez proches pour la composante jaune. Seul le cas du facteur vins conduit à des différences significatives avec $p < 0,0001$ (figure 15). Il apparait clair que chaque vin voit presque la totalité de ses échantillons appartenir à un seul groupe. Le vin d'IPT 61 est celui dont les échantillons voient leur valeur de composante b rester stable, puisqu'ils apaprtiennent au G2. Le vin d'IPT 63 + ellagitannins est celui pour lequel les échantillons ont la valeur b la plus basse, et diminue au cours du temps. Dans le vin d'IPT 76, les échantillons appartiennent au G1 où la valeur b est la plus haute et augmente au cours du temps (figure 15).

Ces résultats restent difficiles à interpréter. En effet, la composante b qui correspond à la couleur jaune, pourrait se corréler avec la teinte. Or, les différents pH possèdent une influence sur la teinte, ce qui n'est pas le cas ici. Par contre, le vin enrichi en fraction d'ellagitannins possédait la teinte la plus faible, et le vin d'IPT 76 la plus forte. Nous retrouvons ici la même tendance sur les analyses de la composante b en figure 14.

3. Reconstitution de la couleur des vins

Nous abordons ici l'évolution au cours du temps des couleurs de tous les échantillons, tous vins, tous pH et toutes doses d'oxygénation réunies. Que ce soit dans les chapitres précédents relatifs aux vins étudiés, ou dans celui-ci pour les études statistiques, nous avons discuté de l'évolution au cours du temps de l'intensité colorante, de la teinte, et des trois composantes L, a et b pour les différentes modalités. Or, il est parfois plus parlant et plus représentatif pour l'esprit humain d'avoir une représentation visuelle et directe d'un paramètre comme la couleur, raison pour laquelle les représentations sont montrées ici.

La reconstitution des couleurs est rendue possible par le traitement des coordonnées L, a et b dans le système CIELab par un logiciel spécialisé. Il faut cependant avoir une chose importante à l'esprit : les mesures ont été effectuées dans des cuves en quartz de 1 mm. Ainsi, les couleurs représentées sont celles d'un vin mis dans une cuve de 1 mm d'épaisseur. Les couleurs ne représentent donc pas la couleur qu'aurait un vin rouge dans un verre de dégustation.

Les représentations sont données en figure 16. De prime abord, il apparait que le vin d'IPT 76 montre une couleur plus orangée que les deux autres (figure 16 B). Nous avions déjà observé ceci à travers l'étude de l'évolution de la composante b (jaune) en figure 15, où tous les échantillons de ce vin montraient une plus haute valeur de b ainsi qu'une plus forte augmentation au cours du temps.

Au niveau des différents pH, il est aisé de constater que plus le pH augmente et plus les couleurs des vins perdent de leur intensité (figure 16). Ceci est dû au fait que les anthocyanes sont davantage présentes sous forme cation flavylium lorsque l'acidité augmente.

Si l'on regarde les vins à pH 3, on peut remarquer que les doses d'oxygène n'influencent pas réellement la couleur entre T0 et T1. A T2, on peut noter que la modalité sans oxygène du vin d'IPT 61 (figure 16 A) est plus foncée que les autres. Pour ce même vin à T3 et T4, les couleurs foncent avec les doses d'oxygène. Sur le vin d'IPT 76 (figure 16 B), les doses d'oxygène n'induisent aucune variation de couleur visible pour ce pH : les changements de couleur suivent le temps. Quant au vin d'IPT 63 + ellagitannins (figure 16 C), les doses d'oxygène amènent ici aussi une couleur plus foncée à T2 et T3. Les différences sont ensuite moins visibles au dernier mois, à T4.

Si l'on regarde maintenant les vins à pH 3,5, les différences de couleur sont moins perceptibles que pour les vins à pH 3. Cepedant, on peut voir que le vin d'IPT 63 + ellagitannins (figure 16 C) ne montre pas de réelle évolution. A T4, les couleurs sont très proches de ce qu'elles étaient au départ de l'expérience. Sur le vin d'IPT 61 (figure 16 A), les couleurs semblent un peu plus intenses à T4 en comparaison avec T0. Néanmoins, la modalité avec 20 mg/L d'oxygène montre le même effet qu'à pH 3, à savoir un « brunissement » du vin (figure 16 A). Concernant le vin d'IPT 76 (figure 16 B), on peut remarquer qu'entre T0 et T4, les couleurs sont devenues plus orangées que ce qu'elles pouvaient être au départ. De plus, ce ton orangé est plus important pour les modalités de 8 et 20 mg/L d'oxygène (figure 16 B), ce qui est logique.

Pour terminer, les vins à pH 4 présentent des différences de couleur plus difficiles à cerner, excepté pour le vin d'IPT 63 + ellagitannins où les variations sont très marquées (figure 16 C). A partir de T2, les échantillons montrent une couleur plus foncée, qui est plus persistante pour les modalités avec 8 et 20 mg/L d'oxygène (figure 16 C). Les variations sont plus faibles sur le vin d'IPT 61 (figure 16 A) puisque les échantillons montrent des couleurs similaires entre T1 et T4. Là aussi, la modalité à 20 mg/L montre une couleur moins intense et des variations quasiment nulles au cours du temps (figure 16 A). Enfin, pour le vin d'IPT 76, les variations de couleur à pH 4 sont presque imperceptibles à l'œil nu. On peut globalement dire qu'à partir du T2, les échantillons deviennent plus orangés de manière similaire (figure 16 B).

Cette reconstitution chromatique est intéressante, dans le sens où elle permet de rendre compte visuellement des conclusions tirées sur les paramètres colorimétriques précédemment discutés. Par exemple, nous avions vu que le vin enrichi en fraction d'ellagitannins avait une intensité colorante supérieure par rapport aux deux autres vins, alors que sa teinte était globalement inférieure : sur la figure 16, on peut aisément observer que le vin enrichi en ellagitannins possède globalement des couleurs plus intenses que les deux autres. De plus, des différences ont été observées sur les pourcentages de contribution du mauve. On avait vu, en figure 12, que ce pourcentage augmentait à la fois pour les plus hauts pH, mais aussi pour le vin enrichi en fraction d'ellagitannins. On peut se rendre compte ici, sur la figure 16, que les vins à pH 4 sont effectivement bien plus mauves que ceux à pH 3. De plus, le vin enrichi en fraction d'ellagitannins est celui qui présente le plus de tons mauves (figure 16). Ceci avait été discuté par Chassaing et al., en 2010, où son étude sur les caractéristiques d'un composé flavano-ellagitannin serait une des clés moléculaires pouvant expliquer le virement vers des tons plus mauves pour des vins rouges élevés en fûts de chêne.

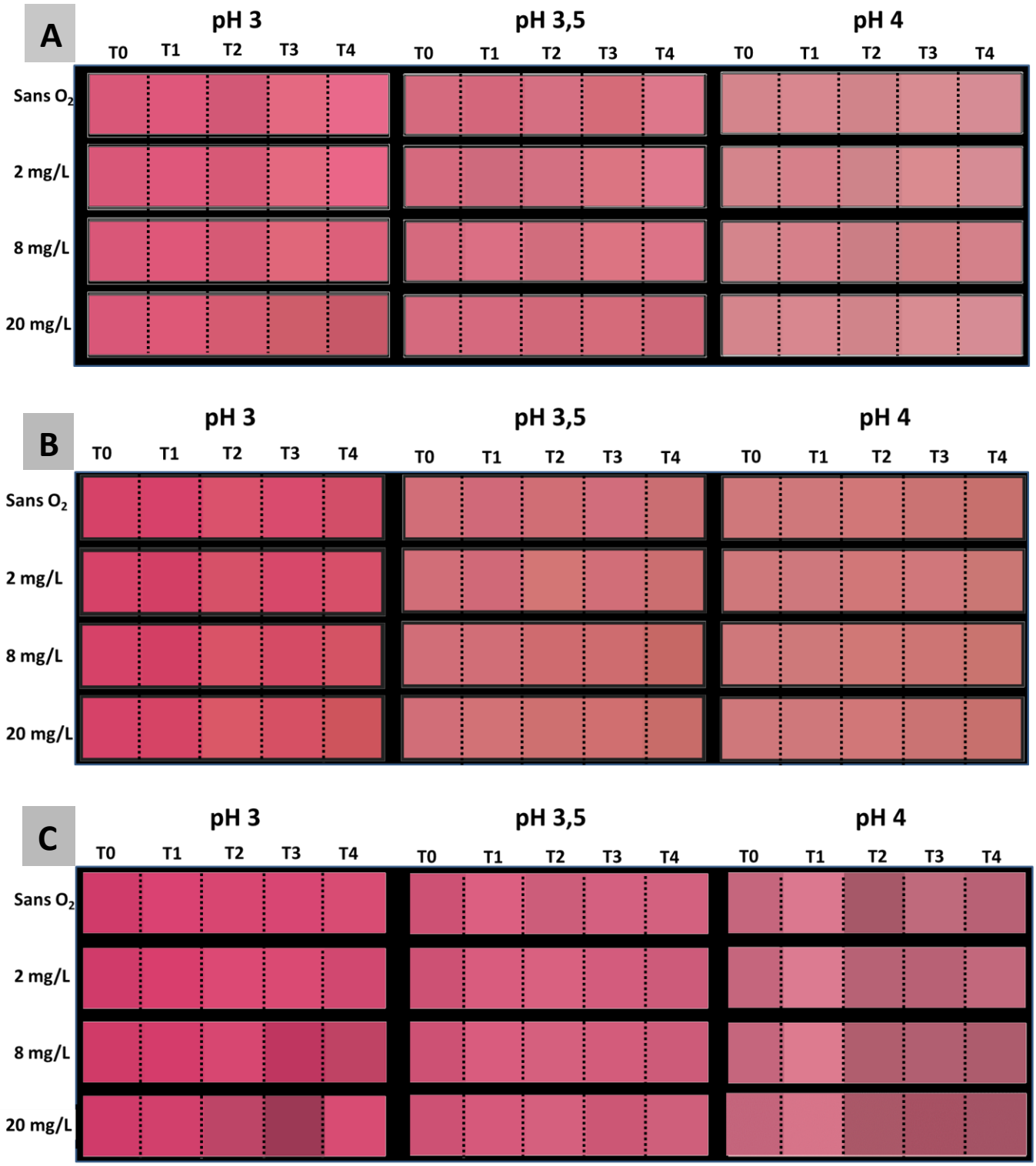


Figure 16 : Reconstitution chromatique au cours des 4 mois d'apports d'oxygène pour les vins de Merlot, analysés en cuve quartz 1 mm.

A : Vin d'IPT 61 ; **B :** Vin d'IPT 76 ; **C :** Vin d'IPT 63 + Ellagitannins.

V. Analyses statistiques globales : ACP, parts de variances et corrélations

Des analyses statistiques globales ont été réalisées afin d'avoir un aperçu global de l'effet des différents facteurs étudiés (oxygène, temps, pH et vin) pour les différentes variables, qui correspondent à nos analyses chimiques. Ceci est principalement montré par l'analyse ACP (Analyse en Composante Principale) de la figure 17, ainsi que les parts de variance des ANOVAs en figure 18. L'ACP permet de grouper certaines variables qui sont sous l'influence d'un même facteur. Cependant, il est parfois difficile de savoir quel facteur a un effet plus ou moins important sur une variable donnée, d'où l'observation des parts de variance d'ANOVA qui montre précsiément la part de variation induite par chaque facteur sur chaque variable. On peut par exemple connaître la part de variation induite par le temps, le pH, l'oxygène ou le vin, mais aussi par des facteurs croisés deux à deux, tels que pH x Oxygène, Oxygène x Vin etc. Le graphique est montré figure 18. Les variables ont été regroupées selon les facteurs induisant le plus de variations pour plus de clarté.

L'ACP, en figure 17, montre deux axes. L'axe 1 explique 37 % de variations, et l'axe 2, 16 %. L'axe 1 permet de séparer les différents temps, ainsi que les doses d'oxygène dans une moindre mesure. Les pH 3, 3,5 et 4 sont séparés par l'axe 2. En ce qui concerne les différents vins, l'axe 1 permet de séparer le vin d'IPT 76 des deux autres, tandis que l'axe 2 permet de séparer le vin enrichi en ellagitannins (figure 17).

Les variables de consommation cumulée d'oxygène (noté « [O2] cumulé » figure 17) et d'anthocyanes + tannins polymères montrent des positions assez similaires sur l'ACP. L'oxygène consommé cumulé est plus proche de l'axe 2, ce qui indique qu'il est davantage influencé par l'oxygène (20 mg/L notamment). La variable d'anthocyanes + tannins polymères est plus éloignée de l'axe 2, indiquant qu'elle est influencée davantage par le temps (T3 et T4 en particulier). Les parts de variance d'ANOVAs en figure 18 confirment ces observations. On peut ajouter que pour les anthocyanes + tannins polymères, les autres facteurs ayant une influence sur les variations sont Temps x Vin ainsi que l'Oxygène. Pour la variable d'oxygène cumulé, la part importante du facteur Oxygène dans les variations est suivie par le Temps, ainsi que Temps x Oxygène (figure 18).

Les variables de tannins totaux (notés Bate-Smith), de polymérisation (BS/DM), de teinte, de pourcentage de contribution de la couleur jaune (noté A 420 %) ainsi que de composante jaune dans le système CIElab (noté b) sont tous plutôt situés dans la zone du vin d'IPT 76, ce qui montre que ce vin est caractérisé par de hautes valeurs pour ces variables : une teneur en tannins totaux plus importante, une teinte plus forte liée à une couleur jaune plus accentuée, ainsi qu'une polymérisation plus importante (figure 17). Les parts de variations de ces variables sont principalement induites par l'effet Vin, excepté pour la teinte où le pH a un rôle plus important, ainsi que pour le pourcentage de contribution du jaune, dans une moindre mesure (noté A 420 (%)) (figure 18). Pour l'indice de polymérisation BS/DM, une part importante des variations est due au facteur Temps x Vin (figure 18).

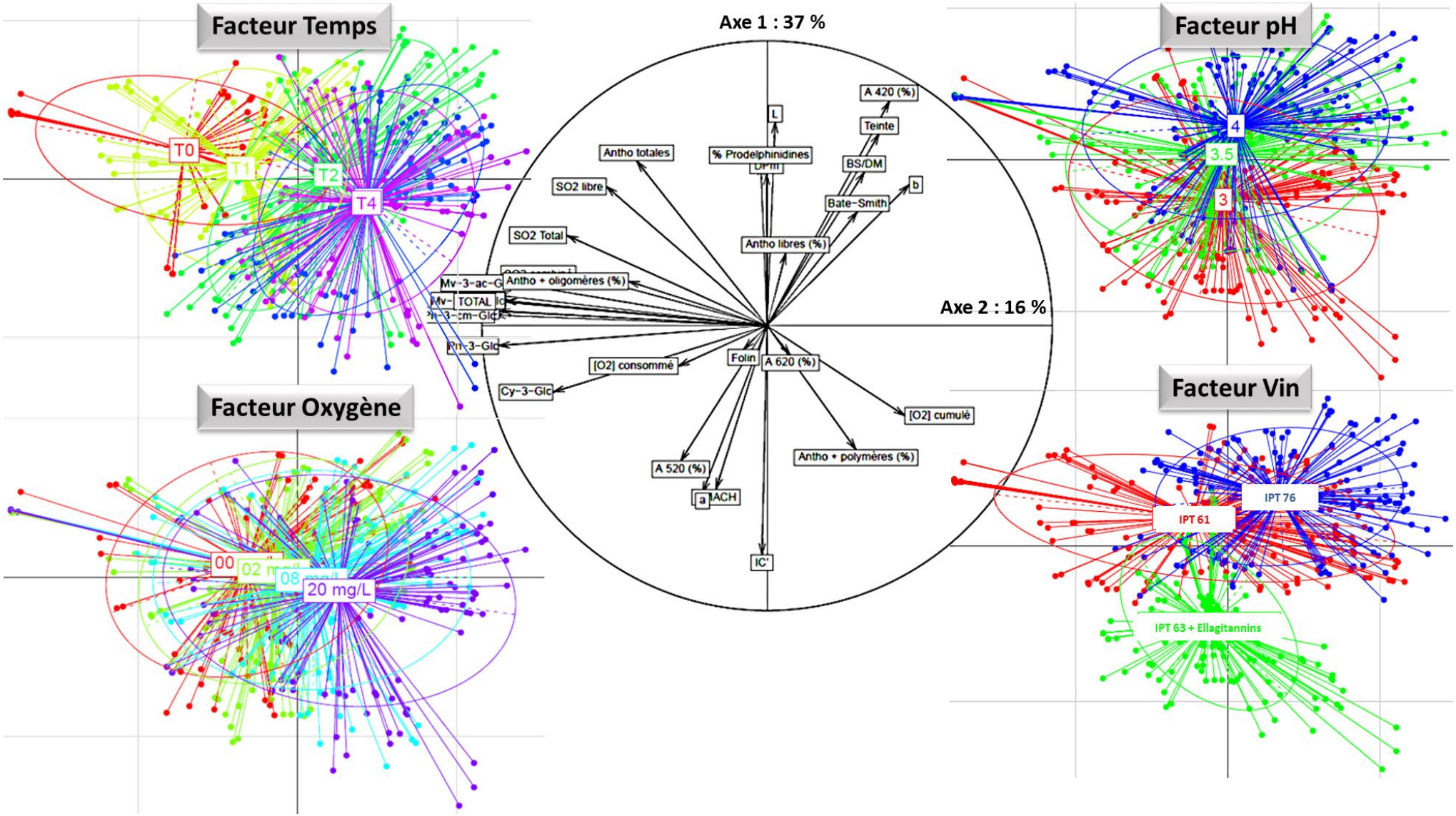


Figure 17 : Représentation d'Analyse en Composante Principale (ACP) pour les variables analyses chimiques dans des vins de Merlot lors d'apports d'oxygène.
La figure montre l'espace défini par les deux premières composantes, ainsi que les 4 facteurs discriminants : Temps, Oxygène, pH et Vin.

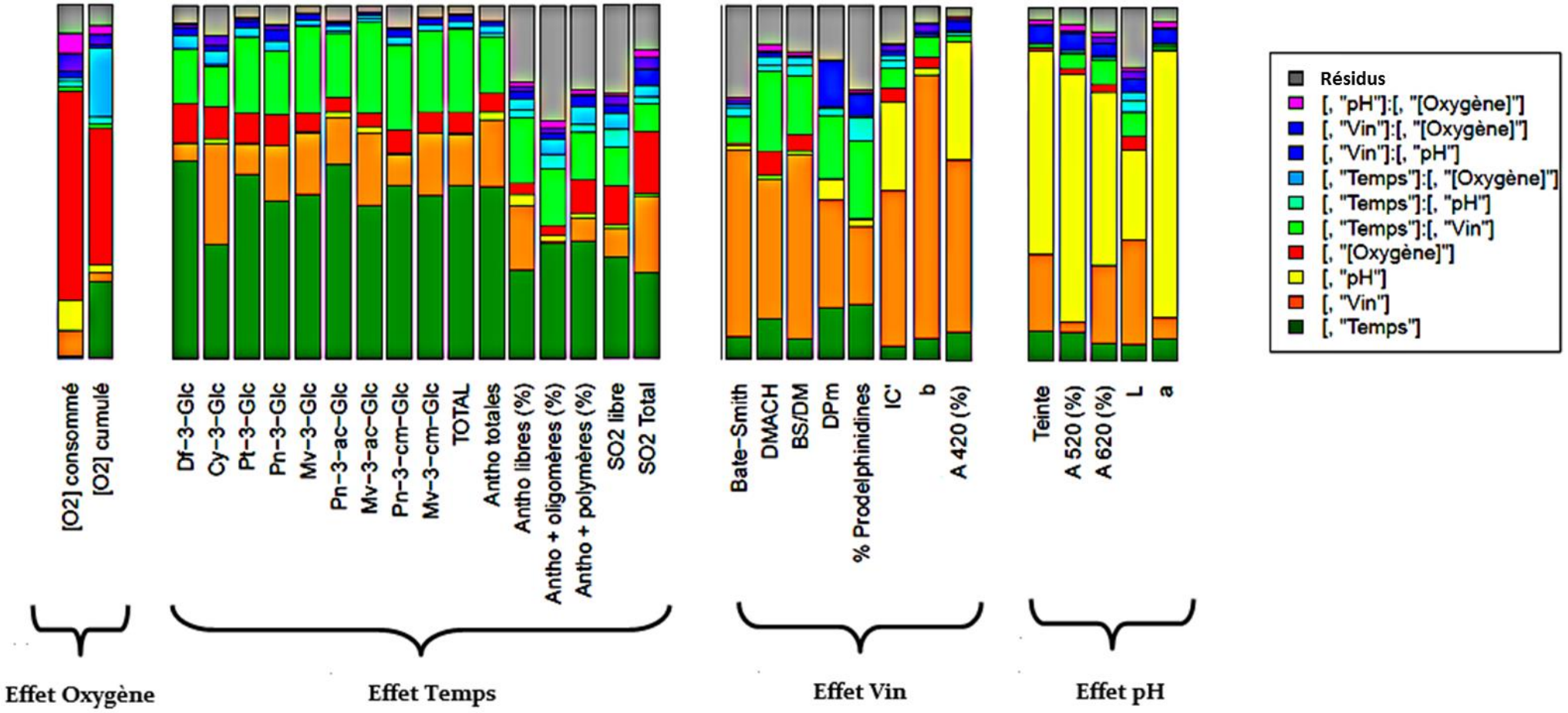


Figure 18 : Représentation graphique des analyses de parts de variation(ANOVAs).
Les barres montrent la contribution de chaque facteur dans la variation des variables étudiées.

La luminosité (noté L figure 17), les DPm ainsi que les pourcentages de prodelphinidines semblent plutôt liés aux vins à pH 4. Cela a déjà été montré et discuté au cours de ce chapitre, ainsi que des précédents en ce qui concerne la luminosité, mais nous n'avions pas noté ceci pour les DPm et les pourcentages de prodelphinidines. La figure 18 montre que la luminosité voit la plupart de ses variations induites par l'effet Vin, et pH. Pour les DPm et pourcentages de prodelphinidines, les facteurs responsables des variations principales sont le Vin, le Temps et Temps x Vin (figure 18).

Les anthocyanes totales, anthocyanes + tannins oligomères, SO_2 (libre, total et combiné), ainsi que les 9 anthocyanes moléculaires majoritaires et la somme totale de ces anthocyanes (noté TOTAL) peuvent être décrites dans un même ensemble (figure 17). L'ACP indique que ces variables semblent être corrélées avec le début des expériences (T0 et T1), de faibles teneurs en oxygène (0 et 2 mg/L) ainsi que le vin d'IPT 61. Ces résultats sont attendus, excepté pour le pourcentage d'anthocyanes + tannins oligomères, où les tendances n'étaient pas réellement claires et évidentes au cours des plans d'essai. Les anthocyanes voient leurs variations expliquées principalement, par ordre décroissant, par l'effet Temps, puis Temps x Vin, Vin et enfin Oxygène (figure 18). Pour les SO_2, les facteurs sont les mêmes, si ce n'est que l'effet oxygène a une part plus importante.

Pour terminer, le dernier groupe formé par les variables de pourcentage en composition du rouge (noté A 520 %, figure 17), de la composante rouge (noté a), de l'intensité colorante (noté IC') ainsi que de l'indice DMACH voient leurs valeurs corrélées avec, à la fois, les vins à pH 3, et le vin enrichi en ellagitannins (figure 17). On peut dire que ces résultats sont ici aussi logiques, puisque nous avions vu que le vin enrichi en fraction d'ellagitannins avait une polymérisation plus faible et diminuant plus fortement au cours du temps, comparé aux autres : l'indice DMACH est donc moins fort. En revanche, l'indice DMACH n'avait précédemment montré aucune variation nette pour des changements de pH. Pour les indices chromatiques intensité colorante (IC'), composante a et pourcentage de contribution du rouge (A 520 (%)), il est normal que ces indices soient fortement liés à la zone des vins à pH 3, puisque les anthocyanes sont davantage présentes sous leur forme flavylium à pH 3. De plus, nous avions observé que le vin enrichi en fraction d'ellagitannins avait une intensité colorante plus forte ce qui correspond bien à ces résultats (figure 17). La figure 18 montre que les variables de composante a et de pourcentage de contribution du rouge (A 520 %) voient leurs variations fortement influencées par le pH. Les variables DMACH et intensité colorante (IC') sont plutôt influencées par les vins. L'indice DMACH est ensuite influencé par le facteur Temps x Vin, tandis que c'est le pH pour l'intensité colorante (figure 18).

La figure 19 montre les corrélations entre toutes les variables relatives aux analyses chimiques réalisées. Les corrélations peuvent être positives (les deux variables évoluent dans le même sens) ou négatives (l'une augmente, l'autre diminue).

Les SO_2 combiné, total et libre sont corrélés négativement à l'oxygène consommé cumulé de façon croissante.

On peut facilement observer que toutes les anthocyanes moléculaires, ainsi que leur somme sont positivement et fortement corrélées entre elles, dans la quasi-totalité des cas entre 0,8 et 1 (figure

19). Ceci semble indiquer que les anthocyanes moléculaires n'ont pas de différence de réactivité, seule la cyanidine-3-*O*-glucoside indique une corrélation plus basse avec certaines anthocyanes moléculaires. Par ailleurs, leur évolution est positivement corrélée avec celle des anthocyanes totales, entre 0,2 et 0,6. Les anthocyanes moléculaires et totales sont aussi corrélées de manière négative avec l'oxygène cumulé, indiquant que plus ce dernier est présent et plus les teneurs en pigments diminuent. Cette observation laisserait supposer que les pigments se dégradent, ou bien entrent dans des réactions de transformation ou de polymérisation. En observant les corrélations entre les anthocyanes moléculaires et les indices chromatiques, on peut remarquer qu'elles sont négativement corrélées avec la teinte, le pourcentage de contribution du jaune (noté A 420 %) ainsi que la composante jaune, notée b (figure 19). Ces observations nous amènent à penser que ces pigments auraient tendance à être impliqués dans la formation de nouvelles structures, telles que les pyranoanthocyanes qui sont connues pour exprimer une couleur plus orangée due à un effet hypsochrome (Håkansson et al., 2003; He et al., 2010; De Freitas and Mateus, 2011). De même, les analyses des anthocyanes polymérisées nous donnent des indications sur le devenir des pigments présents dans le vin rouge. Ainsi, on peut remarquer que le pourcentage d'anthocyanes libres est fortement corrélé de manière maximale au pourcentage d'anthocyanes + tannins polymères, ce qui indique que les anthocyanes libres ont tendance à entrer dans des mécanismes de polymérisation. Les structures ainsi formées sont principalement des anthocyanes liées à des tannins polymères, puisque ces deux variables sont fortement corrélées entre elles de manière négative, mais ne sont pas fortement corrélées avec les pourcentages d'anthocyaes + tannins oligomères (entre - 0,2 et -0,4) (figure 19). Ces réactions de polymérisation entraînent en partie une meilleure stabilisation de la couleur des vins rouges : la corrélation entre les pourcentages d'anthocynes + tannins polymères et l'intensité colorante (IC') est inférieure à 0,2, et entre - 0,2 et - 0,4 avec la luminosité (L). Or, comme nous l'avons vu, la luminosité est inversement proprotionnelle à l'intensité colorante.

La composante jaune (b) est positivement corrélée avec les teneurs en tannins totaux (Bate-Smith, figure 19). Ceci indique que dans notre cas, les vins rouges ayant une plus grande concentration en tannins voient leur couleur évoluer vers le jaune. Nous avions notamment remarqué ce paramètre avec le vin d'IPT 76 : ce vin est le plus riche en tannins, c'est aussi celui qui a une composante jaune (b) plus élevée. Cette relation a déjà été faite dans la littérature scientifique (Rudnitskaya et al., 2009). Les auteurs expliquent que la couleur, exprimée par les anthocyanes, peut dépendre de la matrice dans laquelle elles sont présentes. Un vin plus riche en tannins pourrait faire évoluer cette couleur vers le jaune. De même, l'indice de polymérisation BS/DM est aussi corrélé avec la composante jaune (b), et dans une moindre mesure avec la teinte et le pourcentage de contribution du jaune (A 420 %). Ceci montre que lorsque les vins vieillissent, des polymérisations apparaissent tandis que la couleur des vins dérive vers l'orange.

Nous terminerons avec les paramètres colorimétriques. D'abord, l'intensité colorante (notée IC') est négativement corrélée à la teinte et au pourcentage de contribution du jaune (noté A 420 %). Elle est aussi corrélée de manière fortement négative (entre -0,8 et -1) à la luminosité (L), correspondance que nous avions déjà mise en évidence lors des plans d'essai. Elle est en revanche positivement corrélée avec la composante rouge (a), indiquant que cette composante contribue à l'expression de

l'intensité colorante (figure 19). La teinte est, sans surprise, très fortement corrélée avec le pourcentage de contribution du jaune. Elle est négativement corrélée de façon forte (entre -0,8 et -1) avec la composante rouge a, ainsi que le pourcentage de contribution du rouge (noté A 520 %) (figure 19). Pour les pourcentages de contribution du jaune et du mauve (A 420 et A 620 %), ils sont négativement corrélés avec le pourcentage de contribution du rouge (A 520 %) ainsi que la composante rouge (a). Ceci montre bien que les anthocyanes, qui sont rouges sous leur forme flavylium, subissent des transformations aboutissant à des changements de couleur : le rouge diminue, tandis que le jaune ou le mauve augmentent (Brouillard and Delaporte, 1977; Brouillard and Dubois, 1977; Brouillard et al., 1978; Chassaing et al., 2010; He et al., 2010).

Pour la luminosité (L), on notera la corrélation négative maximale (de - 0,8 à - 1) entre la luminosité L et l'intensité colorante IC', indiquant de fait qu'un vin plus clair est un vin avec moins d'intensité colorante. Dans une moindre mesure, la luminosité L est corrélée positivement avec le pourcentage de contribution du jaune (A 420 %) (figure 19).

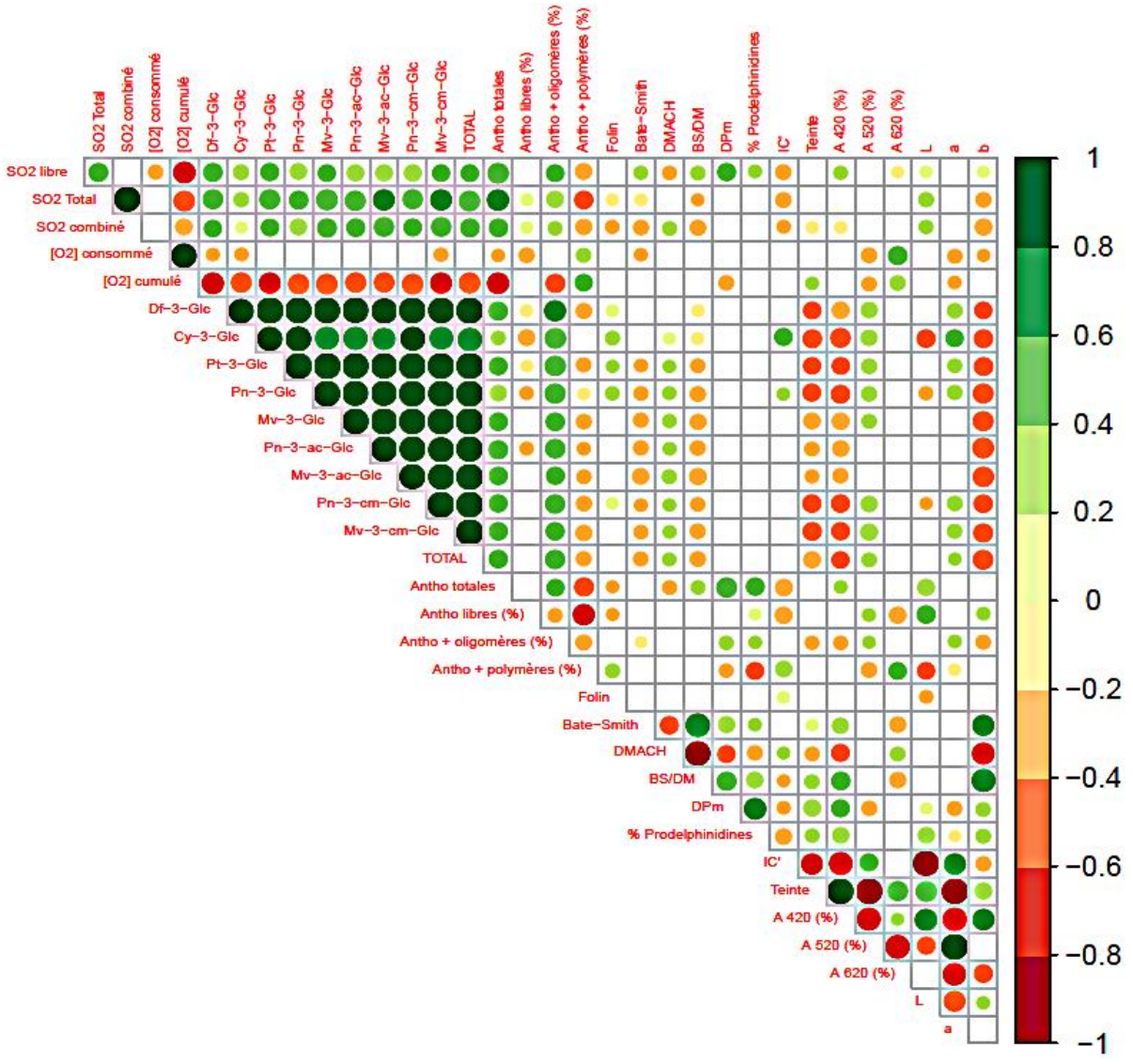


Figure 19 : Graphe de corrélations entre les différentes variables.
Les corrélations dont p < 0,05 sont montrées.

Conclusion

Cette partie statistique nous a permis d'observer les comportements et évolutions de certains paramètres en fonctions de plusieurs facteurs, qui sont le temps, l'oxygène, le pH ainsi que les différents vins.

La consommation d'oxygène augmente avec les doses d'oxygène ainsi que le pH. Le vin d'IPT 63 enrichi en fraction d'ellagitannins est celui qui consomme le plus d'oxygène parmi les 3 vins. Les cinétiques du SO_2 libre sont fortement influencées par le type de vin. Le vin d'IPT 76 est celui qui utilise le moins le SO_2 libre disponible, tandis que celui d'IPT 61 est celui pour qui les cinétiques diminuent le plus. Les cinétiques de SO_2 libre ont aussi davantage tendance à diminuer au cours du temps lorsque l'acidité est plus forte.

Les tests sur les teneurs en tannins totaux (dosage Bate-Smith) montrent que seul le type de vin a un effet significatif : le vin d'IPT 76 est, de façon logique, celui qui possède le plus de tannins. En revanche, dans tous les cas, les vins montrent un pic en tannnins au deuxième mois. Sur l'indice de polymérisation, qui est donné en divisant les valeurs du Bate-Smith par l'indice DMACH (noté BS/DM), les différences sont fortes en fonction des vins. Le vin enrichi en fraction d'ellagitannins est celui qui montre le plus de diminutions dans cet indice. Le vin d'IPT 61 montre peu de variations pour cet indice. Pour le vin d'IPT 76, les résultats montrent que d'une façon générale, l'indice augmente au cours des deux premiers mois et diminue au cours des deux mois suivants, et les différences liées aux doses d'oxygène n'apparaissent pas.

Les teneurs en anthocyanes totales présentent des cinétiques qui évoluent de manière assez similaire dans les vins d'IPT 61 et 76. Dans le vin enrichi en fraction d'ellagitannins, les cinétiques sont plus basses mais diminuent de façon plus régulière. L'oxygène conduit à des cinétiques d'anthocyanes avec des concentrations plus basses, qui diminuent de façon régulière au cours du temps. La comparaison sur les analyses des anthocyanes polymérisées mettent aussi en évidence des différences de comportement selon le type de vin. Dans tous les cas, les pourcentages d'anthocyanes libres augmentent jusqu'au deuxième mois. Ensuite, l'évolution dépend du type de vin. Pour le vin d'IPT 61, les teneurs restent stables. En revanche, elles diminuent de façon de plus en plus accentuée pour le vin d'IPT 76 et d'IPT 63 enrichi en ellagitannins, suggérant que la composition de ce dernier favorise la réactivité des anthocyanes moléculaires dans des réactions de polymérisation. De la même façon, la vin enrichi en fraction d'ellagitannins est celui qui montre des pourcentages en anthocyanes + tannins polymères les plus élevés. Ceci s'explique par le fait que pour ce vin, ces valeurs n'étaient pas réellement dépendantes du pH. Le vin d'IPT 61 est celui qui polymérise le moins les anthocyanes avec les tannins, et le vin d'IPT 76 a un comportement intermédiaire, probablement parce que la polymérisation est favorisée à pH acide dans ce vin.

Au niveau des indices chromatiques, le vin enrichi en fraction d'ellagitannins montre une intensité colorante (IC) nettement supérieure aux autres, ainsi qu'une augmentation au cours du temps. L'accroissement de l'intensité colorante est nettement marquée par l'acidité. En ce qui concerne la teinte, celle-ci est plus intense dans le vin d'IPT'76, et plus faible dans celui enrichi en fraction

d'ellagitannins. Quant à la couleur mauve, qui correspond à l'absorbance à 620 nm, elle est plus importante dans le vin enrichi en fraction d'ellagitannins, ainsi que dans les vins à pH 4. La luminosité est globalement inversée avec les données de l'intensité colorante, puisqu'elle est moins forte dans le vin enrichi en ellagitannins où elle diminue plus fortement à pH 3. La composante rouge (a) est favorisée pour les vins à pH 3, où les anthocyanes sous forme cation flavylium sont plus importantes. Quant à la composante jaune, elle est la plus forte dans le vin d'IPT 76, et la moins forte pour le vin enrichi en fraction d'ellagitannins.

Conclusion générale et perspectives

L'objectif de ce travail était de comparer les évolutions chimiques et sensorielles de vins rouges de Merlot qui possèdent des IPT différents, ainsi que l'influence de l'ajout d'une fraction d'ellagitannins sur ces évolutions. L'objectif était aussi de connaître les limites d'oxygénation que pouvaient subir les vins concernés, au niveau sensoriel.

1) Les résultats obtenus montrent que ce sont soit les vins ou les différentes matrices modèles qui induisent le plus de variations au sein des analyses que nous avons effectuées.

Au cours de la première expérience préliminaire, nous avons pu montrer des différences de réactivité des différentes molécules phénoliques au sein des solutions modèles étudiées. En effet, le paramètre de teinte, ainsi que les dosages des anthocyanes moléculaires et l'indice DMACH montraient le plus de variations dans la solution modèle avec anthocyanes + tannins oligomères.

L'évolution de ces paramètres nous incite à penser que **les anthocyanes auraient davantage tendance à réagir avec des tannins oligomères qu'avec des monomères de tannins, pour les réactions de polymérisation.** De même, la diminution plus importante de l'indice DMACH observée dans la solution modèle avec anthocyanes + tannins oligomères conduit à penser que **les polymérisations de tannins oligomères seraient favorisées.** Les teneurs de la somme des tannins moléculaires dans les solutions modèles sont stables au cours du temps. Pour pouvoir évoluer, les tannins doivent être dans une matrice complexe car des variations pour le DPm (Degré de Polymérisation moyen) et les tannins moléculaires apparaissent dans le vin rouge étudié par rapport aux solutions modèles.

Les analyses sensorielles confirment de moindres réactivités chimiques dans les solutions modèles anthocyanes + monomères de tannins, car seule l'acidité est davantage perçue pour les modalités avec les niveaux d'oxygène plus importants. Pour les solutions modèles anthocyanes + tannins oligomères, les résultats indiquent que les modalités sans oxygène sont mieux notées par les dégustateurs au cours des deux premiers mois (avec : moins d'oxydation, moins d'amertume et d'astringence, moins d'acidité et plus d'équilibre). Ces différences disparaissent au troisième mois. Le vin conservé sans oxygène présente davantage d'amertume et plus d'astringence lors du premier mois, mais les différentes modalités deviennent homogènes à partir du deuxième mois.

2) Pour les autres plans d'essais, un résultat récurrent est **l'augmentation de consommation de l'oxygène par les vins lorsque le pH augmente. Le vin enrichi en fraction d'ellagitannins est celui pour lequel les variations de pH ont le moins d'influence sur les consommations d'oxygène.** En effet, si l'on observe les tableaux 1 et 2, les modalités à 20 mg/L d'oxygène consomment environ 350 % de plus (4,5 fois plus) que les modalités à 2 mg/L d'oxygène à pH 3, et environ 950 % de plus (soit 10,5 fois plus) à pH 4. Or, dans le vin enrichi en fraction d'ellagitannins (tableau 3), l'augmentation de la consommation entre 2 et 20 mg/L est constamment de l'ordre de + 1000 %, soit 11 fois plus. C'est aussi le vin dont la consommation d'oxygène est la plus importante, et cela pourrait s'expliquer par la formation de nouvelles structures moléculaires (flavano-ellagitanins) qui nécessiterait une utilisation potentielle d'oxygène ? Cela reste à étudier.

Nous avons constaté que les teneurs en tannins totaux sont globalement stables, avec des teneurs à 4 mois similaires à celles présentes au début de l'expérience**. Mais, pour les vins enrichis en fraction d'ellagitannins, et à pH 4 une diminution des teneurs en tanins totaux de l'ordre de 30 % apparait à 4 mois.** Le suivi des DPm des tannins n'a pas montré de variations liées à l'oxygène ou au pH. L'évolution de la polymérisation par l'indice BS/DM (Bate-Smith/DMACH) tableaux 1, 2 et 3, montre que **l'oxygène induit des réactions de polymérisations, qui sont favorisées à pH plus acide** :

- A pH 3, et entre 2 et 20 mg/L d'oxygène, la polymérisation est 7 à 30 % plus importante que dans la modalité sans oxygène.

- A pH 4, les variations vont de - 5 à seulement + 2 %, entre 2 à 20 mg/L d'oxygène respectivement toujours en comparaison avec la modalité sans oxygène.

Ces tendances sont conservées pour les deux autres vins testés (tableaux 2 et 3).

- Les diminutions des concentrations en anthocyanes sont favorisées en présence d'oxygène, qui peut soit les dégrader, soit conduire à des réarrangements par mécanismes de polymérisation ou de transformation (création de pyranoanthocyanes).

L'acidité apparaît comme un élément indispensable pour la génése de réactions spécifiques des phénols.

Les tests de corrélation statistiques montrent les mêmes tendances pour les évolutions cinétiques des concentrations en anthocyanes moléculaires. Cependant, **pour les trois vins, les teneurs en anathocyanes diminuent de façon plus importante avec des doses d'oxygène croissante ainsi qu'avec l'acidité, en comparaison avec la modalité sans oxygène** (tableaux 1, 2 et 3). Les tendances pour les teneurs en anthocyanes totales sont similaires.

Avec l'oxygène, la proportion d'anthocyanes polymérisées avec des tannins polymères augmente. Dans les tableaux 1 et 2, on observe une **augmentation de 23 % en anthocyanes + tannins polymères pour les vins d'IPT 61 et d'IPT 76 à pH 3 avec 20 mg/L d'oxygène**. **Cette différence est un peu plus marquée dans le vin enrichi en fraction d'ellagitannins,** puisque dans le tableau 3, la proportion d'anthocyanes + tannins polymères est de 28 % plus élevée pour les vins à pH 3 avec 20 mg/L d'oxygène, alors qu'elle n'est que de l'ordre de 8 % plus importante pour les vins à pH 3,5 et pH 4. **Les analyses statistiques indiquent que les pourcentages d'anthocyanes polymérisées aux tannins polymères sont corrélées au pourcentage de contribution du mauve, ceci laisse supposer que les polymérisations se feraient sous la forme de ponts éthyl.**

3) Nos travaux ont aussi permis de réaliser l'identification et la quantification de 13 pyranoanthocyanes (vitisine A, vitisine B, vitisine B acétylée, pyranomalvidine-(épi)catéchine, pyranomalvidine-(épi)catéchine acétylée, pyranomalvidine-(épi)catéchine coumaroylée, pyranomalvidine-di-(épi)catéchine, pyranomalvidine-di-(épi)catéchine acétylée, pyranomalvidine-di-(épi)catéchine coumaroylée, pyranopétunidine, pyranopétunidine acétylée, pyranopéonidine, et pyranopéonidine acétylée). Dans le vin d'IPT 61, **deux molécules de pyranomalvidine-di-**

(épi)catéchine ont été identifiées pour la première fois dans des vins rouges secs. Elles sont présentes à des concentrations de presque 2 mg/L dans les vins sans oxygène après 4 mois. Cette concentration est multipliée par 10 à pH 3 avec 20 mg/L d'oxygène, et multipliée par presque 2,5 pour la même dose d'oxygène à pH 4 (tableau 1). Ces familles de molécules absorbent à des longueurs d'onde légèrement inférieures à 520 nm, ce qui leur donne une couleur plutôt orangée (effet hypsochrome). On doit également souligner que dans le vin d'IPT 61, la teinte augmente davantage (+ 10 % d'augmentation) lorsque l'oxygène est apporté à pH 3 à la dose de 20 mg/L (tableau 1). Les cinétiques de formation de ces molécules ont été suivies dans le vin enrichi en fraction d'ellagitannins**. Les 13 pyranoanthocyanes ont une concentration totale d'environ 20 mg/L dans les vins sans oxygène. Lorsque le pH est plus acide, la modalité à 20 mg/L d'oxygène contient en moyenne des concentrations 67 % plus élevées pour ces composés** (tableau 3).On retrouve la même tendance que pour les deux pyranoanthocyanes dosées au quatrième mois dans le vin d'IPT 61. **Les deux molécules de pyranomalvidine-di-(épi)catéchine peuvent être considérées comme des marqueurs d'intérêt de l'apport en oxygène subi par le vin.** Cependant, **les augmentations des concentrations en pyranoanthocyanes sont nettement moins importantes dans le cas du vin enrichi en fraction d'ellagitannins que pour celui d'IPT 61.** De plus, le pH a un effet bien moins important et le vin enrichi en fraction d'ellagitannins consomme beaucoup plus d'oxygène que les deux autres vins étudiés quelque soit le pH. **Il est donc possible que les ellagitannins consomment une grande partie de l'oxygène fourni au vin, ce qui réduirait la possibilité de transformer les anthocyanes natives en pyranoanthocyanes.** On remarque également que pour les vins enrichis en fraction d'ellagitannins à pH 3, l'oxygène permet d'augmenter de manière importante le pourcentage d'anthocyanes combinées aux tannins polymères, ainsi que les niveaux d'intensité colorante. Ces résultats conduisent à penser que des compétitions de réactions pourraient avoir lieu entre les anthocyanes et les ellagitannins pour les vins à pH 3 enrichis en fraction d'ellagitannins. En fait, si les ellagitannins consomment en grande partie l'oxygène qui est fourni, comme constaté dans le cas du vin et des solutions modèles enrichis en fraction d'ellagitannins, l'oxygène serait moins disponible pour les anthocyanes, d'ou une formation moindre de pyranoanthocyanes.

4**) Une autre possibilité réside dans le fait que la présence simultanée d'ellagitannins, de tannins et d'anthocyanes, aboutisse à la formation de polymères complexes en ces composés qui se formeraient davantage à pH 3, puisque nous avons vu une forte augmentation du pourcentage des anthocyanes + tannins polymères**. Dans l'absolu, rien n'empêche la présence potentielle d'ellagitannins lors de la formation de ces nouvelles structures. **Dans le futur, Il serait trés intéressant d'étudier, en solution modèle, les différences de comportements des anthocyanes en présence de tannins et/ou d'ellagitannins, afin de rechercher la présence de nouvelles structures, les interactions possibles et des différences de réactivité.**

5) **Les analyses sensorielles réalisées sur le vin d'IPT 76 en fonction des pH montrent que l'amertume est davantage perçue à pH 4**, et dans une moindre mesure à pH 3,5. **Cette tendance se retrouve aussi sur la perception d'oxydation, et confirme que lorsque le pH augmente, la consommation d'oxygène est plus forte. Sur la perception d'astringence, on remarque que les vins à pH 4 ont très souvent des notes plus faibles par rapport aux autres**, mais les vins à pH 3 étant plus acides, cela pourrait inciter

les dégustateurs à les noter comme plus astringents de façon involontaire (comme déjà rapporté par Fontoin et al., 2008). Enfin, les descripteurs de fruité et d'équilibre présentent peu de différences. Sur les analyses sensorielles des deux autres vins, d'IPT 61 et d'IPT 63 enrichi en fraction d'ellagitannins, on a pu voir que globalement l'intensité du fruité diminue avec les doses d'oxygène, tandis que le niveau d'oxydation est bien corrélé avec les doses croissantes d'oxygène. L'oxygène semble aussi amener plus d'amertume, même si les différences ne sont pas souvent significatives. Sur la perception d'astringence, les différences sont globalement non significatives. Seul le vin enrichi en fraction d'ellagitannins montre, au quatrième mois, une perception d'astringence plus forte avec l'oxygène dans les vins à pH 4. Les différences sur le paramètre d'acidité sont quasiment nulles. Pour terminer, les modalités avec le moins d'oxygène, telles que 0 et 2 mg/L, sont celles qui présentent de manière générale une perception de l'équilibre plus haute.

6) Il serait utile de créer une banque de données et un outil interactif web concernant l'évolution chimique et sensorielle des vins rouges en fonction des cépages, du niveau de polyphénols, du pH, des apports en tannins de bois de chêne, ainsi que fréquences et doses d'apports en oxygène contrôlés. Cela donnerait aux vignerons un itinéraire modèle pour prévoir la meilleure optimisation sensorielle lors de l'élevage et de l'apport d'oxygène, en fonction du type de vin rouge souhaité.

Tableau 1 : Synthèse des effets induits par les doses d'oxygène sur certains paramètres pour le vin d'IPT 61.

	O_2 consommé (total)			SO_2 Total (moyenne)			Polymérisation BS/DM (moyenne)			Anthocyanes moléculaires (moyenne)			Pyranomalvidine-procyanidine dimères (à 4 mois)		
[O_2]	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4
Témoin	x	x	x	58 mg/L	64 mg/L	64 mg/L	5,4	5,6	5,9	209 mg/L	212 mg/L	221 mg/L	1,98 mg/L	1,78 mg/L	1,92 mg/L
2 mg/L	14 mg/L	26 mg/L	31 mg/L	- 21 %	- 14 %	- 11 %	+ 7 %	- 4 %	- 5 %	- 4 %	- 3 %	- 4 %	+ 177 %	+ 113 %	+ 8 %
8 mg/L	+ 121 %	+ 319 %	+ 293 %	- 47 %	- 28 %	- 19 %	+ 11 %	+ 13 %	+ 3 %	- 20 %	- 13 %	- 12 %	+ 630 %	+ 260 %	+ 102 %
20 mg/L	+ 328 %	+ 773 %	+ 893 %	- 60 %	- 44 %	- 28 %	+ 30 %	+ 9 %	+ 2 %	- 27 %	- 23 %	- 21 %	+ 894 %	+ 601 %	+ 138 %

	% Anthocyanes libres (moyenne)			% Anthocyanes + tannins polymères			Intensité colorante (moyenne)			Teinte (moyenne)		
[O_2]	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4
Témoin	49 %	49 %	49 %	23 %	22 %	23 %	1,8	1,7	1,5	0,6	0,7	0,8
2 mg/L	0 %	0 %	- 2 %	+ 9 %	+ 0 %	+ 9 %	+ 2 %	- 3 %	+ 0 %	- 2 %	+ 0 %	+ 0 %
8 mg/L	+ 2 %	0 %	- 2 %	+ 4 %	+ 14 %	+ 9 %	+ 3 %	- 1 %	+ 5 %	- 2 %	- 1 %	+ 0 %
20 mg/L	- 6 %	- 2 %	- 6 %	+ 26 %	+ 18 %	+ 17 %	+ 10 %	+ 7 %	+ 10 %	+ 7 %	- 1 %	- 1 %

Les lignes « Témoin » indiquent les valeurs moyennes sur 4 mois mesurées pour les vins sans oxygène. Les pourcentages représentent l'augmentation ou la diminution induites par l'oxygène par rapport aux témoins.

Tableau 2 : Synthèse des effets induits par les doses d'oxygène sur certains paramètres pour le vin d'IPT 76.

	O_2 consommé (total)			SO_2 Total (moyenne)			Polymérisation BS/DM (moyenne)			Anthocyanes moléculaires (moyenne)		
[O_2]	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4
Témoin	x	x	x	57 mg/L	52 mg/L	39 mg/L	7,9	7,5	8	127 mg/L	129 mg/L	109 mg/L
2 mg/L	17 mg/L	16 mg/L	20 mg/L	- 19 %	- 27 %	- 23 %	- 3 %	+ 11 %	- 3 %	+ 2 %	- 10 %	- 6 %
8 mg/L	+ 141 %	+ 263 %	+ 325 %	- 42 %	- 46 %	- 33 %	+ 14 %	+ 25 %	+ 6 %	- 18 %	- 31 %	- 26 %
20 mg/L	+ 371 %	+ 956 %	+ 980 %	- 47 %	- 46 %	- 33 %	+ 27 %	+ 27 %	+ 11 %	- 31 %	- 47 %	- 30 %

	% Anthocyanes libres (moyenne)			% Anthocyanes + tannins polymères (moyenne)			Intensité colorante (moyenne)			Teinte (moyenne)		
[O_2]	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4
Témoin	43 %	43 %	44 %	25 %	25 %	27 %	2,1	1,7	1,65	0,58	0,76	0,86
2 mg/L	+ 7 %	+ 5 %	- 2 %	- 4 %	+ 0 %	+ 0 %	+ 1 %	+ 2 %	+ 1 %	+ 2 %	+ 3 %	+ 0 %
8 mg/L	+ 7 %	+ 0 %	- 7 %	+ 8 %	+ 20 %	+ 11 %	+ 1 %	+ 5 %	+ 3 %	+ 5 %	+ 3 %	+ 0 %
20 mg/L	+ 2 %	- 7 %	-9 %	+ 20 %	+ 32 %	+ 19 %	+ 0 %	+ 4 %	+ 3 %	+ 9 %	+ 5 %	+ 0 %

Les lignes « Témoin » indiquent les valeurs moyennes sur 4 mois mesurées pour les vins sans oxygène. Les pourcentages représentent l'augmentation ou la diminution induites par l'oxygène par rapport aux témoins.

Tableau 3 : Synthèse des effets induits par les doses d'oxygène sur certains paramètres pour le vin d'IPT 63 + fraction d'ellagitannins.

	O_2 consommé (total)			SO_2 Total (moyenne)			Polymérisation BS/DM (moyenne)			Anthocyanes moléculaires (moyenne)			Pyranoanthocyanes totales (moyenne)		
[O_2]	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4
Témoin	x	x	x	38 mg/L	40 mg/L	38 mg/L	4,7	4,6	4,5	170 mg/L	177 mg/L	176 mg/L	24 mg/L	22 mg/L	18 mg/L
2 mg/L	24 mg/L	26 mg/L	26 mg/L	- 3 %	- 10 %	- 3 %	+ 6 %	+ 4 %	+ 2 %	- 5 %	- 5 %	- 5 %	+ 17 %	+ 9 %	+ 22 %
8 mg/L	+ 288 %	+ 342 %	+ 362 %	- 21 %	- 8 %	- 3 %	+ 15 %	+ 9 %	+ 4 %	- 35 %	- 16 %	- 15 %	+ 42 %	+ 14 %	+ 22 %
20 mg/L	+ 1004 %	+ 988 %	+ 1077 %	- 32 %	- 18 %	- 16 %	+ 32 %	+ 11 %	+ 9 %	- 55 %	- 29 %	- 31 %	+ 67 %	+ 50 %	+ 36 %

	% Anthocyanes libres (moyenne)			Anthocyanes + tannins polymères (%)			Intensité colorante (moyenne)			Teinte (moyenne)		
[O_2]	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4	pH 3	pH 3,5	pH 4
Témoin	45 %	43 %	39 %	27 %	27 %	33 %	2,3	2,04	1,99	0,52	0,61	0,72
2 mg/L	+ 0 %	+ 2 %	+ 0 %	+ 0 %	+ 4 %	+ 0 %	+ 2 %	+ 2 %	- 5 %	+ 0 %	- 2 %	- 3 %
8 mg/L	- 9 %	+ 0 %	- 3 %	+ 19 %	+ 4 %	+ 3 %	+ 9 %	+ 2 %	+ 6 %	+ 6 %	- 2 %	+ 1 %
20 mg/L	- 27 %	- 2 %	- 5 %	+ 48 %	+ 7 %	+ 9 %	+ 14 %	+ 5 %	+ 9 %	+ 13 %	+ 0 %	+ 0 %

Les lignes « Témoin » indiquent les valeurs moyennes sur 4 mois mesurées pour les vins sans oxygène. Les pourcentages représentent l'augmentation ou la diminution induites par l'oxygène par rapport aux témoins.

Références bibliographiques

Anli, R.E., and Cavuldak, Ö.A. (2012). A review of micro-oxygenation application in wine. J. Inst. Brew. *118*, 368–385.

Arfelli, G., Sartini, E., Corzani, C., and Fabiani, A. (2011). Chips, lees, and micro-oxygenation: influence on some flavors and sensory profile of a bottled red Sangiovese wine. Eur. Food Res. Technol. *233*, 1–10.

Arnold, R.A., Noble, A.C., and Singleton, V.L. (1980). Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. J. Agric. Food Chem. *28*, 675–678.

Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., and Moutounet, M. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. Anal. Chim. Acta *458*, 15–27.

Ayala, F., Echávarri, J.F., and Negueruela, A.I. (1997). A new simplified method for measuring the color of wines. I. red and rosé wines. Am. J. Enol. Vitic. *48*, 357–363.

Baldi, A., Romani, A., Mulinacci, N., Vincieri, F.F., and Casetta, B. (1995). HPLC/MS Application to Anthocyanins of *Vitis vinifera* L. J. Agric. Food Chem. *43*, 2104–2109.

Barbe, J.-C. (2000). La combinaison du dioxyde de soufre dans les moûts et vins issus de raisins botrytisés. Rôle des bactéries acétiques. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.

Bate-Smith, E.C. (1975). Phytochemistry of proanthocyanidins. Phytochemistry *14*, 1107–1113.

De Beer, D., Joubert, E., Marais, J., and Manley, M. (2008). Effect of oxygenation during maturation on phenolic composition, total antioxidant capacity, colour and sensory quality of Pinotage wine. South Afr. J. Enol. Vitic. *29*, 13.

Blanchard, L., Darriet, P., and Dubourdieu, D. (2004). Reactivity of 3-mercaptohexanol in red wine: Impact of oxygen, phenolic fractions, and sulphur dioxide. Am. J. Enol. Vitic. *55*, 115–120.

Bordignon-Luiz, M.T., Gauche, C., Gris, E.F., and Falcão, L.D. (2007). Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. LWT - Food Sci. Technol. *40*, 594–599.

Brandt, C., and Van Eldik, R. (1995). Transition metal-catalyzed oxidation of sulfur (IV) oxides. Atmospheric-relevant processes and mechanisms. Chem. Rev. *95*, 119–190.

Brimmer, P.J., and Griffiths, P.R. (1987). Angular dependence of diffuse reflectance infrared spectra. Part II : effect of polarization. Appl. Spectrosc. *41*, 791–797.

Brimmer, P.J., and Griffiths, P.R. (1988). Angular dependence of diffuse reflectance infrared spectra. Part III : linearity of kubelka-munk plots. Appl. Spectrosc. *42*, 242–247.

Brimmer, P.J., Griffiths, P.R., and Harrick, N.J. (1986). Angular dependence of diffuse reflectance infrared spectra. Part I : FT-IR spectrogoniophotometer. Appl. Spectrosc. *40*, 258–265.

Brouillard, R., and Delaporte, B. (1977). Chemistry of anthocyanin pigments. 2. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration, and tautomeric reactions of malvidin 3-glucoside. J. Am. Chem. Soc. *99*, 8461–8468.

Brouillard, R., and Dubois, J.-E. (1977). Mechanism of the structural transformations of anthocyanins in acidic media. J. Am. Chem. Soc. *99*, 1359–1364.

Brouillard, R., Delaporte, B., and Dubois, J.E. (1978). Chemistry of anthocyanin pigments. 3. Relaxation amplitudes in pH-jump experiments. J. Am. Chem. Soc. *100*, 6202–6205.

Buiarelli, F., Coccioli, F., Merolle, M., Jasionowska, R., and Terracciano, A. (2010). Identification of hydroxycinnamic acid–tartaric acid esters in wine by HPLC–tandem mass spectrometry. Food Chem. *123*, 827–833.

Burns, J., Mullen, W., Landrault, N., Teissedre, P.-L., Lean, M.E.J., and Crozier, A. (2002). Variations in the profile and content of anthocyanins in wines made from cabernet sauvignon and hybrid grapes. J. Agric. Food Chem. *50*, 4096–4102.

Caillé, S., Samson, A., Wirth, J., Diéval, J.-B., Vidal, S., and Cheynier, V. (2010). Sensory characteristics changes of red Grenache wines submitted to different oxygen exposures pre and post bottling. Anal. Chim. Acta *660*, 35–42.

Cano-López, M., Pardo-Minguez, F., López-Roca, J.M., and Gómez-Plaza, E. (2007). Chromatic characteristics and anthocyanin profile of a micro-oxygenated red wine after oak or bottle maturation. Eur. Food Res. Technol. *225*, 127–132.

Cano-López, M., Pardo-Mínguez, F., Schmauch, G., Saucier, C., Teissedre, P.-L., López-Roca, J.M., and Gómez-Plaza, E. (2008). Effect of micro-oxygenation on color and anthocyanin-related compounds of wines with different phenolic contents. J. Agric. Food Chem. *56*, 5932–5941.

Cano-López, M., López-Roca, J.M., Pardo-Minguez, F., and Gómez Plaza, E. (2010). Oak barrel maturation vs. micro-oxygenation: Effect on the formation of anthocyanin-derived pigments and wine colour. Food Chem. *119*, 191–195.

Carando, S., Teissedre, P.-L., Waffo-Téguo, P., Cabanis, J.C., Deffieux, G., and Mérillon, J.M. (1999). High-performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection for the determination of *trans*-astringin in wine. J. Chromatogr. A *849*, 617–620.

Del Carmen Llaudy, M., Canals, R., González-Manzano, S., Canals, J.M., Santos-Buelga, C., and Zamora, F. (2006). Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. J. Agric. Food Chem. *54*, 4246–4252.

Castellari, M., Matricardi, L., Arfelli, G., Galassi, S., and Amati, A. (2000). Level of single bioactive phenolics in red wine as a function of the oxygen supplied during storage. Food Chem. *69*, 61–67.

Castellari, M., Simonato, B., Tornielli, G.., Spinelli, P., and Ferrarini, R. (2004). Effects of different enological treatments on dissolved oxygen in wines. Ital. J. Food Sci. *16*.

Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Gómez, M.V., Velders, A.H., and Hermosín-Gutiérrez, I. (2009a). Flavonol 3-*O*-glycosides series of *Vitis vinifera* cv. Petit Verdot red wine grapes. J. Agric. Food Chem. *57*, 209–219.

Castillo-Muñoz, N., Fernández-González, M., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., and Hermosín-Gutiérrez, I. (2009b). Red-color related phenolic composition of garnacha tintorera (*Vitis vinifera* L.) grapes and red wines. J. Agric. Food Chem. *57*, 7883–7891.

Cejudo-Bastante, M.J., Hermosín-Gutiérrez, I., and Pérez-Coello, M.S. (2011a). Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part I: Petit Verdot wines. Food Chem. *124*, 727–737.

Cejudo-Bastante, M.J., Hermosín-Gutiérrez, I., and Pérez-Coello, M.S. (2011b). Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part II: Merlot wines. Food Chem. *124*, 738–748.

Cejudo-Bastante, M.J., Pérez-Coello, M.S., and Hermosín-Gutiérrez, I. (2011c). Effect of wine micro-oxygenation treatment and storage period on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. LWT - Food Sci. Technol. *44*, 866–874.

Chassaing, S., Lefeuvre, D., Jacquet, R., Jourdes, M., Ducasse, L., Galland, S., Grelard, A., Saucier, C., Teissedre, P.-L., Dangles, O., et al. (2010). Physicochemical studies of new anthocyano-ellagitannin hybrid pigments: about the origin of the influence of oak *C*-glycosidic ellagitannins on wine color. Eur. J. Org. Chem. *2010*, 55–63.

Cheminat, A., and Brouillard, R. (1986). PMR investigation of 3-*O*-(β-D-glucosyl)malvidin structural transformations in aqueous solutions. Tetrahedron Lett. *27*, 4457–4460.

Chiciuc, I. (2010). Etude des paramètres affectant le transfert d'oxygène dans les vins. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.

Chiciuc, I., Farines, V., Mietton-Peuchot, M., and Devatine, A. (2010). Effect of wine properties and operating mode upon mass transfer in micro-oxygenation. Int. J. Food Eng. *6*.

Chira, K. (2009). Structures moléculaires et perception tannique des raisins et des vins (Cabernet-Sauvignon, Merlot) du Bordelais. thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.

Chira, K., and Teissedre, P.-L. (2013). Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting methods: Behaviour during storage. Food Chem. *140*, 168–177.

CIE (1986). CIE, Colorimetry (Vienna).

Couchoud, I. (2008). Les isotopes stables de l'oxygène et du carbone dans les spéléothèmes: des archives paléoenvironnementales. Quat. Paris *19*, 275.

Danilewicz, J.C. (2003). Review of reaction mechanisms of oxygen and proposed intermediate reduction products in wine: central role of iron and copper. Am. J. Enol. Vitic. *54*, 73–85.

Danilewicz, J.C. (2007a). Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: central role of iron and copper. Am. J. Enol. Vitic. *58*, 53–60.

Danilewicz, J.C. (2007b). Interaction of sulfur dioxide, polyphenols, and oxygen in a wine-model system: central role of iron and copper. Am. J. Enol. Vitic. *58*, 53–60.

Devatine, A., Chiciuc, I., Poupot, C., and Mietton-Peuchot, M. (2007). Micro-oxygenation of wine in presence of dissolved carbon dioxide. Chem. Eng. Sci. *62*, 4579–4588.

Doussot, F., Pardon, P., Dedier, J., and De Jeso, B. (2000). Individual, species and geographic origin influence on cooperage oak extractible content (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* L.). Analusis *28*, 960–965.

Doussot, F., De Jéso, B., Quideau, S., and Pardon, P. (2002). Extractives content in cooperage Oak wood during natural seasoning and toasting; Influence of tree species, geographic location, and single-tree effects. J. Agric. Food Chem. *50*, 5955–5961.

Dykes, S. (2008). The effect of dosage rate on the chemical and sensory changes occurring during micro-oxygenation of New Zealand red wine. Thèse de Doctorat, Université d'Auckland.

Dykes, S., and Kilmartin, P. (2007). Micro-oxygenation : Optimising the maturation process. Aust. N. Z. Wine Ind. J. *22*, 31.

Edwards, C.G., and Beelman, R.B. (1989). Inducing malolactic fermentation in wines. Biotechnol. Adv. *7*, 333–360.

Escribano-Bailón, M.T., Guerra, M.T., Rivas-Gonzalo, J.C., and Santos-Buelga, C. (1995). Proanthocyanidins in skins from different grape varieties. Z. Für Lebensm.-Unters. Forsch. *200*, 221–224.

Es-Safi, N.-E., Fulcrand, H., Cheynier, V., and Moutounet, M. (1999a). Studies on the acetaldehyde-induced condensation of (−)-epicatechin and malvidin 3-*O*-glucoside in a model solution system. J. Agric. Food Chem. *47*, 2096–2102.

Es-Safi, N.-E., Le Guernevé, C., Labarbe, B., Fulcrand, H., Cheynier, V., and Moutounet, M. (1999b). Structure of a new xanthylium salt derivative. Tetrahedron Lett. *40*, 5869–5872.

Es-Safi, N.-E., Guernevé, C., Fulcrand, H., Cheynier, V., and Moutounet, M. (2000). Xanthylium salts formation involved in wine colour changes. Int. J. Food Sci. Technol. *35*, 63–74.

Es-Safı, N.-E., Le Guernevé, C., Fulcrand, H., Cheynier, V., and Moutounet, M. (1999). New polyphenolic compounds with xanthylium skeletons formed through reaction between (+)-catechin and glyoxylic acid. J. Agric. Food Chem. *47*, 5211–5217.

Fang, F., Li, J.-M., Zhang, P., Tang, K., Wang, W., Pan, Q.-H., and Huang, W.-D. (2008). Effects of grape variety, harvest date, fermentation vessel and wine ageing on flavonoid concentration in red wines. Food Res. Int. *41*, 53–60.

Farines, V., Hebrard, G., Poupot, C., Painmanakul, P., and Mietton-Peuchot, M. (2005). Transfert d'oxygène dans les vins et les moûts. Récents Prog. En Génie Procédés.

Flecknoe-Brown, A. (2006). Diffusive methods of oxygenating wine : simpler, better, lower-cost barrel replacement. Aust. N. Z. Grapegrow. Winemak. *511*, 64–69.

Fontoin, F., Saucier, C., Teissedre, P.-L., Glories, Y. (2008). Effect of pH, ethnaol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. Food Qua. Pref., 286-291.

De Freitas, V., and Mateus, N. (2011). Formation of pyranoanthocyanins in red wines: a new and diverse class of anthocyanin derivatives. Anal. Bioanal. Chem. *401*, 1463–1473.

Fulcrand, H., Doco, T., Es-Safi, N.-E., Cheynier, V., and Moutounet, M. (1996a). Study of the acetaldehyde induced polymerisation of flavan-3-ols by liquid chromatography-ion spray mass spectrometry. J. Chromatogr. A *752*, 85–91.

Fulcrand, H., dos Santos, P.-J.C., Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., and Favre-Bonvin, J. (1996b). Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. J. Chem. Soc. [Perkin 1] 735.

Garrido, J., and Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. Food Res. Int. *54*, 1844–1858.

Gaulejac, N.V. de, Monier, M.F., Absalon, C., and Vivas, N. (2001). Identification of procyanidin A2 in grape and wine of *Vitis vinifera* L. cv: Merlot noir and Cabernet sauvignon. J. Int. Sci. Vigne Vin Int. J. Vine Wine Sci. *35*, 51–56.

Geldenhuys, L., Oberholster, A., and Du Toit, W.J. (2012). Monitoring the effect of micro-oxygenation before malolactic fermentation on South African Pinotage red wine with different colour and phenolic analyses. Afr J Enol Vitic *33*, 150-160.

Giordanengo, T., Charpentier, J.-P., Roger, J.-M., Roussel, S., Brancheriau, L., Chaix, G., and Baillères, H. (2008). Correction of moisture effects on near infrared calibration for the analysis of phenol content in eucalyptus wood extracts. Ann. For. Sci. *65*, 803–803.

Giordanengo, T., Charpentier, J.P., Boizot, N., Roussel, S., Roger, J.-M., Chaix, G., Robin, C., Mourey, N., and others (2009). OAKSCAN: Procédé de mesure rapide et non destructif des polyphénols du bois de chêne de tonnellerie. Rev. Fr. Œnologie *234*, 10-15

Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. Connaiss Vigne et Vin 253–271.

Godden, P., Francis, L., FIELD, J., GISHEN, M., COULTER, A., VALENTE, P., HØJ, P., and ROBINSON, E. (2001). Wine bottle closures: physical characteristics and effect on composition and sensory properties of a Semillon wine 1. Performance up to 20 months post-bottling. Aust. J. Grape Wine Res. *7*, 64–105.

Goldberg, D.M., Yan, J., Ng, E., Diamandis, E.P., Karumanchiri, A., Soleas, G., and Waterhouse, A.L. (1995). A global survey of *trans*-resveratrol concentrations in commercial wines. Am. J. Enol. Vitic. *46*, 159–165.

Gómez-Plaza, E., and Cano-López, M. (2011). A review on micro-oxygenation of red wines: claims, benefits and the underlying chemistry. Food Chem. *125*, 1131–1140.

González-del Pozo, A., Arozarena, Í., Noriega, M.-J., Navarro, M., and Casp, A. (2010). Short- and long-term effects of micro-oxygenation treatments on the colour and phenolic composition of a Cabernet Sauvignon wine aged in barrels and/or bottles. Eur. Food Res. Technol. *231*, 589–601.

Håkansson, A.E., Pardon, K., Hayasaka, Y., de Sa, M., and Herderich, M. (2003). Structures and colour properties of new red wine pigments. Tetrahedron Lett. *44*, 4887–4891.

Harbertson, J.F., Picciotto, E.A., and Adams, D.O. (2003). Measurement of polymeric pigments in grape berry extract sand wines using a protein precipitation assay combined with bisulfite bleaching. Am. J. Enol. Vitic. *54*, 301–306.

Haslam, E. (1980). In vino veritas: Oligomeric procyanidins and the ageing of red wines. Phytochemistry *19*, 2577–2582.

He, F., Liang, N.-N., Mu, L., Pan, Q.-H., Wang, J., Reeves, M.J., and Duan, C.-Q. (2012). Anthocyanins and their variation in red wines. I. Monomeric anthocyanins and their color expression. Molecules *17*, 1571–1601.

He, J., Santos-Buelga, C., Mateus, N., and de Freitas, V. (2006). Isolation and quantification of oligomeric pyranoanthocyanin-flavanol pigments from red wines by combination of column chromatographic techniques. J. Chromatogr. A *1134*, 215–225.

He, J., Carvalho, A.R.F., Mateus, N., and De Freitas, V. (2010). Spectral features and stability of oligomeric pyranoanthocyanin-flavanol pigments isolated from red wines. J. Agric. Food Chem. *58*, 9249–9258.

Heras, M.O., Rivero-Pérez, M.D., Pérez-Magariño, S., González-Huerta, C., and González-Sanjosé, M.L. (2007). Changes in the volatile composition of red wines during aging in oak barrels due to microoxygenation treatment applied before malolactic fermentation. Eur. Food Res. Technol. *226*, 1485–1493.

Heras, M.O., Rivero-Pérez, M.D., Pérez-Magariño, S., González-Huerta, C., and González-Sanjosé, M.L. (2008). Changes in the volatile composition of red wines during aging in oak barrels due to microoxygenation treatment applied before malolactic fermentation. Eur. Food Res. Technol. *226*, 1485–1493.

Hernandez-Orte, P., Lapena, A.C., Escudero, A., Astrain, J., Baron, C., Pardo, I., Polo, L., Ferrer, S., Cacho, J., and Ferreira, V. (2009). Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic compounds in wines : Malolactic fermentation and ageing in wood. Lebensm. - Wiss. Technol. *42*, 391–401.

Hervé du Penhoat, C.L.H., Michon, V.M.F., Peng, S., Viriot, C., Augustin, S., and Gage, D. (1991a). Structural elucidation of new dimeric ellagitannins from *Quercus robur* L. roburins A–E. J. Chem. Soc. [Perkin 1] 1653–1660.

Hervé du Penhoat, C.L.M., Michon, V.M.F., Ohassan, A., Peng, S., Scalbert, A., and Gage, D. (1991b). Roburin A, a dimeric ellagitannin from heartwood of *Quercus robur*. *30*, 329–332.

Hillmann, M.C.R., Burin, V.M., and Bordignon-Luiz, M.T. (2011). Thermal degradation kinetics of anthocyanins in grape juice and concentrate: Thermal degradation kinetics of anthocyanins. Int. J. Food Sci. Technol. *46*, 1997–2000.

Jackowetz, J.N., and Mira de Orduña, R. (2013). Survey of SO_2 binding carbonyls in 237 red and white table wines. Food Control *32*, 687–692.

Jandera, P., Škeříková, V., Řehová, L., Hájek, T., Baldriánová, L., Škopová, G., Kellner, V., and Horna, A. (2005). RP-HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids in beverages and plant extracts using a CoulArray detector. J. Sep. Sci. *28*, 1005–1022.

Jeandet, P., Bessis, R., and Gautheron, B. (1991). The production of resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. Am. J. Enol. Vitic. *42*, 41–46.

Jourdes, M., Michel, J., Saucier, C., Quideau, S., and Teissedre, P.-L. (2011). Identification, amounts, and kinetics of extraction of *C*-glucosidic ellagitannins during wine aging in oak barrels or in stainless steel tanks with oak chips. Anal. Bioanal. Chem. *401*, 1531–1539.

Jurd, L., and Somers, T.. (1970). The formation of xanthylium salts from proanthocyanidins. Phytochemistry 419–427.

Kallithraka, S., Salacha, M.I., and Tzourou, I. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. Food Chem. *113*, 500–505.

Kelly, M., and Wollan, D. (2003). Micro-oxygenation of wine in barrels. Aust. N. Z. Grapegrow. Winemak. 29–32.

Khanbabaee, K., and van Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. Nat. Prod. Rep. *18*, 641–649.

Kovacevic Ganic, K., Gracin, L., Jelicic, S., and Sicenica, A. (2008). Influence of microoxygenation treatment on the phenolic composition of the Plac mali wine. In Proceedings, (Opatija, Croatia), pp. 943–947.

Langcake, P., and Pryce, R.J. (1977). A new class of phytoalexins from grapevines. *33*, 151–152.

Lee, C.Y., and Jaworski, A.W. (1990). Identification of some phenolics in white grapes. Am. J. Enol. Vitic. *41*, 87–89.

Lonvaud-Funel, A. (1999). Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine. In Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications, (Springer), pp. 317–331.

Lopes, P., Saucier, C., and Glories, Y. (2005). Nondestructive colorimetric method to determine the oxygen diffusion rate through closures used in winemaking. J. Agric. Food Chem. *53*, 6967–6973.

Lopes, P., Richard, T., Saucier, C., Teissedre, P.-L., Monti, J.-P., and Glories, Y. (2007). Anthocyanone A : A quinone methide derivative resulting from malvidin 3-*O*-glucoside degradation. J. Agric. Food Chem. *55*, 2698–2704.

Lopes, P., Silva, M.A., Pons, A., Tominaga, T., Lavigne, V., Saucier, C., Darriet, P., Teissedre, P.-L., and Dubourdieu, D. (2009). Impact of oxygen dissolved at bottling and transmitted through closures on the composition and sensory properties of a sauvignon blanc wine during bottle storage. J. Agric. Food Chem. *57*, 10261–10270.

Lorrain, B., Ky, I., Pechamat, L., and Teissedre, P.-L. (2013). Evolution of analysis of polyphenols from grapes, wines, and extracts. Molecules *18*, 1076–1100.

Masson, G., Puech, J.-L., and Moutounet, M. (1994). Localization of the ellagitannins in the tissues of *Quercus robur* and *Quercus petraea* woods. Phytochemistry *37*, 1245–1249.

Masson, G., Moutounet, M., and Puech, J.L. (1995). Ellagitannin content of oak wood as a function of species and of sampling position in the tree. Am. J. Enol. Vitic. *46*, 262–268.

Mateus, N., Silva, A.M.S., Rivas-Gonzalo, J.C., Santos-Buelga, C., and de Freitas, V. (2003). A new class of blue anthocyanin-derived pigments isolated from red wines. J. Agric. Food Chem. *51*, 1919–1923.

Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M., and Velasco, R. (2006). Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. J. Agric. Food Chem. *54*, 7692–7702.

McArdle, J.V., and Hoffmann, M.R. (1983). Kinetics and mechanism of the oxidation of aquated sulfur dioxide by hydrogen peorxide at low pH. J. Phys. Chem. *87*, 5425–5429.

McCord, J. (2003). Application of toasted oak and micro-oxygenation to ageing of Cabernet Sauvignon wines. Aust. N. Z. Grapegrow. Winemak. *7*, 43–51.

Michel, J. (2012). Classification et influences des polyphénols du bois de chêne sur la qualité sensorielle des vins (Application du procédé OakScan®). Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.

Monagas, M., Núñez, V., Bartolomé, B., and Gómez-Cordovés, C. (2003). Anthocyanin-derived pigments in Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon wines produced in Spain. Am. J. Enol. Vitic. *54*, 163–169.

Monagas, M., Bartolomé, B., and GóMez-CordovéS, C. (2005). Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. *45*, 85–118.

Morais, H., Ramos, C., Forgasc, E., Cserhati, T., Matos, N., Almeida, V., and Oliveira, J. (2002). Stability of anthocyanins extracted from grape skins. Chromatographia *56*, S173–S175.

Moreno-Labanda, J.F., Mallavia, R., Pérez-Fons, L., Lizama, V., Saura, D., and Micol, V. (2004). Determination of piceid and resveratrol in spanish wines deriving from monastrell (*Vitis vinifera* L.) grape variety. J. Agric. Food Chem. *52*, 5396–5403.

Mosedale, J.R., Charrier, B., Crouch, N., Janin, G., and Savill, P.S. (1996). Variation in the composition and content of ellagitannins in the heartwood of European oaks (*Quercus robur* and *Q petraea*). A comparison of two French forests and variation with heartwood age. In Annales Des Sciences Forestières, (EDP Sciences), pp. 1005–1018.

Moutounet, M., and Mazauric, J.P. (2001). L'oxygène dissous dans les vins. Rev. Fr. Oenologie 12–15.

Moutounet, M., Mazauric, J.P., Saint Pierre, B., and Hanocq, J.F. (1998). Gaseous exchange in wines stored in barrels., Echanges gazeux des vins loges en barriques. J. Sci. Tech. Tonnellerie *(no 4) p. 115-145.*

Nevares, I., del Alamo, M., and Gonzalez-Muñoz, C. (2010). Dissolved oxygen distribution during micro-oxygenation. Determination of representative measurement points in hydroalcoholic solution and wines. Anal. Chim. Acta *660*, 232–239.

Niemetz, R., and Gross, G.G. (2005). Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. Phytochemistry *66*, 2001–2011.

Nikolantonaki, M., Chichuc, I., Teissedre, P.-L., and Darriet, P. (2010). Reactivity of volatile thiols with polyphenols in a wine-model medium: Impact of oxygen, iron, and sulfur dioxide. Anal. Chim. Acta *660*, 102–109.

OIV (2009). Recueil des méthodes internationales d'analyses des vins et des moûts (Paris).

Oliveira, J., de Freitas, V., Silva, A.M.S., and Mateus, N. (2007). Reaction between hydroxycinnamic acids and anthocyanin−pyruvic acid adducts yielding new portisins. J. Agric. Food Chem. *55*, 6349–6356.

Palmefors, H., DuttaRoy, S., Rundqvist, B., and Börjesson, M. (2014). The effect of physical activity or exercise on key biomarkers in atherosclerosis – A systematic review. Atherosclerosis *235*, 150–161.

Parpinello, G.P., Plumejeau, F., Maury, C., and Versari, A. (2011). Effect of micro-oxygenation on sensory characteristics and consumer preference of Cabernet Sauvignon wine. J. Sci. Food Agric. *92*, 1238–1244.

Pechamat, L., Zeng, L., Jourdes, M., Ghidossi, R., and Teissedre, P.-L. (2014). Occurrence and formation kinetics of pyranomalvidin-procyanidin dimer pigment in merlot red wine: impact of acidity and oxygen concentrations. J. Agric. Food Chem. *62*, 1701–1705.

Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P., and Noble, A.C. (1999). Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. J. Sci. Food Agric. *79*, 1123–1128.

Perez-Magarino, S., Iglesias, M.S., Heras, M.O., Huerta, C.G., and Sanjose, M.L.G. (2007). Colour stabilization of red wines by microoxygenation treatment before malolactic fermentation. Food Chem. *101*, 881–893.

Perry, R.H., Green, D.W., and Maloney, J.O. (1999). Perry's chemical engineers' handbook (New York: McGraww-Hill ;).

Petit, E., Lefeuvre, D., Jacquet, R., Pouységu, L., Deffieux, D., and Quideau, S. (2013). Remarkable biomimetic chemoselective aerobic oxidation of flavano-ellagitannins found in oak-aged wine. Angew. Chem. Int. Ed. *52*, 11530–11533.

Prida, A., Boulet, J.-C., Ducousso, A., Nepveu, G., and Puech, J.-L. (2006). Effect of species and ecological conditions on ellagitannin content in oak wood from an even-aged and mixed stand of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Liebl. Ann. For. Sci. *63*, 415–424.

Quideau, S., Jourdes, M., Lefeuvre, D., Montaudon, D., Saucier, C., Glories, Y., Pardon, P., and Pourquier, P. (2005). The chemistry of wine polyphenolic *C*-glycosidic ellagitannins targeting human topoisomerase II. Chem. - Eur. J. *11*, 6503–6513.

Reed, G., and Chen, S.L. (1978). Evaluating commercial active dry wine yeasts by fermentation activity. Am. J. Enol. Vitic. *29*, 165–168.

Renaud, S., and de Lorgeril, M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the French Paradox for coronary heart disease. The Lancet *339*, 1523-1526.

Ribeiro de Lima, M.T., Waffo-Téguo, P., Teissedre, P.L., Pujolas, A., Vercauteren, J., Cabanis, J.C., and Mérillon, J.M. (1999). Determination of stilbenes (*trans*-astringin, *cis* - and *trans* -piceid, and *cis* - and *trans* -resveratrol) in portuguese wines. J. Agric. Food Chem. *47*, 2666–2670.

Ribéreau-Gayon, P. (1965). Identification d'esters des acides cinnamiques et de l'acide tartrique dans les limbes et les baies de V. vinifera. Comptes Rendus Hebd. Séances Académie Sci. *260*.

Ribéreau-Gayon, P., and Stonestreet, E. (1965). Dosage des anthocyanes dans le vin rouge. Bull. Société Chim. Fr. 2649–2652.

Ribéreau-Gayon, P., and Stonestreet, E. (1966). Dosage des tannins du vin rouge et détermination de leur structure. Chim. Anal. *48*, 188–196.

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., and Donèche, B. (2006). Handbook of enology (Chichester, West Sussex, England; Hoboken, NJ: John Wiley).

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., and Lonvaud, A. (2012). Traité d'oenologie : Microbiologie du vin, Vinifications (Paris).

Roger, J.-M., Chauchard, F., and Bellon-Maurel, V. (2003). EPO–PLS external parameter orthogonalisation of PLS application to temperature-independent measurement of sugar content of intact fruits. Chemom. Intell. Lab. Syst. *66*, 191–204.

Rossi, J.A., and Singleton, V.L. (1966). Contributions of grape phenols to oxygen absorption and browning of wines. Am. J. Enol. Vitic. *17*, 231–239.

Rudnitskaya, A., Schmidtke, L.M., Delgadillo, I., Legin, A., and Scollary, G. (2009). Study of the influence of micro-oxygenation and oak chip maceration on wine composition using an electronic tongue and chemical analysis. Anal. Chim. Acta *642*, 235–245.

Sánchez-Iglesias, M., González-Sanjosé, M.L., Pérez-Magariño, S., Ortega-Heras, M., and González-Huerta, C. (2009). Effect of micro-oxygenation and wood type on the phenolic composition and color of an aged red wine. J. Agric. Food Chem. *57*, 11498–11509.

Santiago, J. l., González, I., Gago, P., Alonso-Villaverde, V., Boso, S., and Martínez, M. c. (2008). Identification of and relationships among a number of teinturier grapevines that expanded across Europe in the early 20th century. Aust. J. Grape Wine Res. *14*, 223–229.

Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., and Moutounet, M. (1997). Reactions of polyphenoloxidase generated caftaric acid o-quinone with malvidin 3-*O*-glucoside. Phytochemistry *45*, 1365–1369.

Sartini, E., Arfelli, G., Fabiani, A., and Piva, A. (2007). Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic composition of a red Sangiovese wine. Food Chem. *104*, 1599–1604.

Saucier, C., Jourdes, M., Glories, Y., and Quideau, S. (2006). Extraction, detection, and quantification of flavano-ellagitannins and ethylvescalagin in a bordeaux red wine aged in oak barrels. J. Agric. Food Chem. *54*, 7349–7354.

Schmidtke, L.M., Clark C., A., and Scollary, G.R. (2011). Micro-oxygenation of red wine : techniques, applications, and outcomes. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.

Silva, M.A. (2011). Effet de l'obturateur sur l'évolution de la qualité sensorielle du vin. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.

Singleton, V.L. (1987). Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: observations and practical implications. Am. J. Enol. Vitic. *38*, 69–77.

Snakkers, G., Nepveu, G., Guilley, E., and Cantagrel, R. (2000). Variabilités géographique, sylvicole et individuelle de la teneur en extractibles de chênes sessiles français (*Quercus petraea* L.): polyphénols, octalactones et phénols volatils. Ann. For. Sci. *57*, 251–260.

Sudraud, P. (1958). Interprétation des courbes d'absorption des vins rouges. 203–208.

Sun, B., Ribes, A.M., Leandro, M.C., Belchior, A.P., and Spranger, M.I. (2006). Stilbenes : Quantitative extraction from grape skins, contribution of grape solids to wine and variation during wine maturation. Anal. Chim. Acta *563*, 382–390.

Teissedre, P.-L., and Jourdes, M. (2013). Tannins and anthocyanins of wine: phytochemistry and organoleptic properties. In Handbook of Natural Products, K.G. Ramawat, and J.-M. Mérillon, eds. (Springer, Berlin, Heidelberg, New York), pp. 2255–2274.

Timberlake, C.F., and Bridle, P. (1976). Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. Am. J. Enol. Vitic. *27*, 97–105.

Du Toit, W.J., Lisjak, K., Marais, J., and du Toit, M. (2006). The effect of micro-oxygenation on the phenolic composition, quality and aerobic wine-spoilage microorganisms of different south african red wines. South Afr. J. Enol. Vitic. *27*, 57-67.

Du Toit, W.J., Marais, J., Pretorius, I.S., and Du Toit, M. (2006). Oxygen in must and wine: A review. South Afr. J. Enol. Vitic. *27*, 76–94.

Tsai Su, C., and Singleton, V.L. (1969). Identification of three flavan-3-ols from grapes. Phytochemistry *8*, 1553–1558.

Valero, E., Millán, C., and Ortega, J. (2001). Influence of oxygen addition during growth phase on the biosynthesis of lipids in *Saccharomyces cerevisiae* (M 330-9) in enological fermentations. J. Biosci. Bioeng. *92*, 33–38.

Verhallen, P.T.H.M., Oomen, L.J.P., Elsen, A.J.J.M. v. d., Kruger, J., and Fortuin, J.M.H. (1984). The diffusion coefficients of helium, hydrogen, oxygen and nitrogen in water determined from the permeability of a stagnant liquid layer in the quasi-s. Chem. Eng. Sci. *39*, 1535–1541.

Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V., and Waters, E.J. (2003). The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. J. Sci. Food Agric. *83*, 564–573.

Vidal, S., Francis, L., Noble, A., Kwiatkowski, M., Cheynier, V., and Waters, E. (2004). Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. Anal. Chim. Acta *513*, 57–65.

Vivar-Quintana, A.M., Santos-Buelga, C., Francia-Aricha, E., and Rivas-Gonzalo, J.C. (1999). Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. Food Sci. Technol. Int. *5*, 347–352.

Waterhouse, A.L., and Laurie, V.F. (2006). Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses. Am. J. Enol. Vitic. *57*, 306–313.

Wedzicha, B.L., Goddard, S., and Garner, D.N. (1987). Enzymic browning of sulphocatechol. Int. J. Food Sci. Technol. *22*, 653–657.

Wells, A., and Osborne, J. p. (2012). Impact of acetaldehyde- and pyruvic acid-bound sulphur dioxide on wine lactic acid bacteria. Lett. Appl. Microbiol. *54*, 187–194.

Wildenradt, H.L., and Singleton, V.L. (1974). The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wine aging. Am. J. Enol. Vitic. *25*, 119–126.

Wirth, J., Caillé, S., Souquet, J.M., Samson, A., Dieval, J.B., Vidal, S., Fulcrand, H., and Cheynier, V. (2012). Impact of post-bottling oxygen exposure on the sensory characteristics and phenolic composition of grenache rosé wines. Food Chem. *132*, 1861–1871.

Xu, Q., and Si, L.-Y. (2012). Resveratrol role in cardiovascular and metabolic health and potential mechanisms of action. Nutr. Res. *32*, 648–658.

Yokoi, H., Mitani, T., Mori, Y., and Kawata, S. (1994). Complex formation between iron(III) and tartaric and citric acids in a wide ph range 1 to 13 as studied by magnetic susceptibility measurements. Chem. Lett. *23*, 281–284.

Youngblood, M.P. (1986). Kinetics and mechanism of the addition of sulfite to p-benzoquinone. J. Org. Chem. *51*, 1981–1985.