



**HAL**  
open science

# Valorisation des jus de fin de pressée du sauvignon blanc en fonction de la quantité de composés phénoliques et leur acidité

Michail Tsaktsarlis

## ► To cite this version:

Michail Tsaktsarlis. Valorisation des jus de fin de pressée du sauvignon blanc en fonction de la quantité de composés phénoliques et leur acidité. Sciences du Vivant [q-bio]. 2024. dumas-04751902

**HAL Id: dumas-04751902**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04751902v1>**

Submitted on 24 Oct 2024

**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.



MÉMOIRE

Présenté à

L'université de Bordeaux

pour l'obtention du

DIPLÔME NATIONAL D'ŒNOLOGUE

par Michail TSAKTSARLIS

**Valorisation des jus de fin de pressée du sauvignon blanc en fonction  
de la quantité de composés phénoliques et leur acidité**



**CHÂTEAU CARBONNIEUX**

GRAND CRU CLASSÉ DE GRAVES  
PESSAC-LÉOGNAN

Soutenu devant la commission d'examen  
de la première session 2024



## RÉSUMÉ

Le Château Carbonnieux est un domaine viticole qui comprend un vignoble de 105 hectares et dont les premiers vins sont qualifiés de Grands Crus Classés de Graves et dépendent de l'appellation Pessac-Léognan. C'est une de plus anciennes propriétés de la région bordelaise et depuis 1956 la famille Perrin en est le propriétaire. Les cépages blancs cultivés sont le sauvignon blanc, le sémillon et pour les rouges il y a le merlot, le cabernet-sauvignon, le cabernet franc et le petit verdot. Il y a 45 hectares de raisins blancs et donc un grand volume des vins blancs par an. Chaque année, 200 hL à 300 hL de moût de fin de pressée sont isolés. La plus grande attention est donc apportée à leur valorisation et motive les essais réalisés cette année.

Dans ce contexte, une étude sur les différents traitements des jus de fin de pressée a été proposée avec une modalité sur l'évaluation de l'élimination de composés phénoliques grâce à des traitements oxydatifs et une autre sur l'utilisation des levures « acidifiantes » et l'augmentation de l'acidité totale. Des analyses chimiques pendant les vinifications ont été réalisées et complétées par des analyses sensorielles pour évaluer l'amélioration de la qualité du vin de fin de pressée de sauvignon blanc.

## ABSTRACT

The « Château Carbonnieux » features 105 hectares of vineyards whose wines are classified as « Grand Cru Classé de Graves », under the appellation of Pessac-Léognan. « Château Carbonnieux » is one of the oldest estates in the Bordeaux region and is owned by the Perrin family since 1956. The Perrins cultivate the white grape varieties of sauvignon blanc and semillon, and the red grape varieties of merlot, cabernet-sauvignon, cabernet franc and petit verdot. There are 45 hectares dedicated to white grapes, yielding a large volume of white wine each year. The total volume of the juice that comes from the end of the press is 200hL to 300hL, quite a considerable amount. The constant availability of such a volume motivated the Domaine to study and to develop it.

In this context, a study has been conducted on different ways of treating the juice of sauvignon blanc that comes from the end of the pressing. One modality examines how oxidative treatments could eliminate a part of the phenolic compounds, and another is on increasing the acidity of the wines using yeast, which increases the acidity naturally. Sensory analyses were conducted at the end of the vinification to supplement the chemical analyses carried out throughout the present experiment.

# TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	I
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX.....	IV
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	V
REMERCIEMENTS.....	VII
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE 1 : VITICULTURE.....</b>	<b>2</b>
1. LE MILLÉSIME 2023.....	2
2. LA VITICULTURE AU CHÂTEAU CARBONNIEUX.....	4
3. ADAPTATION CÉPAGE/SOL AU CHÂTEAU CARBONNIEUX.....	4
4. LA TAILLE.....	5
5. TRAVAUX EN VERT.....	6
5.1. ÉPAMPRAGE.....	6
5.2. ÉCIMAGE, ROGNAGE.....	6
5.3. EFFEUILLAGE, ÉCHARDAGE.....	7
5.4. ÉCLAIRCISSEMENT.....	7
6. TRAITEMENT PHYTOSANITAIRE.....	7
7. ENTRETIEN DU SOL.....	8
7.1. TRAVAIL DU SOL.....	8
7.2. ENGRAIS.....	8
8. ANALYSE CRITIQUE.....	9
<b>PARTIE 2 : LES VINIFICATIONS.....</b>	<b>11</b>
1. LES VINIFICATIONS DES VINS BLANCS.....	11
1.1. LA RÉCEPTION DE LA VENDANGE ET L'ORGANISATION AU CHAI.....	11
1.2. LES OPÉRATIONS PRÉFERMENTAIRES.....	12
1.2.1. CUVE DE GOUTTE.....	12
1.2.2. CUVE DE PRESSE.....	13
1.3. LA FERMENTATION ALCOOLIQUE.....	13
1.3.1. CUVE DE GOUTTE.....	13
1.3.2. CUVE DE PRESSE.....	15
1.4. LES OPÉRATIONS POST-FERMENTAIRES.....	15
2. LES VINIFICATIONS DE VINS ROUGES.....	16
2.1. LA RÉCEPTION DE LA VENDANGE ET L'ORGANISATION DU CHAI.....	16
2.2. LES OPÉRATIONS PRÉFERMENTAIRES.....	16
2.3. LA FERMENTATION ALCOOLIQUE.....	16
2.4. LES OPÉRATIONS POST-FERMENTAIRES.....	18
2.4.1. MACÉRATION POST-FERMENTAIRE À CHAUD.....	18
2.4.2. PREMIER ASSEMBLAGE.....	18
2.4.3. ÉCOULAGE.....	18
2.4.4. DÉCUVAGE.....	18
2.4.5. PRESSURAGE.....	19
2.4.6. FERMENTATION MALOLACTIQUE.....	19
2.4.7. ENTONNAGE.....	19
3. LA VINIFICATION DES VINS LIQUOREUX.....	19
4. ANALYSE CRITIQUE.....	20
4.1. LES VINIFICATIONS DES VINS BLANCS.....	20
4.2. LES VINIFICATIONS DES VINS ROUGES.....	21
<b>PARTIE 3 : L'EXPÉRIMENTATION.....</b>	<b>22</b>
1. PRÉSENTATION DU SUJET.....	22
2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	22
2.1. LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES.....	22
2.2. L'OXYDATION ENZYMATIQUE DU MOÛT.....	23

2.3. L'HYPEROXYGÉNATION.....	25
2.4. L'ACIDITÉ DU VIN.....	25
2.5. <i>Lachancea thermotolerans</i> .....	26
2.6. SOUCHES ACIDIFIANTES DE <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	27
2.7. MÉTABOLISME DES SOUCHES ACIDIFIANTES.....	27
3. MISE EN PLACE DE L'EXPÉRIMENTATION.....	29
4. ANALYSES.....	33
5. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	33
5.1. LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES.....	33
5.1.1. VOLTAMÉTRIE LINÉAIRE.....	33
5.1.2. ABSORBANCE 420 nm.....	34
5.1.3. INDICE DE FOLIN-CIOCALTEU.....	35
5.1.4. TEST DE TENUE À L'AIR.....	35
5.1.5. CATÉCHINES.....	36
5.2. ACIDITÉ.....	36
5.2.1. ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES.....	36
5.2.2. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES.....	37
5.2.3. ACIDE LACTIQUE.....	38
5.2.4. ACIDE MALIQUE ET SUCCINIQUE.....	38
5.3. ANALYSE SENSORIELLE.....	39
6. COMPARAISON DU PROJET INITIAL ET DU PROJET FINAL.....	40
6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	40
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	42
BIBLIOGRAPHIE.....	43

## LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Pluviométrie de l'année 2023 (station météo Demeter) .....	2
Figure 2 : Températures moyennes de l'année 2023 (station météo Demeter).....	2
Figure 3 : Activité des polyphénoloxydases (14).....	23
Figure 4 : Mécanismes de l'oxydation enzymatique dans le moût (17) .....	24
Figure 5 : Concentration des composés phénoliques en fonction des différents ajouts d'oxygène (19) .....	25
Figure 6 : Métabolisme central de <i>Lachancea thermotolerans</i> (28) .....	26
Figure 7 : Suivi de l'acide malique pendant la fermentation alcoolique dans les souches acidifiantes (courbe verte) et les souches démaliquantes (courbe rouge) (40) .....	28
Figure 8 : Production d'acide malique chez les souches acidifiantes (Réalisation personnelle) .....	29
Figure 9 : Détermination de l'indice d'oxydation .....	30
Figure 10 : Suivi de la fermentation alcoolique.....	32
Figure 11 : Microvinification de l'expérimentation.....	32
Figure 12 : Voltamogrammes obtenus en voltamétrie linéaire ( $\Delta V$ 0-1.5) électrode de travail : Au, électrode de référence : Ag/AgCl/Cl <sup>-</sup> .....	34
Tableau 1 : Absorbance à 420 nm .....	34
Tableau 2 : Indice de Folin Ciocalteu par mg/L d'acide gallique .....	35
Tableau 3 : Test de tenue à l'air .....	35
Tableau 4 : Dosage des séries catéchines par chromatographie en phase liquide (LC-MS) ....	36
Tableau 5 : Analyses initiales du moût .....	36
Tableau 6 : Analyses des toutes les variables en fin de fermentation.....	37
Tableau 7 : PCR Quantitative pour les deux modalités de la variable de la co-inoculation d'OMEGA-X5 .....	37
Tableau 8 : Dosage enzymatique d'acide lactique .....	38
Tableau 9 : Dosage enzymatique d'acide malique et d'acide succinique.....	38

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

AOP :	Appellation d'Origine Protégée
ADH :	Alcool déshydrogénase
AH :	Acides hydroxycinnamiques
cm :	Centimètre
CO <sub>2</sub> :	Dioxyde de carbone
DNO :	Diplôme National d'Œnologue
DO :	Densité optique
FA :	Fermentation alcoolique
GDON :	Groupe de Défense contre les Organismes Nuisibles
g :	Gramme
GSH :	Glutathion réduit
h :	Heure
ha :	Hectare
hL :	Hectolitre
HVE 3 :	Certification Haute Valeur Environnementale (HVE) Niveau 3
L :	Litre
LC :	Chromatographie en phase liquide
LDH :	Lactate déshydrogénase
MAC :	Malic acid consumed
mg :	Milligramme
MS :	Spectrométrie de masse
M. :	Monsieur
NTU :	Nephelometric Turbidity Unit
N :	Année actuelle
N+1 :	Année prochaine
N-1 :	Année précédente
Q-Pcr :	Quantitative Pcr (Polymerase Chain Reaction)
SCEA :	Société Civile d'Exploitation Agricole
SME :	Système de Management Environnemental
SO <sub>2</sub> :	Dioxyde de soufre
TAV :	Titre alcoométrique volumique
TAVp :	Titre alcoométrique volumique probable
UFC :	Unité formant colonie

ZNT : Zones Non traitées

% v/v : Concentration volumique

°C : Degré Celsius

## REMERCIEMENTS

J'adresse tout d'abord mes remerciements à Messieurs Éric et Philibert Perrin, propriétaires du Château Carbonnieux, qui m'ont permis de réaliser mon stage de six mois au Château Carbonnieux.

Je remercie aussi Monsieur Andréa Perrin, le responsable œnologique et Monsieur Valentin Cypriani, le maître de chai, pour leur accueil au sein de l'équipe, ainsi que pour tous leurs conseils et leur partage de leurs expériences. Leurs discussions enrichissantes concernant la vinification et la dégustation m'accompagneront dans toute ma vie professionnelle.

Merci également à Monsieur Freddy Flé, le chef de culture, qui m'a aidé à comprendre que le travail dans la vigne diffère parfois de la théorie.

Mes remerciements s'adressent également à toutes les personnes du chai qui ils m'ont aidé à m'adapter, en m'incluant dans toutes les activités de ces six mois.

Je souhaiterais remercier de même Monsieur Christophe Ollivier, l'œnologue conseil du Château Carbonnieux, pour ses précieux conseils et pour son soutien pendant mon cursus à Bordeaux.

Je remercie également mon tuteur de stage, Monsieur Philippe Darriet, et ma professeure Madame Marina Bely pour tous leurs conseils et leurs réponses à mes questions.

Merci à Madame Solange, pour sa soutien et son aide.

Enfin, je tiens à remercier ma mère, Alexandra, ma sœur Areti et mon amie Olga pour m'avoir soutenue pendant mes études à Bordeaux et dans tous mes projets. J'adresse particulièrement mes remerciements à mon père, Vasilis, qui m'a aidé à comprendre l'œnologie en ayant toujours une réponse concrète à mes nombreuses questions. Sans eux, tout cela n'aurait jamais été possible.

## INTRODUCTION

---

Le Château Carbonnieux fait partie de l'appellation Pessac-Léognan. Cette propriété était classée en Grand Cru Classé pour le vin blanc et le rouge en 1953. L'histoire du Château Carbonnieux commence avec la famille « Carbonius » qui a participé au défrichement de la forêt de Villenave d'Ornon.

En février 1956, Marc Perrin a acheté le vignoble où tout était à reconstruire à cause du phylloxera. Aujourd'hui, le Château Carbonnieux est une société civile d'exploitation agricole, nommée SCEA Perrin et fils, gérée par Éric Perrin, directeur financier, par Philibert Perrin, directeur technique, et par Andrea Perrin, responsable œnologique.

La superficie du vignoble de 105 ha est classée en AOP Pessac-Léognan. Aujourd'hui, les cépages blancs sont le sauvignon blanc et le sémillon et les rouges sont le merlot, le cabernet-sauvignon, le cabernet franc et le petit verdot. L'équipe de viticulture est dirigée par le chef de culture, Freddy Flé.

Le Château se compose d'appartements privés, de salles de réception et de bureaux administratifs. De plus, il y a deux bâtiments pour l'élaboration des vins du Château Carbonnieux, un bâtiment des trois étages où au niveau -1 se trouve le chai des barriques de rouge ; les cuiviers de blancs et de rouges ainsi que le stockage se retrouvent au niveau 0 et au niveau +1 le bureau du maître du chai, M. Valentin Cypriani, et du responsable œnologique, M. Andrea Perrin. Enfin, un dernier bâtiment à vocation agricole. Il se compose d'un atelier pour la maintenance des tracteurs, d'un local de stockage de produits phytosanitaires, d'une aire de lavage, d'un garage pour les engins agricoles et véhicules de fonction et le bureau du chef de culture.

Toujours dans l'esprit de l'expérimentation des nouvelles techniques et de l'amélioration des techniques existantes, le Château m'a confié comme sujet de recherche une évaluation des différents traitements pour éliminer les composés phénoliques de jus de fin de pressée de sauvignon blanc associée à un essai de levures « acidifiantes ».

Ce rapport est divisé en trois parties : la viticulture, la vinification et l'expérimentation. Dans la première partie, j'expliquerai les pratiques viticoles de cette exploitation ainsi que le contexte du millésime. La deuxième partie concerne la vinification, les choix et les pratiques réalisées dans le chai. Dans une troisième partie, j'aborderai mon sujet de recherche à travers une analyse bibliographique divisée en deux parties, les composés phénoliques et l'acidité du vin.

# PARTIE 1 : Viticulture

## 1. LE MILLÉSIME 2023

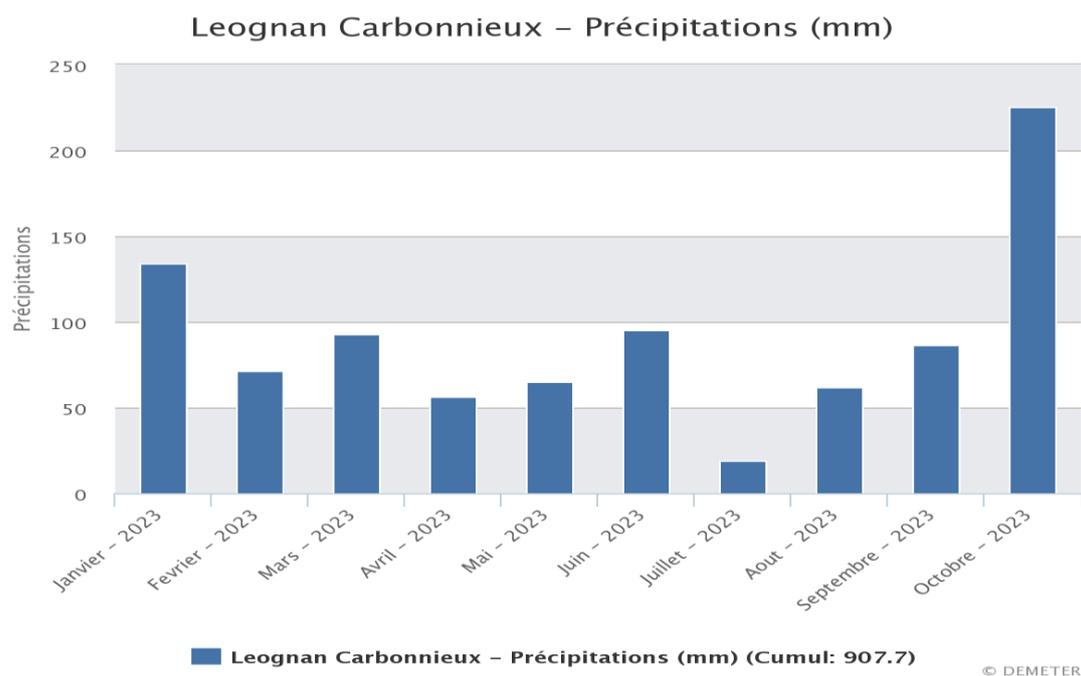


Figure 1 : Pluviométrie de l'année 2023 (station météo Demeter)

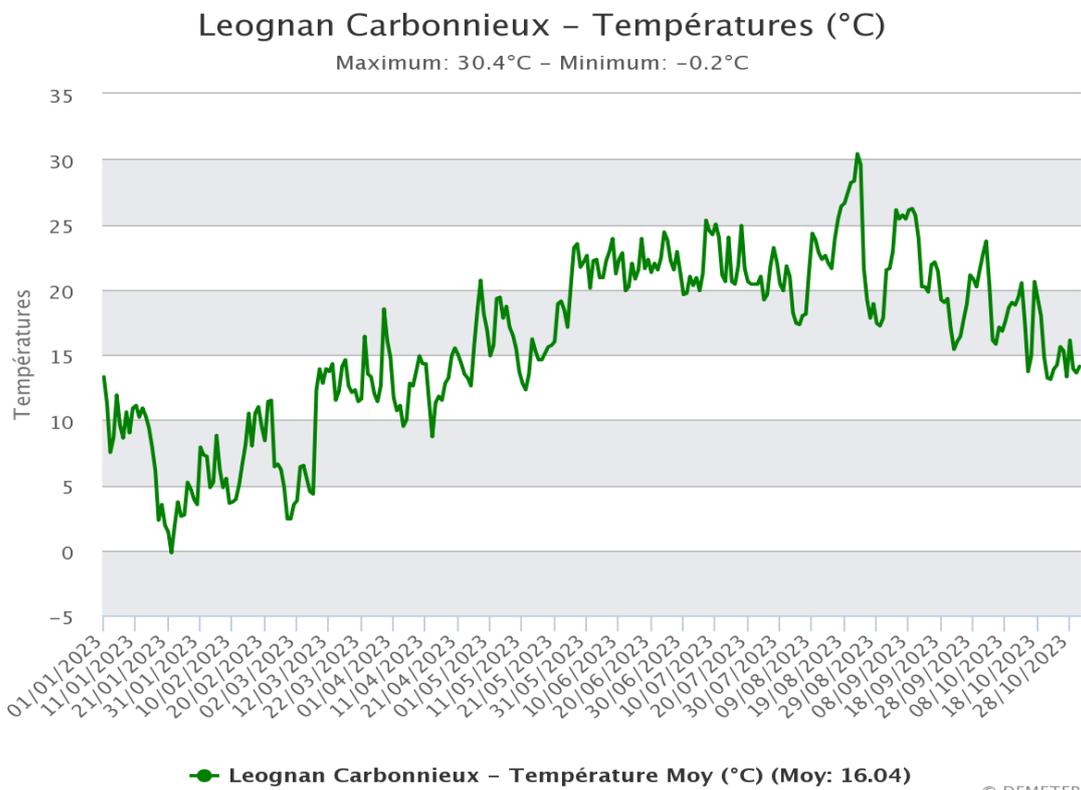


Figure 2 : Températures moyennes de l'année 2023 (station météo Demeter)

Tout d'abord, l'automne du millésime 2022 était assez chaud dans le prolongement du printemps et de l'été, qui étaient particulièrement chauds et secs. L'hiver a aussi commencé très progressivement avec des températures assez élevées pour Bordeaux. Les précipitations abondantes au mois de janvier, mais aussi de novembre de 2022, étaient suffisantes pour permettre un rechargement complet de la réserve utile dans tous les types de sol. Heureusement, les températures ont fortement baissé à la fin du mois de janvier. Le mois de février et la première moitié de mars se sont déroulées dans un contexte frais. Les températures basses permettent une dégradation de l'acide absicique assez dense et donc une hydrolyse des réserves en amidon de la vigne, ce qui permet à la vigne de mobiliser ses réserves afin de préparer pour le débourrement (1). Ce point était très important car les réserves carbonées des vignes étaient faibles après le cycle végétatif très sec de 2022.

Grâce aux températures globalement plus fraîches entre le 18 janvier et la mi-mars, le débourrement n'a pas été trop précoce cette année. À la mi-mars, le débourrement se fait en commençant par les parcelles de sauvignon blanc et de merlot. Le réchauffement rapide des sols au cours de la deuxième quinzaine de mars a stimulé un débourrement franc et homogène.

Ensuite, le printemps s'est déroulé à des températures douces et puis chaudes du mois de juin associées à des conditions hydriques non restrictives, et donc une accélération du cycle végétatif a été observée. Les mois de juin et juillet, avec une pluviométrie plutôt modérée mais des températures assez élevées (entre 20-25°C) ont fortement favorisé le mildiou, qui était une préoccupation dominante du millésime 2023.

La floraison démarre au mois de mai et progresse très rapidement dans des conditions chaudes et un peu sèches. Ces excellentes conditions de fécondation permettent un très bon taux de nouaison pour construire un potentiel de rendement nettement supérieur à la moyenne.

La véraison est progressée dans des conditions sèches accompagnées de températures modérées entre le 10 et le 31 juillet 2023.

Ensuite, la période de maturation a commencé au mois d'août et dans des conditions climatiques modérément pluvieuses et plus fraîches que la normale. Les températures ont rapidement remonté de la mi-août jusqu'à la fin août. Au cours de cet épisode caniculaire, l'évolution des raisins a été assez faible, avec une progression lente ou nulle des paramètres analytiques, notamment sur les raisins blancs. Mais ces températures élevées en fin de maturation étaient très favorables à la maturation sur la majorité des vignes chargées, sauf pour les jeunes vignes où des phénomènes de blocage et des flétrissements ont été observés.

Malgré les températures très élevées en fin de maturation, mais grâce aux contraintes hydriques modérées sur la majorité du vignoble, une bonne synchronisation des maturités technologiques, phénoliques et aromatiques a été constatée.

Enfin, les vendanges au Château Carbonnieux sont en accord avec cette dynamique : les sauvignons blancs les plus précoces ont commencé à être vendangés lors de la semaine du 21 août, parfois sous la pression de la pourriture acide. Les vendanges des merlots précoces ont majoritairement débuté lors de la semaine du 11 septembre, avec quelques exceptions dès la fin de semaine précédente. Les cabernets-sauvignons les plus précoces seront vendangés dès la semaine du 18 septembre et la majorité des vendanges sont terminées en fin septembre.

Pour conclure, à mon avis ce millésime correspond à la tendance du changement climatique, avec une augmentation des températures moyennes qui implique un cycle de vigne plus précoce. En relation avec des conditions printanières plus chaudes et aussi humides que dans le passé, l'inquiétude augmente concernant la virulence du mildiou. Malgré cette situation difficile, 2023 est un millésime surtout de quantité et de qualité suffisante.

## 2. LA VITICULTURE AU CHÂTEAU CARBONNIEUX

Actuellement, le Château Carbonnieux est classé en agriculture raisonnée. Ce type de gestion implique le remplacement des insecticides et des désherbants par des méthodes alternatives plus respectueuses de l'environnement et de la vigne. Le Château a reçu la certification HVE3 et fait partie de la première association SME de Bordeaux, certifiée ISO 14001.

Le vignoble compte environ 105 ha soit 60 ha en cépage rouge et 45 ha en cépage blanc. Tout le vignoble se situe sur l'appellation Pessac-Léognan. Sur les 60 hectares des cépages rouges, il y a 30 hectares de cabernet-sauvignon, 25 hectares de merlot, 3 hectares de petit verdot et 2 hectares de cabernet franc, alors que sur les 45 hectares des cépages blancs, 30 sont de sauvignon blanc et 15 sont de sémillon.

Les porte-greffes trouvés pour les cépages rouges sont les suivantes : Riparia Gloire de Montpellier, 101-14 Millardet et de Grasset, et 3309 Couderc. Le Fercal, le 3309 Couderc et le 101-14 MG sont utilisés pour les cépages blancs. L'inter-rang est de 1,40 m et les pieds sont à 1 m de distance. En conséquence, la densité de plantation est de 7.200 pieds par hectare.

## 3. ADAPTATION CÉPAGE/SOL AU CHÂTEAU CARBONNIEUX

Le Château Carbonnieux possède deux grands types des sols très différents ainsi que des types intermédiaires. La partie sud-est est constituée des sols graveleux avec des sable et d'argile. Cette partie est plantée en rouge ; les sols les plus graveleux sont réservés au cabernet-sauvignon et les plus argileux au merlot. L'effet des graves et la radiation du soleil

sur cette partie favorise une maturité plus complète notamment pour le cabernet-sauvignon, qui est un cépage tardif.

La partie nord-ouest est un coteau à la proximité de l'eau blanche, un affluent de la Garonne. Cette formation géologique argilo-calcaire crée un microclimat très généreux et qualitatif pour les cépages blancs. Cette partie est plantée de sauvignon blanc et de sémillon. L'effet du calcaire sur le sol permet de maintenir une température plutôt fraîche et donc une maturation assez lente. Grâce à ces conditions, une maturité optimum est obtenue avec des TAV modérés, une acidité plutôt élevée et une puissance aromatique importante. L'argile en surface évite un stress hydrique trop important durant les années chaudes.

En général, cette relation entre les sols et les cépages, c'est-à-dire le fait de cultiver des cépages précoces dans un sol tardif et l'inverse, est bien suivie. Il y a cependant quelques exceptions. Par exemple au pied du coteau nord-ouest se trouvent des parcelles plutôt graveleuses qui sont plantées de sauvignon blanc. Ces parcelles ont des rendements très bas avec une maturité assez précoce et ils font rarement partie du premier vin.

Afin d'assurer la bonne gestion du vignoble à long terme, une grande attention est apportée au renouvellement du vignoble. Les motivations sont les suivantes :

- un cépage pas planté sur un sol qui lui est adapté ;
- une qualité faible des raisins, il ne fait pas partie du premier vin pendant plusieurs années, et
- des parcelles à très faible rendement et avec un taux des manquants très élevé ou un allongement des bras important (il s'agit souvent de vieilles vignes, plus de 50 ans).

Souvent, les deux premières raisons sont liées mais pas toujours. La qualité faible des raisins peut être due, par exemple, à un mauvais choix de matériel végétal.

#### 4. LA TAILLE

Pour le cabernet-sauvignon, le merlot, le cabernet franc, le petit verdot et le sauvignon blanc, la taille appliquée est le Guyot double ou le Guyot Poussard ou le Guyot médocain. La taille débute au mois de décembre après la chute des feuilles pour permettre à la vigne de stocker un maximum d'assimilés pour l'hiver. Le bois tombé va être broyé un rang sur deux afin d'enrichir le sol en matière organique. Une formation de taille est faite chaque année organisée par le chef de culture afin d'expliquer en particulier la notion de flux de sève. Des consignes sont aussi données concernant les plaies de tailles, telles que le fait de laisser un chicot pour ne pas créer des cônes de dessiccation trop profonds. Dans l'idéale, le chef de culture veut avoir un courson pour le courant de sève et un aste fructifère sur chaque bras.

Le Guyot double est appliqué plus strictement au cabernet-sauvignon pour ne pas favoriser les grosses plaies de la taille, car il s'agit d'un cépage extrêmement sensible aux maladies du bois (esca). Les tailleurs sont tenus d'estimer la vigueur de chaque pied séparément. C'est-à-dire qu'en arrivant sur les parcelles, il faut compter le bois bien développé de l'année N-1 pour en estimer la charge. S'il y a une charge suffisante, le Guyot double est appliqué (deux coursons à deux yeux, deux astes à quatre yeux). Sinon, c'est le Guyot Poussard qui est appliqué, avec un courson et un aste sur un bras et un courson sur l'autre. Le Guyot médocain a également été appliqué cette année dans les parcelles de merlot afin de baisser leur rendement en laissant deux astes sous chargés à trois yeux.

Concernant la taille du sémillon, le chef de culture choisit d'appliquer le gobelet palissé. La charge change toujours en fonction de la parcelle et de la vigueur du pied mais en général de cinq à sept porteurs avec un courson à deux yeux sont laissés. Le choix du gobelet palissé peut avoir des avantages sur une récolte homogène avec des grappes bien séparées mais des vendanges en verts sont cependant souvent nécessaires.

L'éborgnage (ébourgeonnage à sec) est fait en même temps que la taille, pour bien orienter les yeux sur le bois du pied, et le pied est nettoyé en coupant le chicot de l'année précédente. Le pliage des bois est réalisé plus tard, lorsque le bois est moins cassant, mais toujours avant le débourrement.

## 5. TRAVAUX EN VERT

### 5.1. ÉPAMPAGE

L'épamprage est la première étape des travaux en vert de l'année et il consiste à supprimer les jeunes pousses au niveau de la tête, du corps et du pied. C'est aussi l'étape clé pour le rajeunissement du pied pour éviter un allongement des bras trop important. C'est une étape importante surtout pour le cabernet-sauvignon, car en tant que cépage qu'il ne fait pas beaucoup des pampres en grandissant et donc au Château Carbonnieux après le cinq à huit ans d'âge de la vigne, ils commencent à rajeunir la souche. Ce renouvellement de souche est effectué en laissant le pampre se développer l'année N et en coupant pendant la taille comme un courson à deux yeux l'année N+1. Quand le courson atteint dans une taille importante (1/3 du bras), un nouveau bras pourrait se développer et donc l'allongement du pied est évité.

Le premier épamprage est fait avant l'opération de levage des rameaux sur les premiers fils et le second a eu lieu en été, en même temps que le relevage de la vigne.

### 5.2. ÉCIMAGE, ROGNAGE

Le premier écimage de l'année est fait après mi-floraison, en commençant avec les parcelles de merlot. L'écimage est fait en coupant l'apex afin de réorienter le flux de sève vers

les fleurs et favoriser la croissance reproductive. Le premier écimage est toujours le plus léger concernant la hauteur du feuillage et après, les rognages sont faits plus sévèrement. Il n'y a pas de programme stable pour le rognage, mais il est pratiqué quand il y a une augmentation de la hauteur du feuillage.

### 5.3. EFFEUILLAGE, ÉCHARDAGE

L'effeuillage et l'échardage sont faits après le premier écimage afin d'aérer la souche, d'avoir une meilleure pénétration des produits phytosanitaires, de limiter les jeunes feuilles qui sont très sensible aux maladies cryptogamiques comme le mildiou, d'éliminer des odeurs végétales des pyrazines et surtout pour les cépages rouges, de favoriser la maturation phénolique des raisins (2). Le côté levant (est) est effeuillé au niveau de la grappe et au-dessous pour exposer les baies le matin, mais en laissant les feuilles au-dessus de manière à servir de casquette. Tous les entre-cœurs sont éliminés (opération d'échardage).

### 5.4. ÉCLAIRCISSEMENT

L'éclaircissement est rarement effectué au Château Carbonnieux, sauf les années très chargées, comme 2023, où après la véraison quelques grappes sont éliminées pour bien homogénéiser la qualité de la récolte en éliminant les grappes mal verrées ou touchées par des maladies.

## 6. TRAITEMENT PHYTOSANITAIRE

Le Château dispose du label HVE3 ainsi que la classification d'agriculture raisonnée. C'est-à-dire que certaines mesures sont prises pour respecter les cours d'eau, les ZNT, les préventions lors des campagnes de traitements vis-à-vis des voisins et des dérives de produits.

En outre, des moyens de prophylaxie sont mis en œuvre comme d'éviter l'humidité dans les parcelles en désherbant mécaniquement les rangs et en privilégiant des travaux en vert.

Les traitements ont commencé le 20 avril avec des produits anti-mildiou/anti-oidium (maladies fongiques de partie herbacée). La stratégie générale du Château est de bien protéger les vignes du début de la végétation jusqu'à la fin de floraison avec des produits de contact mais aussi des produits pénétrants. Le mildiou était la maladie de 2023 et donc un nombre de passage plus élevé a été réalisé (douze). Des huiles essentielles sont aussi appliquées afin de diminuer les doses des autres produits.

Concernant les insectes, les tordeuses, des méthodes de biocontrôle sont utilisées, telles que la confusion sexuelle et l'utilisation de bactéries de *Bacillus thuringiensis*. Cette technique présente des résultats intéressants mais il est parfois nécessaire de la compléter

avec un insecticide à la fin de la campagne lorsqu'une présence élevée des insectes est observée.

Au Château Carbonnieux, des engrais foliaires sont également appliqués. Dans un premier temps, des engrais de manganèse et du bore sont appliqués pour favoriser la répartition des sucres et la photosynthèse de la vigne, et ensuite dans les parcelles des cépages blancs un engrais foliaire d'azote est appliqué afin d'augmenter les composés aromatiques, les thiols. Enfin, le Kaolin<sup>®</sup> (argiles blanches) est appliqué, qui protège les baies des insectes, en fonctionnant comme un écran (3).

La flavescence dorée est surveillée et gérée par le GDON de Léognan.

## 7. ENTRETIEN DU SOL

### 7.1. TRAVAIL DU SOL

Désormais, le désherbage au Château Carbonnieux est totalement mécanique. Après la vendange, un chausage est fait en couvrant toutes les adventices. Au mois de décembre, un buttage est fait pour réorienter les racines vers le sous-sol et pour enlever les adventices. De plus, lorsque le risque de gel est fort pendant le mois d'avril, un décavaillonnage est réalisé afin de ne pas favoriser l'humidité dans la parcelle. Une fois le risque du gel passe, le sol est travaillé avec cette technique de chausage et déchausage pour éliminer les adventices. L'utilisation des outils pour travailler l'inter-cep est évitée, car ils risquent d'abîmer le tronc du pied.

### 7.2. ENGRAIS

En général, chaque année les apports d'engrais sont faits pour assurer une alimentation régulière et adaptée. Les engrais sont organiques et les doses sont ajustées aux besoins de l'azote de la vigne. Les doses des engrais peuvent varier en fonction de l'âge de la vigne, des difficultés de la maturation et des rendements très bas. Par exemple, pour les jeunes vignes une dose plus élevée est appliquée pour aider la vigne à pousser et pour en favoriser la croissance végétative durant les premières années. Dans un sol argileux les apports sont mis en place en automne et pour les sols graveleux les apports sont faits au printemps.

Pour bien calculer les doses des engrais et les besoins de nutriments des parcelles, au Château Carbonnieux, des rapports de rendement de chaque parcelle sont faits tous les ans.

Si un problème récurrent est constaté dans une parcelle, le chef de culture étudie la question en plusieurs étapes:

- Dans un premier temps, il revoit la plantation et vérifie que le problème ne vient pas du matériel végétal. Par exemple, ils ne sont pas satisfaits du *101-14 MG*, car

il présente des symptômes de sécheresse même dans les années de pluviométrie normale.

- Dans un second temps, il vérifie l'âge de la vigne et le taux des pieds manquants et/ou non productifs.
- Enfin, il fait une analyse du sol pour vérifier si le problème se situe au niveau du sous-sol (perturbation du système racinaire) ou de la nutrition.

En revanche, dans les parcelles très vigoureuses avec des rendements élevés et avec une teneur d'azote assimilable assez élevée, les doses des engrais sont minimales presque nulles.

## 8. ANALYSE CRITIQUE

Pendant mon stage au Château Carbonnieux, j'avais la chance d'avoir plusieurs discussions avec le chef de culture, Monsieur Freddy Flé. Il m'a expliqué que quand on gère un vignoble de 105 hectares implique parfois des compromis dans la façon de travailler.

À mon avis, un très grand avantage au Château Carbonnieux est que chaque tailleur dispose de sa propre parcelle, car la taille est une pratique primordiale qui impacte fortement la pérennité du vignoble et aussi l'année N+1. Cela permet d'avoir une continuité dans la parcelle et une homogénéité au cours des années.

La pratique du rajeunissement du pied est assez contradictoire. D'un côté, en rajeunissant le pied, un nouveau bras est formé proche du tronc avec un flux de sève continu et ainsi il produit des grappes aérées et bien homogènes. Mais les plaies de taille de cette pratique sont grosses et laissent du bois mort excessif ; or, étant donné que le bois mort constitue une entrée pour les maladies de bois (4), on peut constater que cette pratique a tendance à diminuer la vie du pied. Mais d'un autre côté aussi, l'allongement du pied pendant toute sa vie augmente la viabilité de la souche mais diminue aussi la qualité des raisins, notamment dans une parcelle à densité modérée en raison de l'entassement des grappes. Ainsi, dans le but de produire des vins de qualité, les œnologues et le chef du culture du Château Carbonnieux choisissent de limiter légèrement la viabilité du pied pour gagner en qualité quant à leur production. En tant que futur œnologue, j'approuve cette décision.

Ensuite, le choix de Guyot double pour le cabernet-sauvignon pour augmenter la longévité du pied et pour limiter les maladies du bois est également correct, selon moi. Cependant, dans ces conditions le nombre d'yeux laissé au taille est important et la récolte potentiellement élevée. L'éclaircissage devrait être systématique.

Concernant le travail du sol, pendant mon stage au Château Carbonnieux, je n'ai jamais vu des herbes dans les parcelles ; cela permet en général d'obtenir des vignes

vigoureuses et précoces. Toutefois, l'enherbement peut avoir des avantages à certains moments. En effet, la concurrence azotée créée par l'herbe pourrait limiter la vigueur en créant un stress modéré dans quelques parcelles de rouge excessivement vigoureuses.

## PARTIE 2 : LES VINIFICATIONS

---

Les contrôles de maturité ont commencé au début août pour cette année et ils sont régulièrement effectués afin de déterminer la date optimale de récolte des raisins. Des échantillons sont prélevés chaque fois pour réaliser des analyses au laboratoire du Château. Pour chaque parcelle, 200 baies minimum sont prélevées au hasard en prenant trois baies par grappe (en haut, en milieu et en bas de la grappe) sur les deux faces de rang. Les analyses sont faites avec l'OENOFOS<sup>®</sup> ; en mesurant la masse volumique à l'aide d'un mustimètre et en pesant le poids de 100 baies. De plus, les dégustations de raisins sont toujours faites en parallèle. Grâce à ce suivi, une date optimale est choisie concernant leur teneur en sucres, leur acidité et leurs arômes pour les raisins blancs et pour les raisins rouges en prenant en compte également la couleur des baies, ainsi que l'amertume et l'astringence des tanins.

### 1. LES VINIFICATIONS DES VINS BLANCS

Le processus de vinification des vins blancs est plus strict que celui des vins rouges. Les jus des raisins blancs et notamment ceux du sauvignon blanc et du sémillon étant les cépages les plus sensibles à l'oxydation, il est nécessaire de les protéger strictement afin d'en préserver au maximum les arômes et la fraîcheur.

#### 1.1. LA RÉCEPTION DE LA VENDANGE ET L'ORGANISATION AU CHAI

Les vendanges ont débuté le 24 août avec les jeunes plantes de sauvignon blanc. Une équipe de 50 à 90 vendangeurs est mobilisée. Chaque matin les consignes sont données par le chef de culture concernant la parcelle en question et l'état sanitaire des raisins, surtout à propos de la pourriture grise. Le premier tri est effectué directement à la vigne.

Les raisins sont récoltés à la main dans des paniers, puis vidés dans la hotte d'un porteur. Ce dernier vide sa hotte dans une benne. Une fois pleine, le tractoriste arrive au Château et pour mesurer le poids de la récolte, il passe sur un pèse-essieu.

Les bennes ne sont pas remplies au maximum de manière à éviter l'écrasement des baies et ainsi une libération prématurée du jus qui s'oxydera pendant le transport. Les bennes sont vidées sur une table de tri vibrante avec trois personnes qui enlèvent les feuilles, les pétioles mais aussi les baies de basse qualité (surmûries et pourries). Les jus de bennes sont récupérés dans un bac avec de la neige carbonique pour être incorporés au pressoir.

Ensuite, la vendange tombe dans une sauterelle qui conduit les raisins dans l'érafloir. Le foulage n'est pas souhaité. La vendange éraflée entre dans un échangeur tubulaire qui

refroidie les baies à 10°C afin de limiter l'oxydation dans le pressoir qui est due aux enzymes oxydasiques, et notamment au tyrosinase car sa réactivité baisse avec la température (5).

Les baies refroidies entrent dans un pressoir pneumatique de Bucher Vaslin de type Inertys®. Pendant le remplissage, un ajout de neige carbonique est fait pour inerte le pressoir et des enzymes pectolytiques de LAFAZYM Press de Laffort® pour dégrader la pellicule et pour augmenter le volume de jus de goutte. À ce stade-là, le sulfitage n'est pas souhaité pour éviter d'extraire des polyphénols à cause des propriétés solubilisantes de l'anhydride sulfureux.

## 1.2. LES OPÉRATIONS PRÉFERMENTAIRES

Compte tenu de la composition des raisins, la macération préfermentaire n'est pas souhaitée au Château Carbonnieux ces dernières années. C'est aussi une des raisons pour laquelle le foulage n'est pas effectué. C'est le choix du maître de chai qui veut conserver la fraîcheur et l'acidité naturelle des raisins.

Le Château Carbonnieux possède trois pressoirs de Inertys de Bucher Vaslin® de 115 hL. Ce sont des pressoirs pneumatiques, avec des ballons d'azote et de CO<sub>2</sub> afin de maintenir l'inertage pendant le pressurage. Le programme dure 140 minutes avec très peu de rebêchages et une pression entre 0 et 1,4 bar.

Au Château Carbonnieux, les œnologues sont convaincus que la plus importante étape dans la vinification en blanc (en dehors de la qualité du raisin) est le pressurage. Le moût est fractionné en deux cuves : la cuve de goutte, qui contient le jus d'égouttage et le jus de début de pressée, et la cuve de presse, qui contient le jus de fin de pressée. La séparation des jus de fin de pressée permet d'obtenir des vins plus aromatiques, plus frais et plus durable dans le temps pour la cuve de goutte. Cette séparation est effectuée par la mesure du pH. Quand le pH indique plus que 0,2 par rapport à celui de départ, le fractionnement est fait sur la cuve de presse.

### 1.2.1. CUVE DE GOUTTE

Les moûts de goutte sont sulfités à 5 g/hL et la cuve est inertée avec du gaz carbonique avant et après le remplissage. Une température de 10-12°C est recherchée avec l'utilisation d'enzymes pectolytiques pour le débouillage. Cette année, en voyant qu'après un jour de froid la cuve n'était pas bien sédimentée, nous avons décidé de laisser à froid pour deux jours afin d'effectuer une séparation suffisante. Une fois que la séparation était faite, le débouillage et l'ajustement de la turbidité ont été effectués. Une turbidité optimum est recherchée en veillant à avoir une quantité suffisante des sources lipidiques afin de privilégier les transferts entre l'intérieur de la cellule et le milieu (plus de 100 NTU) ; mais il ne faut pas avoir une turbidité au-delà de 250 NTU qui résulte une production de méthionol élevée (6).

Pour cette raison, la turbidité souhaitée était entre 150-200 NTU. L'ajustement de la turbidité se fait par soutirage de la partie limpide de la cuve et puis, avec les bourbes fines et des essais en éprouvette, nous arrivons à trouver la quantité des bourbes adéquate pour ajuster la turbidité souhaitée. Le reste des bourbes est collecté sans addition de SO<sub>2</sub> supplémentaire et filtré. Le volume obtenu est toujours réparti dans les cuves d'origine du moût quand la fermentation est lancée. Cet ajout pourrait perturber la fermentation alcoolique, notamment quand c'est après la phase exponentielle des levures. Pour cette raison, il ne faut pas les ajouter après le premier tiers de la fermentation, car on risque de se retrouver avec des fermentations languissantes ou des arrêts de fermentation alcoolique en laissant des sucres résiduels.

### 1.2.2. CUVE DE PRESSE

Les moûts de fin de pressées sont plus chargés en composés phénoliques. Au Château Carbonnieux les œnologues choisissent de volontairement s'oxyder ce jus pour éliminer une partie des composés phénoliques par polymérisation et sédimentation. Ces moûts ne sont donc pas sulfités au début mais après quatre heures, puis enzymés et refroidis à 10°C. Le lendemain, ils sont débourbés pour obtenir la clarification la plus complète. Le jus clair est collecté dans une cuve avec les autres presses de 2-3 jours et lorsqu'il y a un volume important, une turbidité de 150-180 NTU est reconstituée avec des bourbes de goutte de ce jour. Les bourbes de moûts de fin de pressée n'ont aucun intérêt et sont éliminées.

## 1.3. LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

### 1.3.1. CUVE DE GOUTTE

Au Château Carbonnieux, avant le levurage trois paramètres sont vérifiés, la température, la turbidité et l'azote assimilable. En ce qui concerne la température, il faut vérifier que la différence entre la cuve et le levain ne dépasse 10°C. La température est maintenue à environ 16°C pendant la fermentation au moyen des systèmes de thermorégulation.

Concernant l'azote assimilable, une analyse est faite au Château avec l'aide du FOSS<sup>®</sup> et donc un premier ajustement si besoin à 140 mg/L. Cet ajustement est effectuée avec 50% de produit Thiazote ph<sup>®</sup>, qui contient de l'azote minéral et de la thiamine, et 50% de produit Nutristart ORG<sup>®</sup>, qui contient de l'azote organique. Ce choix est basé sur le fait que nous voulons assurer un niveau suffisant en ce qui concerne l'azote assimilable, afin de permettre une croissance optimale des levures et d'avoir une quantité importante de thiamine, qui participe à plusieurs enzymes. Le même jour, avant l'ajout des nutriments et des levures un échantillon est envoyé au laboratoire afin de vérifier le niveau d'azote assimilable et pour

savoir s'il faut remettre une dose. Pendant la phase exponentielle de la fermentation, l'azote assimilable est ajusté à 200 mg/L avec un ajout d'azote minéral. Cet ajout est fait afin de favoriser les perméases, qui sont transporteurs des sucres, et donc pour avoir une fermentation complète et non languissante.

Le levurage est fait avec un levain des levures sèches actives en fonction de protocole fourni par le fabricant. La dose était de 15 g/hL. Pour le sauvignon blanc nous avons utilisé la souche X5 de Laffort® et une souche Selectys thiol d'Oenofrance®. Pour le sémillon nous avons utilisé les souches CX9 et le VL3 de Laffort®. Le levain est ensuite ajouté par le haut de la cuve avec de la carboglace afin de bien homogénéiser la cuve et de protéger le moût. Le suivi de fermentation alcoolique est réalisé chaque jour grâce à une mesure de la masse volumique et de la température, et en fin de la fermentation alcoolique des échantillons sont envoyés au laboratoire pour vérifier qu'il ne reste pas de sucres fermentescibles.

D'autre part, un paramètre très important pour le bon déroulement de la fermentation alcoolique est l'oxygène. Après le début de la fermentation, une aération en bac ouvert est faite calculé sur un volume partiel de la cuve (1/3 ou 1/2 aux cuves très réduites, ou 1/4 aux cuves qui démarrent légèrement) ; afin d'introduire de l'oxygène dans la cuve pour permettre aux levures de créer des stérols qui vont favoriser l'achèvement de la fermentation alcoolique sans laisser de sucres résiduels, et bien sûr aussi pour éliminer les odeurs de réduction. Après chaque jour et ceci jusqu'à l'entonnage, le maître de chai surveille l'apparition de réduction ; en cas d'apparition détectée, une aération partielle est effectuée. Il sent les cuves et en fonction de densité de réduction qu'il détecte, une aération est faite.

Concernant les contenants de bois, Château Carbonnieux possède des barriques de chêne français de 225 litres, de demi-muid de 400 L, des foudres de 33 hL et des cuves tronconiques de bois de 52 hL. Le contenant de fermentation de chaque lot est décidé en fonction de trois critères : la préparation de contenants, la dégustation et les analyses chimiques des moûts. La préparation des cuves de bois et des foudres pour l'entonnage nécessite une préparation spécifique plus longue que celle des barriques et demi-muids, mais les critères les plus importants sont la dégustation en rapport avec les analyses chimiques. Pour le maître de chai, l'acidité est le meilleur critère quant à l'estimation de la qualité de chaque lot pour le sauvignon blanc et le sémillon. Souvent au Château Carbonnieux, les lots acides sont les plus qualitatifs.

L'élevage en bois pour le vin blanc est très positif, mais tous les vins ne sont pas aptes à cette vinification. Il y a des lots qui ne le supportent pas car les arômes de bois et notamment l'oxygénation trop importante altèrent leur aptitude au vieillissement. Ces lots viennent des

parcelles de qualité inférieure avec une maturité plus prolongée ou un état sanitaire inférieur et donc un élevage dans les barriques pourraient les abîmer plus que les améliorer. Dans ce cas, un élevage dans les foudres et les cuves de bois est préconisé car il y a moins d'oxygénation dans les grands contenants et moins d'impact sur les arômes boisés.

D'un autre côté, nous avons fait le choix d'entonner des parcelles très acides en cuve de bois pour garder cette fraîcheur et un caractère thiolé élevé.

Deux jours avant l'entonnage, les barriques sont mises en eau afin de permettre au bois de gonfler, d'enlever les tanins trop marquants des barriques neuves mais aussi d'enlever les résidus du méchage pour les barriques usagées et, par conséquent, les sulfates qui peuvent introduire des odeurs de réduction en milieu réducteur.

L'entonnage des lots dans le bois est réalisé après le premier tiers de la fermentation alcoolique et les deux ajustements d'azote assimilable. Avant l'entonnage, une aération de petit volume est réalisée juste pour homogénéiser la cuve et parfois avec un ajout de carboglace permettant de mieux l'homogénéiser. Ensuite, le lot est pompé dans les barriques en laissant toujours cinq cm pour éviter le débordement pendant la fermentation alcoolique.

Lorsque la masse volumique atteint 1.000, le creux des barriques est en grande partie rempli avec des lots de plus faible masse volumique. Dès l'achèvement de la fermentation alcoolique, le plein est fait.

### 1.3.2. CUVE DE PRESSE

Les moûts de fin de pressée fermentent en cuve inox de 150 à 200 hL. Il est donc évident qu'une réduction plus importante apparaît dans les cuves. Pour cette raison, une réalisation plus importante des aérations est faite, par exemple en réalisant des aérations calculées sur le demi-volume de la cuve, et si après les 2/3 de la fermentation alcoolique, la réduction apparaît un ajout de 10 mg/L de l'azote minéral est effectué.

À la fin de la fermentation alcoolique, le plein de la cuve est fait. Afin d'éviter une réduction prématurée, le vin est sulfité à 5 g/hL après un essai de sulfitage, validé par la dégustation, lors d'un soutirage sans air ; à cette occasion, les lies les plus lourdes sont éliminées. Le SO<sub>2</sub> libre est vérifié chaque mois et éventuellement ajusté au niveau de 30 mg/L.

## 1.4. LES OPÉRATIONS POST-FERMENTAIRES

En ce qui concerne les vins provenant de cuve de goutte ; quelques jours (7-10 jours) après la fin de fermentation alcoolique, un essai de sulfitage est fait dans une vieille barrique ou pour les foudres et les cuves de bois dans un magnum avec un sulfitage à 5 g/hL. Cet essai est basé sur l'activité de l'enzyme sulfite réductase, qui produit les odeurs de réduction même

après la fermentation alcoolique. Deux jours plus tard, les barriques ou les magnums sont dégustés et si aucune odeur de réduction n'est pas perçue, les vins sont sulfités.

Après le sulfitage, les lies sont remises en suspension tous les 8 jours pendant un mois et tous les 15 jours jusqu'en décembre, puis une fois par mois, car le vin devient de plus en plus sensible à l'oxydation du fait que les lies perdent leur capacité réductrice.

Les analyses sont répétées chaque mois pour le SO<sub>2</sub> libre, qui est toujours ajusté à 30 mg/L afin d'assurer une protection suffisante contre l'oxydation.

Concernant l'élevage dans les cuves de bois de 52 hL, une réduction prématurée peut s'y arriver à la présence des lies totales. Pour éviter cette réduction, le maître de chai a choisi de mettre les grosses lies à part cette année, dans une cuve inox de 30 hL, et de continuer l'élevage sur lies fines.

## 2. LES VINIFICATIONS DE VINS ROUGES

La clé pour la vinification en rouge pour le Château Carbonnieux est de préserver le fruit du raisin, la rondeur du vin et d'avoir des composés phénoliques de qualité, et non de quantité.

### 2.1. LA RÉCEPTION DE LA VENDANGE ET L'ORGANISATION DU CHAI

Les vendanges de merlot ont débuté le 10 septembre. La chaîne de réception est la même que pour les blancs, mais le raisin est foulé afin de permettre une extraction plus efficace tout en ayant des vins de presse le moins sucrés possible. À l'encuvage, le foulage est vérifié pour être sûr que les baies sont totalement ouvertes et des pépins entiers. Par la suite, à l'aide d'une pompe, la vendange est envoyée dans la cuve par le haut avec un sulfitage de 5 g/hL calculé sur le volume de la vendange, qui est effectué par goutte à goutte.

### 2.2. LES OPÉRATIONS PRÉFERMENTAIRES

Les cuves sont remplies à 80% et une fois que le remplissage est fini, une homogénéisation avec un remontage d'une demi-volume à l'abri de l'air est effectuée. Un échantillon est ensuite prélevé pour l'analyser au laboratoire (sucres, TAVp, azote assimilable, pH, acidité totale).

Dans le cas, où une cuve est remplie à moins de 80%, l'homogénéisation n'est pas faite et la cuve est refroidie à 10°C. Mais un levain est ajouté calculé sur le volume finale de la cuve, afin d'éviter un départ de fermentation alcoolique avec une souche inconnue. Le lendemain, la cuve sera remplie et l'homogénéisation sera réalisée.

### 2.3. LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Après l'homogénéisation, un levain de 15 g/hL des levures sèches actives est ajouté par le haut de la cuve. Pour le merlot, la souche F15 était utilisée avec des résultats pas très

positifs dans le cas d'un TAV élevé ; la souche Xpure, également utilisée, est plus adaptée aux TAV élevés. Pour le cabernet-sauvignon, le cabernet franc et le petit verdot, nous utilisons les souches FX10 et Xpure et les résultats sont satisfaisants.

Une fois que les résultats d'analyses du moût sont disponibles, l'ajustement de l'azote assimilable est fait selon le même protocole que celui de la vinification en blanc et toujours avec un remontage pour bien homogénéiser.

Château Carbonnieux possède des cuves thermorégulées ; la température de fermentation est fixée à 25°C et la température du chapeau est régulièrement contrôlée car elle ne doit pas dépasser 30°C sous peine d'arrêt de fermentation ou d'une production d'acidité volatile plus élevée.

Concernant l'extraction, la plus importante variable dans la vinification en rouge, le Château Carbonnieux souhaite ne pas trop extraire. Pour cette raison, après le remontage de l'homogénéisation, le protocole est le suivant :

- premier tiers de FA (Jusqu'à 1060): Deux remontages par jour du volume de 1/3 de la cuve sur le chapeau
- deuxième tiers de FA (1060-1020): Deux remontages par jour du volume de 1/6 de la cuve sur le chapeau
- troisième tiers de FA (1020-1000) : Deux remontages par jour du volume de 1/12 de la cuve dont la plupart envoyée dans le chapeau.

Ce protocole est modifié si besoin en fonction du caractère du millésime et de la cuve afin de réaliser une extraction optimale.

Après une baisse de la masse volumique de 10-20 points presque tous les remontages sont faits avec une aération en bac ouvert. Une variation des méthodes d'extraction est utilisée au Carbonnieux, avec de matériel différent. Le tourniquet est utilisé pour une extraction assez douce, le jet pour envoyer du jus avec plus de force, ce qui permet une extraction plus précise mais aussi, à mi-FA le R-pulse<sup>®</sup>, qui détruit le chapeau en introduisant de l'air comprimé dans le jus sous le chapeau et ainsi permet une extraction assez importante avec une bonne dose de l'oxygène dans les cuves pouvant le supporter.

Ceci est le protocole général. Néanmoins, dans la vinification il existe certains cas et certains lots qu'il faut traiter autrement. Le seul moyen de maîtriser l'extraction était le verre des œnologues. Pour cette raison, après 1020 de masse volumique, les dégustations sont faites pour déterminer les remontages et la fermeture des cuves en fonction de la présence et de la qualité de tannins. Par exemple, cette année nous avons une cuve de petit verdot dans

laquelle on a suivi le protocole, mais nous avons fermé la cuve à 1005 de masse volumique, car nous étions satisfaits de la quantité et de la qualité des tannins.

## 2.4. LES OPÉRATIONS POST-FERMENTAIRES

### 2.4.1. MACÉRATION POST-FERMENTAIRE À CHAUD

Dès que la fermentation alcoolique est terminée (moins de 0,2 g/L de Glucose + Fructose ; limite considérablement le risque de production des éthyle-phénols par *Brettanomyces bruxellensis*), la température de la cuve est augmentée à 30°C pour lancer une macération post-fermentaire à chaud. L'objectif de cette macération est d'extraire et d'augmenter la concentration des composés à saveur sucrée (protéines, composés phénoliques), et offre au vin de la rondeur (7–9) qui va équilibrer les tannins. Durant cette macération, aucun mouillage n'est fait afin de ne pas extraire des tannins très astringents et de conserver la rondeur. Pendant cette période, les cuves sont inertées pour bien les protéger des altérations. La durée de macération dépend des dégustations qui sont effectuées deux fois par semaine par les œnologues et de l'œnologue conseil afin de déterminer l'ordre des décuvages. Ces dégustations se déroulent au laboratoire sur des échantillons refroidis et déposés. Cette année, la durée de la macération est comprise entre 14 et 20 jours.

### 2.4.2. PREMIER ASSEMBLAGE

Suite à ces dégustations, un premier assemblage de deux lots à l'écoulage est souvent fait pour constituer des cuves pleines.

### 2.4.3. ÉCOULAGE

L'écoulage se fait dans un bac équipé d'un tamis pour éviter que des parties solides ne passent dans la cuve. Au Château Carbonnieux, l'écoulage est fait sans dégagement de CO<sub>2</sub> afin d'avoir un vin bien chargé en CO<sub>2</sub> et donc mieux protégé contre l'oxydation. Ensuite, quand le vin ne s'écoule plus, un coude est branché sur la vanne en bas de la cuve, pour la laisser s'égoutter toute la nuit. Ce vin est récupéré le lendemain matin et assemblé à la cuve d'écoulage.

### 2.4.4. DÉCUVAGE

Le décuvage au Château Carbonnieux est effectué manuellement. Avant d'entrer dans la cuve, un ventilateur est placé dans la partie supérieure de la cuve pour permettre à la personne à l'intérieur d'avoir de l'oxygène. Ce travail ne se fait jamais seul. Le marc n'est pas pompé, mais collecté dans les bacs qui sont ensuite vidés par gravité dans le pressoir. Le fond de la cuve, qui se compose des grosses lies et des pépins, n'a aucun intérêt pour les œnologues et il n'est donc pas collecté.

#### 2.4.5. PRESSURAGE

Une fois le pressoir plein, le programme est lancé (75 minutes jusqu' à 1,8 bar sans rebêchage). Les presses sont collectées depuis le pressoir dans des barriques. Une fois entonnées, la masse volumique de chaque barrique est mesurée à l'aide d'un mustimètre. La diminution de l'extraction à la vinification en rouge de vin de goutte s'accompagne souvent d'une nette amélioration de la qualité des vins de presse mais aussi parfois de la présence des sucres résiduels dans ceux-ci. Dans le cas d'une masse volumique supérieure à 1000, un sulfitage de 2 g/hL est réalisé afin d'arrêter la croissance des bactéries lactiques et de laisser les levures finir la fermentation alcoolique.

Les barriques sont ensuite dégustées une par une, puis les presses sont triées et regroupées au soutirage par qualité. Les presses A sont les plus qualitatives, avec des notes de fruit et des tanins qualitatifs. Les presses B peuvent présenter de l'amertume ou une astringence prolongée avec des notes végétales. Les presses C sont souvent astringentes au début et amères à la fin, avec des notes végétales.

#### 2.4.6. FERMENTATION MALOLACTIQUE

Après l'écoulage, la température du vin est régulée à 20°C en attendant la croissance des bactéries lactiques indigènes et le début de la fermentation malolactique. Souvent, la première cuve estensemencée avec des bactéries lactiques commercialisées et une fois la fermentation terminée, les liés sont utilisées pour ensemenecer d'autres cuves. Le prélèvement des échantillons, pour doser l'acide malique au FOSS<sup>®</sup>, est fait toutes les semaines afin de contrôler l'avancement des fermentations. Dès que la fermentation semble terminée, un échantillon est prélevé et envoyé au laboratoire pour confirmer le résultat avec une analyse enzymatique. Une fois confirmé, les vins sont soutirés à l'abri d'air et sulfités à 5 g/hL, dans la cuve de réception.

#### 2.4.7. ENTONNAGE

Le vin sera élevé pendant 12 mois au moins en barriques. La répartition de l'âge des barriques est la suivante : 1/3 neuves, 1/3 un an et 1/3 deux ans afin de maîtriser l'expression boisée dans les vins en fin d'élevage. Après le soutirage des vins du millésime 2022, les barriques ont été lavées et méchées avant d'être réutilisées. Après l'entonnage ou le soutirage, le niveau de SO<sub>2</sub> libre est toujours vérifié et ajusté à 35-40 mg/L afin de bien protéger le vin contre *Brettanomyces bruxellensis* et l'oxydation.

### 3. LA VINIFICATION DES VINS LIQOREUX

Cette année au Château Carbonnieux, nous avons réalisé un essai de vinification de raisins de sémillon botrytisés. Le climat de fin de saison était favorable au développement du

champignon. La vendange a été faite par les employés du Château pilotés par le chef de la culture, qui a beaucoup d'expérience dans les vendanges au Sauternes ; la consigne était de ne récolter que des raisins avec du *Botrytis cinerea* en éliminant scrupuleusement les raisins atteints de pourriture acide. Ensuite, avec une benne basculante, les grappes ont été placées dans le pressoir à l'aide d'une sauterelle. À la sortie des pressoirs, un sulfitage était fait à 4 g/hL. Afin d'éviter une production excessive d'acidité volatile en début de la fermentation, nous avons fait une préculture sur 5% du volume total. Nous l'avons diluée pour diminuer le TAVp à 12% en ajustant l'azote assimilable à 200 mg/L. Le levurage de cette préculture était fait à 10 g/hL (calculé sur le volume total à fermenter) avec un levain de *Saccharomyces cerevisiae* de la souche ST sélectionnée pour son bon comportement aux conditions hyperosmotiques. Deux jours après, le moût était grossièrement débourbé ; puis entonné dans deux barriques. À ce point-là, la préculture était ajoutée dans les deux barriques. L'azote assimilable de chaque barrique a été ajusté une première fois avec la moitié de la quantité d'azote nécessaire pour porter à une teneur de 200 mg/L et l'autre moitié deux jours après l'ensemencement.

Le suivi de la fermentation a été fait avec un mustimètre, ainsi que des analyses sur l'OENOFOSSE®, et quand le TAV était arrivé à 13% nous avons effectué un mutage déterminé par une analyse de TL35, qui est une analyse qui estime le taux de combinaison de SO<sub>2</sub> en trouvant la dose théorique pour atteindre une valeur de 35 mg/L de SO<sub>2</sub> libre.

Les résultats du vin obtenu sont : TAV 13,4 % v/v, avec 108,4 g/L des sucres résiduels et une acidité volatile de 1,04 g acide acétique/L.

## 4. ANALYSE CRITIQUE

### 4.1. LES VINIFICATIONS DES VINS BLANCS

Le Château Carbonnieux est très réputé pour ses vins blancs. Leur vinification est très sélective et très organisée par le maître de chai. Évidemment, la qualité des raisins est le paramètre le plus important dans la vinification mais, à mon avis, afin d'obtenir le vin le plus qualitatif possible, il faut perfectionner son processus de vinification. Dans cet esprit, j'ai trouvé quelques points que je souhaite analyser.

Bien que l'état sanitaire était bon cette année, j'ai pu constater la difficulté du tri manuel au chai. Il me semble que le personnel n'est pas assez bien formé, en particulier concernant l'élimination des grappes atteints de la pourriture grise et aigre. Les consignes devraient être affinées et leur application contrôlée.

En ce qui concerne la séparation des jus de goutte et de fin de pressée, notamment pour le sauvignon blanc, il faut prendre en compte l'oxydabilité de chaque parcelle. Il y avait

des lots dont les jus étaient peu colorés et très qualitatifs malgré une augmentation de 0,2 du pH, alors que d'autres présentaient déjà une couleur et un arôme altéré pour la même augmentation. Je crois que le pressoir devrait être suivi par l'aspect visuel du jus et la dégustation aussi, en ayant toujours comme objectif d'extraire la meilleure partie du raisin (quantitatif et qualitatif).

Enfin, il a déjà été démontré que l'élevage sur lies fines n'est pas le même que sur les lies totales. Il y a une diminution de la teneur en glutathion, des thiols variétaux (10) et des mannoprotéines (11) ; je crois donc que le soutirage qui a été fait pour séparer les grosses lies dans les cuves de bois afin d'éviter la réduction prématurée est à revoir. Il faut trouver une autre solution à ce problème. Une solution, qui semble certes un peu difficile lorsque l'on tient compte du volume de vin produit au Château Carbonnieux, est d'entonner les grosses lies dans des barriques et de les bâtonner quotidiennement pendant un mois et après de les réincorporer. Une autre solution, qui me semble logique mais qui n'est pas testée, est d'effectuer une macro-oxygénation dans les cuves de bois avec des cannes de remontage en ajoutant de petites quantités de l'oxygène par jour au niveau des lies avec une fréquence de bâtonnage plus élevée.

## 4.2. LES VINIFICATIONS DES VINS ROUGES

La vinification rouge au Château Carbonnieux a été une surprise pour moi. J'ai trouvé que la vinification avait un objectif précis et que toute la procédure était basée sur celui-ci. La maîtrise d'une extraction la plus délicate possible est le paramètre le plus important au Château Carbonnieux. Pour y parvenir, je trouve que l'utilisation des différents matériels était très intéressante. De plus, la dégustation quotidiennement proche de la fin de la fermentation alcoolique pour déterminer les modalités de remontage me servira d'outil pour toute ma vie professionnelle. En effet, j'ai bien compris que l'évolution en cuvaison est rapide et que le risque majeur est souvent l'excès d'extraction.

Concernant la manipulation de vins de presse, j'estime qu'un sulfitage de 2 g/hL pourrait être évité en utilisant du lysozyme, qui fonctionne totalement différent que le sulfitage, pour les barriques de presse (de masse volumique supérieure que 1000) car le Château Carbonnieux n'utilise pas des bactéries lactiques commercialisés et ce sulfitage pourrait arrêter totalement la croissance des bactéries lactiques indigènes.

Enfin, je crois que pour la fermentation malolactique un ensemencement plus important sur plus de cuves serait souhaitable. En utilisant différentes souches, une complexité supplémentaire pourrait être obtenue dans les vins avant assemblage.

## PARTIE 3 : L'EXPÉRIMENTATION

---

### 1. PRÉSENTATION DU SUJET

Compte tenu de la production de vin blanc au Château Carbonnieux, le volume de moût de fin de pressée n'est pas négligeable. Ces moûts sont toujours plus riches en composés phénoliques et moins acides à cause de l'extraction importante du contenu pelliculaire. La recherche de la meilleure valorisation de ces moûts est importante.

Au Château Carbonnieux, un protocole spécifique est déjà mis en place pour le traitement de ces moûts. Leur technique est basée sur l'élimination des composés phénoliques avec une oxydation importante qui provoque la polymérisation et la condensation des composés phénoliques, et pour l'acidité un ajout de l'acide tartrique. Ce traitement pour l'élimination des composés phénoliques (paragraphe 1.2.2.) nécessite la présence tardive de personnel (plus de 23h00). Pour la correction de l'acidité totale des vins de fin de pressée la dose maximale d'addition autorisée (1,5 g/l sur moût) peut être insuffisante lors des millésimes chauds.

Ce mémoire est une étude sur la valorisation des jus de fin de pressée de sauvignon blanc en fonction de la quantité de composés phénoliques et leur acidité. D'une part pour les composés phénoliques, le prestataire Michael Paetzold nous a proposé un traitement oxydatif automatisé permettant l'élimination ciblée des composés phénoliques. D'autre part, des levures acidifiantes sont testées : avec la souche KLIMA de *Saccharomyces cerevisiae* et la souche OMEGA de *Lachancea thermotolerans* de la société Laffort®. La souche KLIMA peut produire de l'acide malique ou le conserver pendant la fermentation alcoolique et la souche OMEGA forme de l'acide lactique par une fermentation glucolactique.

### 2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

#### 2.1. LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

Les composés phénoliques sont des produits du métabolisme secondaire des vignes et ils sont tous des composés d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant un ou plusieurs groupements hydroxylés. Ils disposent de plusieurs propriétés physico-chimiques (12). Les polyphénols issus des baies de raisin se regroupent sur les deux catégories suivantes : les composés flavonoïdes et les composés non-flavonoïdes. Les acides phénols font partie de composés non-flavonoïdes et ils sont les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique. Dans cette catégorie, il y a également les stilbènes, dont le *trans*-resvératrol est le plus abondant dans le raisin.

En plus, les composés flavonoïdes sont formés d'un squelette de base à 15 carbones (C6-C3-C6), qui correspond à la structure de la 2-phényl-benzopyrone. Ce groupe comprend principalement trois familles de composés : les flavonols, les anthocyanes et les flavan-3-ols. La famille des flavonols contient le kaempferol et la quercétine qui se trouvent dans les baies de raisin blanc sous forme glycosylée. Dans la catégorie des flavanols (ou flavan-3-ols) se trouve à l'état de monomère, la catéchine, l'épicatéchine, l'épicatéchine-3-gallate et l'épigallocatechine (13).

## 2.2. L'OXYDATION ENZYMATIQUE DU MOÛT

Les polyphénols sont les principaux substrats d'oxydation du moût. L'oxydation enzymatique a lieu dans les moûts, au contact des enzymes oxydasiques, principalement présentes dans la pellicule des baies et libérées lorsque l'intégrité de la baie est rompue. Les principales enzymes responsables de l'oxydation des moûts sont les polyphénoloxydases, à savoir la catéchol oxydase aussi appelée tyrosinase et la laccase. Ces enzymes possèdent deux types d'activités, l'activité crésolase, par laquelle un mono-phénol est converti en catéchol par l'incorporation d'oxygène, et l'activité catécholase, par laquelle le catéchol est oxydé en mélanine, un pigment brun. L'enzyme tyrosinase est naturellement produite dans les baies de raisin tandis que la laccase est produite par *Botrytis cinerea* (12).

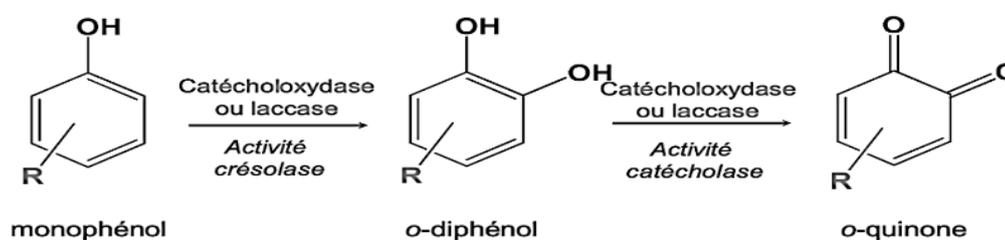


Figure 3 : Activité des polyphénoloxydases (14)

Les premiers composés à réagir avec l'oxygène sont les acides cinnamiques (C6-C3) et notamment ceux estérifiés avec l'acide tartrique (acide caftarique et coutarique), présents en grande quantité dans les vacuoles de la pulpe de raisin (15). L'acide caftarique est le substrat privilégié de l'enzyme polyphénol oxydase ou PPO. Lors de leur libération par écrasement des baies, ces acides sont rapidement transformés en quinones (12). Ces réactions d'oxydation sont extrêmement rapides. La vitesse de consommation d'oxygène dans un moût au début de son contact avec l'oxygène, peut dépasser 2 mg/L par minute. Certains polyphénols du moût sont des substrats secondaires de la PPO, tels que la quercétine-3-O-glucoside, des procyanidines B1 à B4 et probablement tous les autres polymères de flavan-3-ols. En revanche, la (+)-catéchine, la (-)-épicatéchine, la (-)-épicatéchine gallate et l'acide caféique

sont des substrats avec une affinité relativement importante pour la PPO du raisin (16). Une fois que la quinone est formée, il existe trois voies de réactions possibles pour ces quinones, comme présentées dans la figure 4 :

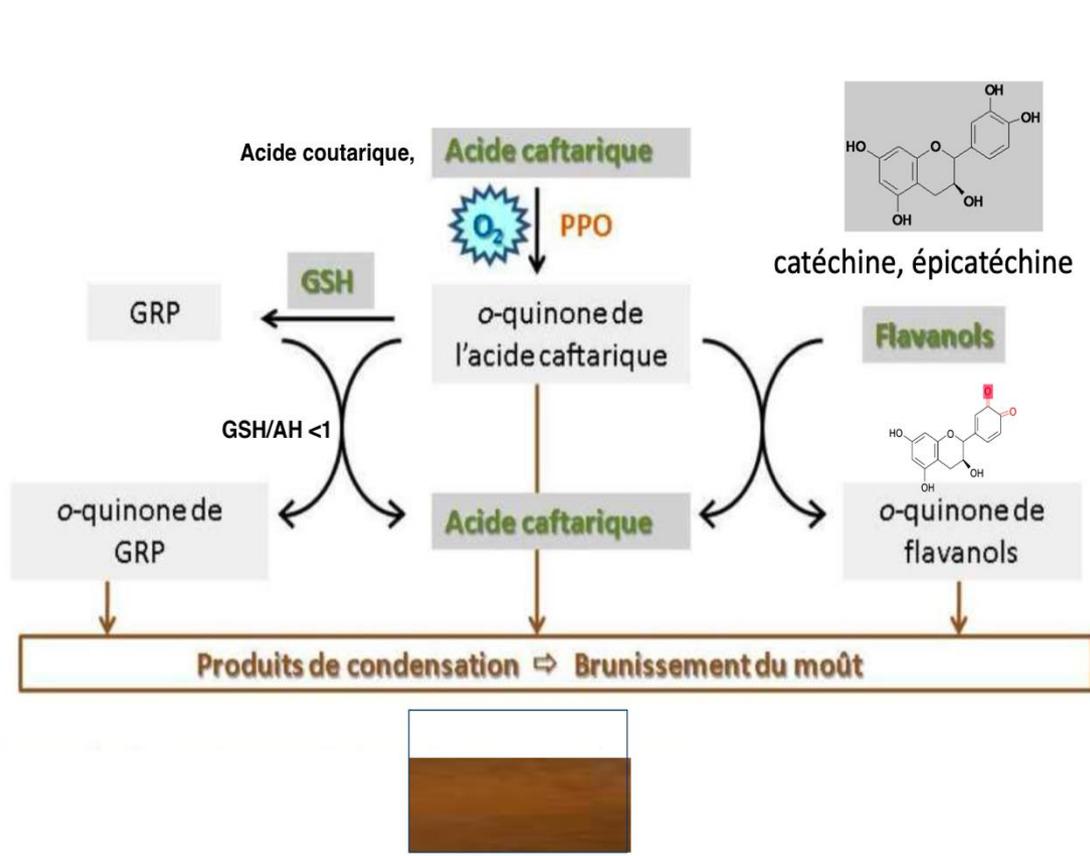


Figure 4 : Mécanismes de l'oxydation enzymatique dans le moût (17)

- En présence d'acide ascorbique (ajouté ou naturellement présent) et d'anhydride sulfureux, les quinones formées peuvent à nouveau être réduites en acide caftarique en tant qu'oxydantes (18).
- La quinone de l'acide caftarique est très réactive. Elle a la capacité d'oxyder les autres composants du moût, comme les catéchines et les proanthocyanidines (19,20). Des réactions de polymérisation et de condensation peuvent avoir lieu aussi entre les quinones et plusieurs composés phénoliques en produisant de pigments bruns (21).
- La quinone de l'acide caftarique et coutarique peut réagir avec du glutathion sous forme réduite pour former un produit incolore, l'acide S-glutathionyl-caftarique, aussi nommé Grape Reaction Product (GRP) (20). Ce produit formé n'est alors plus disponible en tant que substrat pour une nouvelle oxydation par la PPO. La formation de pigments bruns par réaction des quinones avec le GRP peut avoir lieu lorsque la quantité d'acides hydroxycinnamiques est supérieure à celle du glutathion réduit.

### 2.3. L'HYPEROXYGÉNATION

D'après Cheynier et al., 1991 (19) la quantité de l'oxygène ajoutée au moût est corrélée avec la concentration des composés les plus facilement oxydables comme l'acide caftarique.

Prefermentation treatment	Concentration of phenolic compounds ( $\mu\text{M}$ )		
	Caffeoyl tartaric acid	GRP <sup>1)</sup>	p-Coumaroyl tartaric acid
Control	96.5	21.5	24.5
3.75 mg/l O <sub>2</sub>	91.5	20.4	19.2
7.5 mg/l O <sub>2</sub>	67.2	14.1	10.4
15 mg/l O <sub>2</sub>	19.1	4.0	7.2

Figure 5 : Concentration des composés phénoliques en fonction des différentes ajouts d'oxygène (19)

L'hyperoxygénation est une technique préfermentaire caractérisée par un apport externe d'oxygène jusqu'à saturation à un moût non sulfité (22). Le but est de favoriser l'oxydation enzymatique de composés phénoliques, sensibles à l'action de l'oxygène, permettant ainsi leur transformation en polymères oxydés de haut poids moléculaire, avec une couleur brune.

La polymérisation induite par voie enzymatique dans les moûts produit des pigments bruns qui sont précipités dans le milieu du moût et donc facilement éliminables. Une clarification forte est conseillée avec un soutirage en éliminant les bourbes brunes.

Si le jus n'est pas clarifié correctement, les polymères oxydés peuvent être réduits en éliminant l'effet de l'oxydation avec du dioxyde de soufre ou de l'acide ascorbique (18) ou pendant la fermentation dans un milieu réducteur.

D'autre part, si les composés phénoliques ne sont pas éliminés dans le moût, ils seront oxydés dans le vin et ils peuvent provoquer une altération de la saveur et de la couleur au cours du vieillissement (22). La technique d'hyperoxygénation peut produire dans certains cas des vins blancs plus stables en termes de paramètres sensoriels et plus résistants au brunissement que ceux produits par la technologie conventionnelle (23–25).

### 2.4. L'ACIDITÉ DU VIN

Trois indicateurs peuvent être utilisés pour mesurer l'acidité du vin : l'acidité réelle (pH), l'acidité totale et l'acidité volatile. L'acidité du raisin est principalement due à trois acides qui sont l'acide tartrique, l'acide malique et l'acide citrique. L'acide acétique est le principal acide qui participe à l'acidité volatile et souvent, c'est un indicateur d'une déviation pendant les fermentations ou l'élevage. L'acide lactique est absent du moût de raisin et il peut être produit par la fermentation malolactique. La fermentation malolactique est empêchée pour la plupart des vins blancs, mais dans le cas des vins rouges, c'est une phase de finition.

## 2.5. *Lachancea thermotolerans*

*Lachancea thermotolerans*, anciennement *Kluyveromyces thermotolerans*, est une levure non-*Saccharomyces* connue pour sa capacité à acidifier naturellement les vins où elle fermente. Elle participe aux fermentations spontanées puisque nous la retrouvons naturellement dans le vignoble et dans les moûts (26). *Lachancea thermotolerans* se caractérise particulièrement par la présence de trois gènes codants pour différentes lactates déshydrogénases, LDH. L'expression importante de ces enzymes est liée à un manque d'expression des alcools déshydrogénases ADH, qui sont généralement plus abondantes chez le *Saccharomyces cerevisiae*. Cela explique le fait que *L. thermotolerans* mène une fermentation glucolactique où le glucose est transformé, à la suite de la glycolyse et à la réduction du pyruvate, en acide lactique en présence des LDH (27).

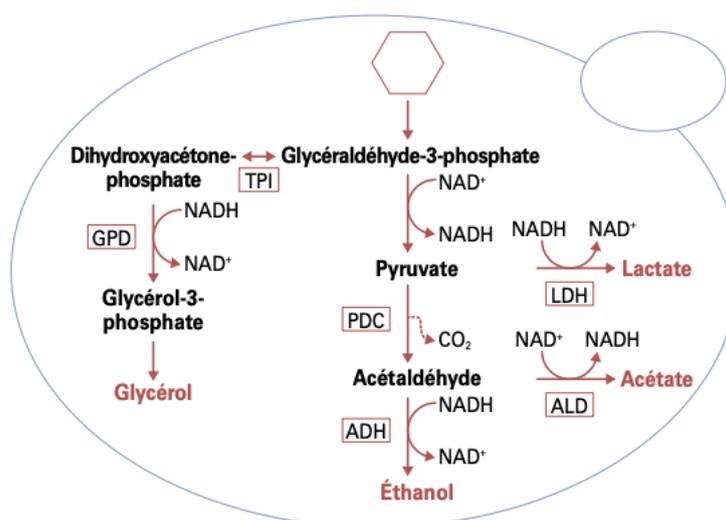


Figure 6 : Métabolisme central de *Lachancea thermotolerans* (28)

Avec une grande variabilité entre les souches, les quantités d'acide lactique produites peuvent atteindre une dizaine de gramme par litre, voire jusqu'à 16,8 g/L en fermentation seule sur moût stérile (28–30). À savoir que l'une des limites de l'utilisation de *Lachancea thermotolerans* est que ces souches de levure sont incapables de fermenter plus de 4.24% à 10.6% (v/v) d'alcool (31). Pour cette raison une inoculation d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae* est fortement conseillée afin de finir la fermentation alcoolique sans laisser des sucres fermentescibles.

Pour obtenir une forte production d'acide lactique, la souche de *Lachancea thermotolerans* doit avoir le temps d'atteindre sa population maximale en évitant tout facteur limitant. Les facteurs favorisant la croissance de *Lachancea thermotolerans* sont les suivants : la disponibilité de l'azote (32), la proportion de la population de *Lachancea thermotolerans* par rapport à celle de *Saccharomyces cerevisiae* en co-inoculation (33,34) et une température

supérieure à 16°C. La production d'acide lactique est seulement active sur les cinq premiers jours de fermentation alcoolique pendant la phase de croissance (35,36) à cause de la forte favorisation de la souche de *Saccharomyces cerevisiae* notamment avec l'apparition d'alcool pendant la fermentation.

## 2.6. SOUCHES ACIDIFIANTES DE *Saccharomyces cerevisiae*

Aujourd'hui, il existe des souches capables de préserver l'acidité des vins grâce à une production d'acide malique allant jusqu'à +3 g/L dans certaines conditions. Afin de comprendre ces souches il faut expliquer le paramètre MAC. MAC est le pourcentage de l'acide malique consommé par la levure de *Saccharomyces cerevisiae* pendant la fermentation alcoolique. Donc, les levures acidifiantes possèdent un MAC négatif comme -50% (37).

Le rendement œnologique est légèrement plus fort chez les souches acidifiantes. Ces dernières ont besoin en moyenne de 0,5 g de sucres fermentescibles supplémentaires pour produire 1° d'éthanol, quelle que soit la composition de la matrice de départ. En outre, le temps requis pour atteindre 80 % de la réaction (T80) est plus long chez les souches acidifiantes mais ce retard est liée aux conditions fermentaires induites par l'abaissement du pH de la matrice fermentée qui est bien démontrée (38,39).

De plus, la composition de jus est aussi liée aux capacités fermentaires des souches acidifiantes et surtout concernant la capacité de produire de l'acide malique. Docteur Vion Charlotte a bien démontré que les souches acidifiantes sont plus efficaces dans un milieu avec une concentration de l'acide malique assez bas et une concentration des sucres fermentescibles élevée, ce qui fait que ces souches ont une bonne réponse sur le changement climatique avec l'augmentation des températures (40).

## 2.7. MÉTABOLISME DES SOUCHES ACIDIFIANTES

Aujourd'hui les mécanismes des métabolismes des levures acidifiantes de *Saccharomyces cerevisiae* sont encore mal connus, mais Docteur Vion Charlotte a déjà commencé à les expliquer suffisamment. Tout d'abord il faut expliquer que l'acide malique est consommé et produit aussi bien par des souches acidifiantes et des démaliquantes. Pendant la fermentation alcoolique, l'acide malique est toujours un peu consommé et dispatché dans diverses voies métaboliques, et mène à la production de nombreux composés organiques. Bien évidemment, dans les cas des souches démaliquantes cette consommation est plus dense ; en revanche, dans celui des souches acidifiantes/maliquantes cette consommation est presque nulle après le premier tiers de la fermentation alcoolique (Figure 7).

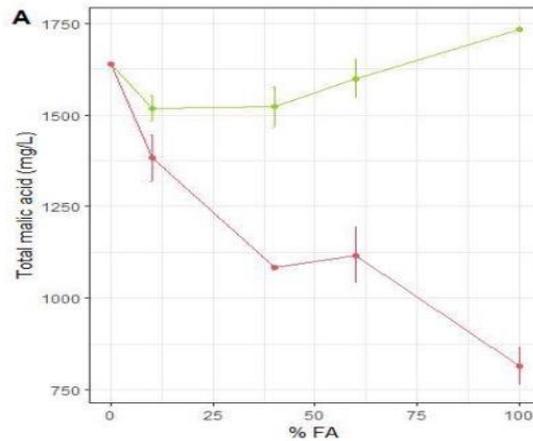


Figure 7 : Suivi de l'acide malique pendant la fermentation alcoolique dans les souches acidifiantes (courbe verte) et les souches démaliquantes (courbe rouge) (40)

Les souches acidifiantes et démaliquantes produisent de l'acide malique par le glucose, mais dans le cas des souches démaliquantes cette production est très petite voire nulle en comparaison avec la consommation d'acide malique. La production de l'acide malique provenant du glucose est conduite dans le cytosol et peut avoir deux voies principales. Tout d'abord, la condensation d'oxaloacétate avec l'acétyl-CoA fournit du citrate et de l'isocitrate. L'isocitrate est ensuite impliqué dans la dérivation du glyoxylate produisant du succinate et du glyoxylate. Ensuite, la malate synthase Mls1p condense le glyoxylate et l'acétyl-CoA pour produire de l'acide malique (voie bleue dans la figure 8). Par contre, pour les souches acidifiantes, le succinate est produit jusqu'à 60% de la fermentation, alors que le malate est produit pendant toute la fermentation alcoolique, avec une forte augmentation après 60%. Il est donc évident que la biosynthèse du malate n'est plus couplée à la voie du glyoxylate, sinon le succinate devrait également être produit. La voie alternative de production du malate est la conversion du pyruvate en oxaloacétate, qui est directement converti en malate par l'activité de la malate déshydrogénase Mdh2p (voie rouge)(40). Cette enzyme a été décrite comme étant inactivée en présence d'une forte concentration de glucose (41,42). Une fois que la fermentation dépasse le 60%, cette répression catabolique des sucres s'affaiblit et l'activité du Mdh2p augmente.

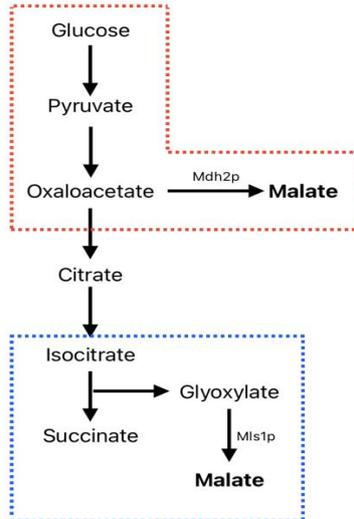


Figure 8 : Production d'acide malique chez les souches acidifiantes (Réalisation personnelle)

### 3. MISE EN PLACE DE L'EXPÉRIMENTATION

Lors du pressurage, le seuil de différenciation d'une augmentation de 0,2 de pH a été appliqué pour séparer les moûts de fin de pressées. Une fois que le programme des pressoirs est fini, nous avons rempli deux cuves de 12 hL : une cuve qu'on a laissé s'oxyder selon le protocole du Château pour le jus de fin de pressée (paragraphe 1.2.2.) avec une oxydation de 4 heures et après un sulfitage, un enzymage et le lendemain un débouillage oxydatif. L'autre cuve était traitée par l'appareil de Michael Paetzold.

#### L'appareil de Michael Paetzold-Oxygénation contrôlée

L'appareil et le traitement est basé sur l'oxydation des composés phénoliques et leur élimination par de polymérisation et la condensation. La dose de l'oxygène ajoutée dans la cuve est calculée avec un indice de l'oxydation, qui est déterminé en fonction de la maturité du raisin/état sanitaire, la trituration des raisins, la protection vis-à-vis de l'oxygène en amont du traitement et la sensibilité au vieillissement. La détermination de l'indice de l'oxydation était de 7, comme illustré dans les figures suivantes.

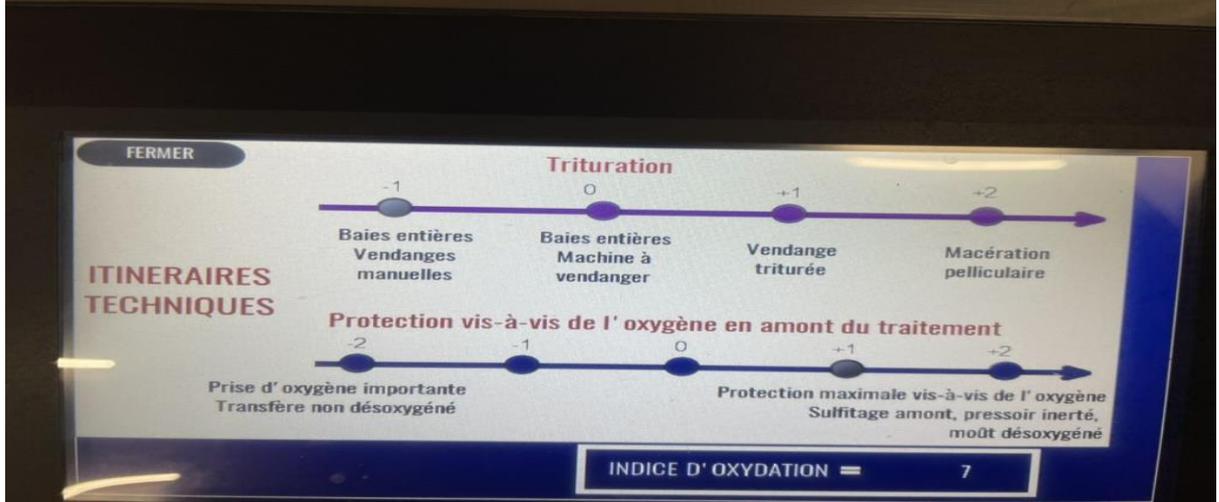
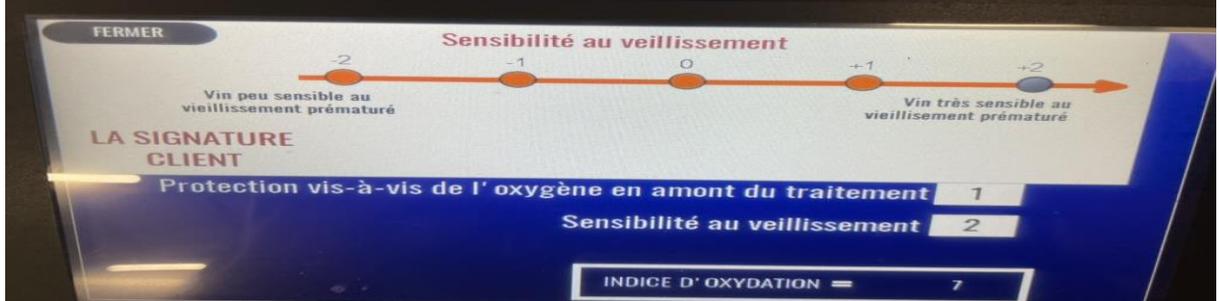
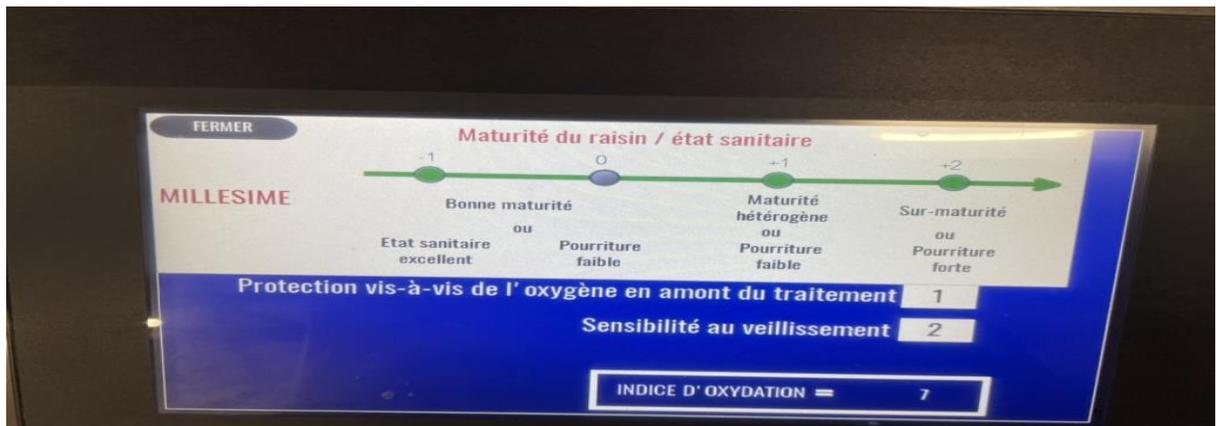


Figure 9 : Détermination de l'indice d'oxydation

Comme indiqué dans la figure 9, le paramètre qui a augmenté le plus l'indice d'oxydation était la sensibilité au vieillissement prématuré des vins de fin de pressée, qui sont très sensibles à cause de leur concentration élevée des composés phénoliques.

Ensuite, le cépage et le volume à traiter sont réglés. Une fois l'oxygénation par l'appareil terminée, une désoxygénation du moût, un sulfitage de 4 g/hL et un enzymage aux enzymes pectolytique de 2 g/hL ont été réalisés.

Le lendemain, les cuves étaient prêtes à être débourbées. Trois barriques de chaque modalité ont été remplies. La turbidité a été ajustée à 150 NTU et vérifiée barrique par barrique.

En plus du traitement des moûts nous avons testé deux souches acidifiantes : la souche KLIMA (*Saccharomyces cerevisiae* acidifiante) et la souche OMEGA (*Lachancea thermotolerans*) de la société Laffort® et la souche X5 a été utilisée comme témoin.

Concernant le levurage pour :

- X5 (témoin)

Un ajout de 15 g/hL de souche X5 a été fait.

- OMEGA-X5

Un ajout de 15 g/hL de souche X5 et un ajout de 20 g/hL d'OMEGA a été fait.

- KLIMA

Un ajout de 30 g/hL de souche KLIMA a été fait.

La fermentation alcoolique a duré onze jours pour toutes les modalités, la température se situait entre 18-25°C et l'ajustement de l'azote a également été fractionné à 150 mg/L en même temps que le levurage et à 200 mg/L pendant la phase exponentielle. Le suivi de la fermentation alcoolique a été fait par une mesure quotidienne de la masse volumique à l'aide d'une pipette, d'un mustimètre et d'une éprouvette différente pour chaque modalité (principalement KLIMA). Ce matériel nous a permis d'assurer un milieu isolé en limitant les échanges des levures entre les barriques. Le suivi de chaque barrique est présenté dans la figure 10.

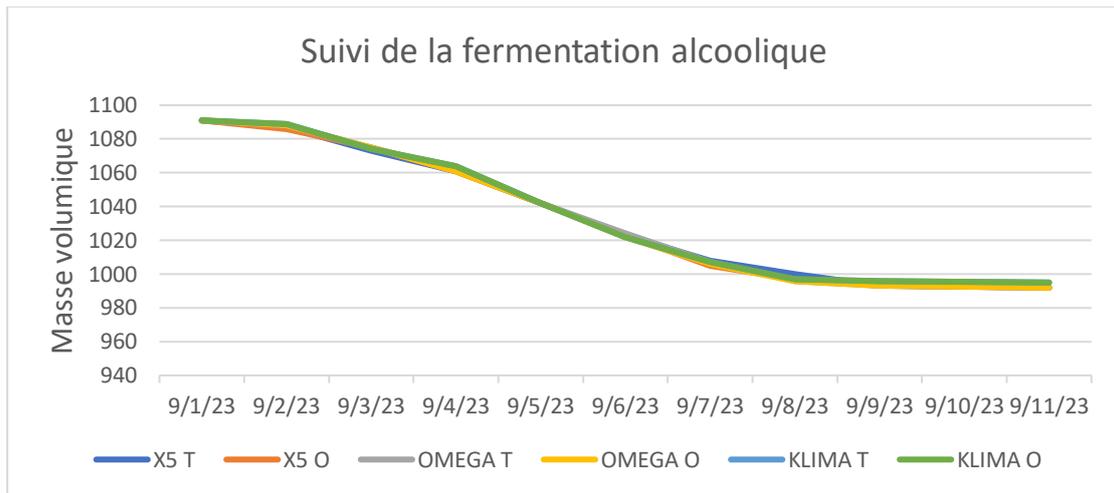


Figure 10 : Suivi de la fermentation alcoolique

On peut constater que les fermentations alcooliques se sont déroulées pareillement et qu'aucune des modalités n'avaient plus de Glucose+Fructose le 11/9/23. Tout le protocole de microvinification pour mon expérimentation est aussi montré dans la figure 11.

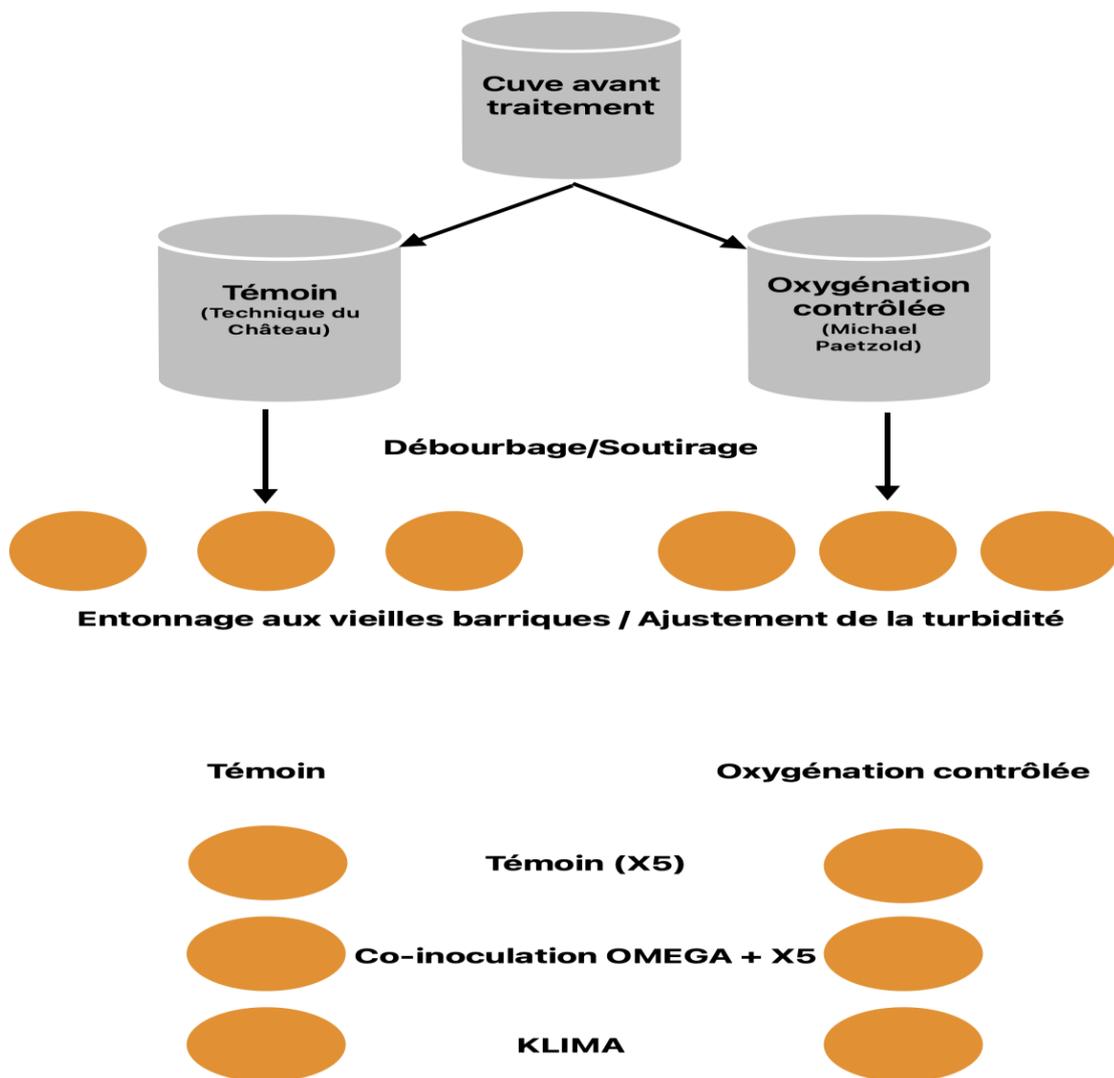


Figure 11 : Microvinification de l'expérimentation

## 4. ANALYSES

Pour ce mémoire, les analyses ont été effectuées au laboratoire EXCELL et au laboratoire OENOSSENS. Des analyses physicochimiques ont été faites (pH, TAV, acidité totale, acidité volatile, sucres) pour chaque modalité/variable. En plus, d'autres analyses ont été effectuées : analyses enzymatiques de l'acide malique, lactique et succinique, analyses microbiologiques pour le contrôle d'implantation de la souche KLIMA, et une PCR quantitative pour déterminer la population de *Lachancea thermotolerans*. Une série d'analyses a été effectuée pour estimer les composés phénoliques des moûts, tels que la voltamétrie linéaire entre les deux modalités et la cuve avant le traitement. Après la fermentation, les analyses de l'indice de Folin Ciocalteu, d'une chromatographie en phase liquide pour doser la série catéchine-epicatéchine et l'absorbance à 420 nm pour estimer la couleur jaune. Enfin, des tests de l'analyse sensorielle ont été organisés.

## 5. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Mon expérimentation comprenait deux parties de recherche, l'une pour les composés phénoliques et l'autre pour l'acidité, et donc les analyses sont présentées séparément pour bien pouvoir interpréter les deux parties.

### 5.1. LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

Dans les résultats présentés ci-dessous, le témoin est la technique habituelle du Château et Ox.c la modalité traitée par l'appareil. L'échantillon « Cuve avant traitement » (Figure 12) n'est disponible que pour les analyses initiales du moût et la voltamétrie linéaire.

#### 5.1.1. VOLTAMÉTRIE LINÉAIRE

Le principe de cette technique analytique est de provoquer l'oxydation des composés contenus dans l'échantillon en balayant une gamme de potentiel. L'intensité électrique alors mesurée est reliée aux électrons relargués par les composés. Cette intensité est proportionnelle à la quantité de composés oxydables présents dans l'échantillon.

Les échantillons de cette analyse sont présentés comme :

- Cuve AT : Cuve avant traitement
- Oxygénation contrôlée : Oxygénation par l'appareil de Michael Paetzold
- Témoin : Technique du Château

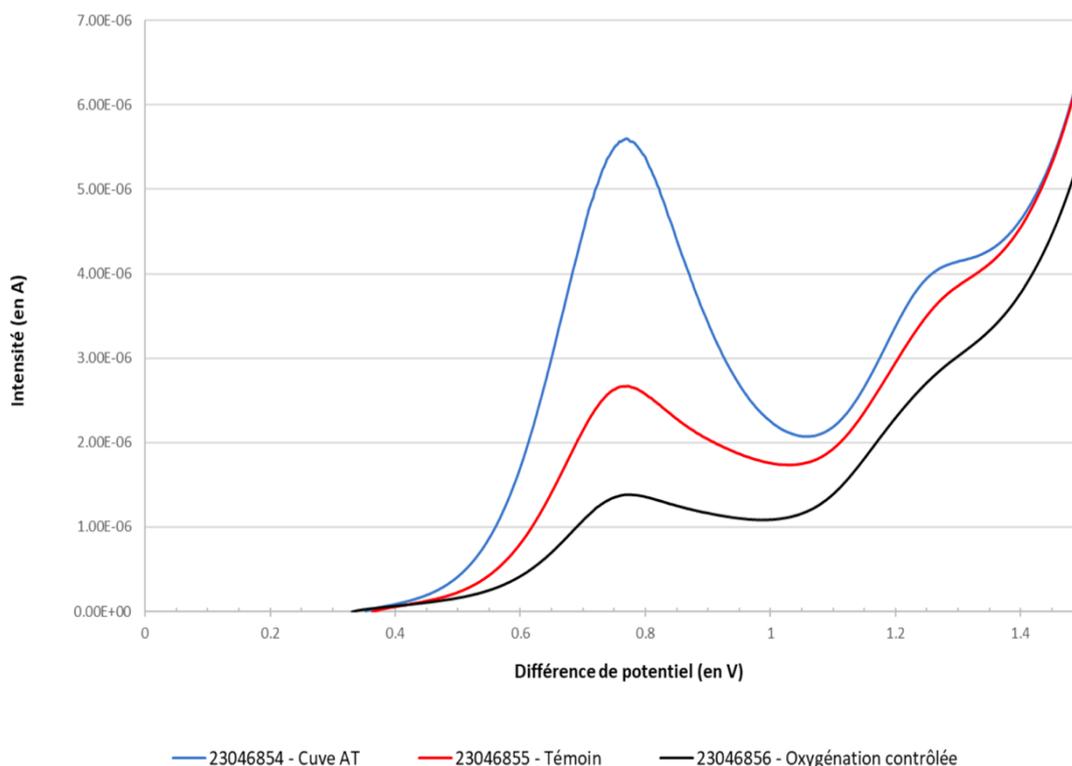


Figure 12 : Voltammogrammes obtenus en voltamétrie linéaire ( $\Delta V$  0-1.5) électrode de travail : Au, électrode de référence : Ag/AgCl/Cl-

D'après Paul A. Kilmartin et al., 2012, (43), l'ordre de l'oxydation des composés pendant le balayage en courant de potentiel est tout d'abord l'acide catfarique, l'acide coutarique mais aussi le monomère catéchine. Ensuite, on retrouve des flavonols comme la quercétine. Les derniers composés oxydés par le balayage en courant sont des composés difficilement oxydables comme des acides aminés libres (cystéine, tryptophane, tyrosine), mais aussi des tripeptides et enfin des composés phénoliques de haut poids moléculaire comme des procyanidines B1 à B4 et probablement tous les autres polymères de flavan-3-ols.

La figure 12 montre ce balayage en courant de potentiel (0-1,5  $\Delta V$ ) pour les deux traitements oxydatifs mais aussi pour la cuve avant le traitement. Un pic se distingue clairement pour toutes les modalités. Selon l'aire du pic 0,7-1,0 nous pouvons conclure que l'ajout d'oxygène avec l'appareil Paetzold était plus important que dans le témoin, car il reste moins de composés oxydables. Cependant cette analyse rend aussi compte de l'oxydation des aminoacides et des tripeptides.

### 5.1.2. ABSORBANCE 420 nm

Tableau 1 : Absorbance à 420 nm

	Témoin	Oxygénation contrôlée
DO 420 nm	0,282 $\pm$ 14 %	0,260 $\pm$ 14 %

Cette analyse était faite à la fin de la fermentation. Le couleur jaune dans le vin blanc et donc l'absorbance à 420 nm est due aux quinones des composés phénoliques qui ne sont pas précipitées. Comme les deux moûts sont traités par une élimination des composés phénoliques par oxydation, les résultats obtenus sont presque identiques pour les deux modalités.

### 5.1.3. INDICE DE FOLIN-CIOCALTEU

Tableau 2 : Indice de Folin Ciocalteu par mg/L d'acide gallique

	Témoin	Oxygénation contrôlée
<b>Indice de Folin Ciocalteu</b>	424	357

L'indice de Folin Ciocalteu dans les vins blancs est plus fiable que la voltamétrie mais il peut également être faussé par des aminoacides et des tripeptides. Avec cette analyse, on peut constater que dans le cas de l'oxygénation contrôlée une plus forte élimination des composés phénoliques de haut poids, comme les dimères des catéchines, a été obtenue. La différence de 67 mg/L exprimée en acide gallique ne peut pas s'expliquer seulement par les acides aminés et les tripeptides.

### 5.1.4. TEST DE TENUE À L'AIR

Tableau 3 : Test de tenue à l'air

	Témoin t=0	Témoin t=48h	Ox. C. t=0	Ox. C. t=48h
<b>DO 420 nm</b>	0,427 ± 14 %	0,436 ± 14 %	0,448 ± 14 %	0,469 ± 14 %

Cette analyse a été faite 10 jours après la fin de la fermentation, juste avant le sulfitage. Il s'agit d'une évaluation de la sensibilité de l'échantillon à l'oxydation. Les deux échantillons sont laissés dans un verre (50 mL), ouverts et exposés à l'air pour 48 heures.

On peut constater qu'une augmentation très légère presque nulle de l'absorbance est observée pour les deux modalités, mais l'aspect visuel (couleur, dépôts ...) n'est pas modifié par l'aération. À ce point-là on peut considérer que ces deux vins sont stables.

Mais il faut tout de même remarquer qu'une augmentation assez élevée est observée entre l'analyse de t=0 et celle juste après la fermentation (paragraphe 5.1.2.). Même si cette augmentation est identique pour les deux modalités, nous pouvons constater que les deux échantillons ont le même comportement vis-à-vis de l'oxydation.

### 5.1.5. CATÉCHINES

Tableau 4 : Dosage des séries catéchines par chromatographie en phase liquide (LC-MS)

	Témoin	Oxygénation contrôlée
(-) Épicatéchine	Non détecté	Non détecté
(+) Catéchines (Catéchine, épicatéchine gallate, épicatéchine, épigallocatechine gallate, épigallocatechine)	Non détecté	Non détecté
(-) Épicatéchine gallate	Non détecté	Non détecté
(-) Épigallocatechine gallate	Non détecté	Non détecté
(-) Épigallocatechine	Non détecté	Non détecté

Limite de Détection : 0,10 mg/L

Cette analyse a été faite à la fin de la fermentation et avant le sulfitage. Concernant, l'interprétation de ces résultats, à mon avis, il faut émettre deux hypothèses. La première est que les deux traitements sont très efficaces et que les catéchines etc. sont bien éliminées par l'oxydation recherchée dans les deux traitements.

La deuxième hypothèse est qu'une oxydation des échantillons a eu lieu avant l'analyse.

## 5.2. ACIDITÉ

Les résultats sont présentés pour toutes les modalités.

### 5.2.1. ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES

Les analyses physicochimiques ont été faites deux fois : la première fois dans la cuve avant les traitements oxydatifs et la deuxième dans toutes les modalités/variables de mon expérimentation.

Tableau 5 : Analyses initiales du moût

Analyses	Cuve avant traitement	Unité
Titre alcoométrique probable	12,92	% v/v
Sucres fermentescibles	217,4	g/L
Acidité totale	2,92	g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L
pH	3,47	
Azote assimilable	123	mg/ L

Acide malique *	2,22 ± 11 %	g/L
-----------------	-------------	-----

\*analyse enzymatique

Tableau 6 : Analyses des toutes les variables en fin de fermentation

Analyses	T-X5	OX-X5	T-OMEGA	OX-OMEGA	T-KLIMA	OX-KLIMA	Unité
Titre alcoométrique volumique	13,1	13,2	13,1	13,2	12,7	12,9	% v/v
Glucose + Fructose	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	g/L
Acidité totale	4,3	4,3	4,3	4,3	5,5	5,4	g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L
pH	3,48	3,49	3,48	3,49	3,39	3,38	
Acidité volatile	0,28	0,26	0,26	0,26	0,16	0,16	g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L

\* limite de détection = 0,06g/L

\*\* T = témoin, OX = Oxygénation contrôlée

En comparant les variables ; sur la variable KLIMA on voit une augmentation de l'acidité totale de 1,2 g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/ L, une baisse du pH de 0,1, une baisse du titre alcoométrique volumique de 0,3-0,4 et une baisse de l'acidité volatile. En plus, on peut constater que l'utilisation d'OMEGA n'avait pas d'impact sur les analyses physicochimiques.

### 5.2.2. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Pour la variable KLIMA une analyse de **contrôle de l'implantation** a été faite après une chute de 70-80 points de masse volumique afin de nous assurer que cette souche aie réalisée la fermentation alcoolique. Le résultat de cette analyse a montré que la souche de KLIMA était implantée et présente à 70-80% de la fermentation alcoolique.

Tableau 7 : PCR Quantitative pour les deux modalités de la variable de la co-inoculation d'OMEGA-X5

	T-OMEGA	Ox.c-OMEGA
Q-Pcr ( <i>Lachancea thermotolerans</i> )	3,3 x 10 <sup>7</sup>	2,9 x 10 <sup>7</sup>

Résultats à cellules/mL

Dans le tableau 7, l'analyse effectuée pour la variable de OMEGA-X5 est présentée. Cette analyse a été faite après une chute de 30 points de masse volumique afin d'être sûr que la population des levures était arrivée au maximum.

On note que la souche OMEGA est bien développée et qu'elle a atteint une population assez importante.

### 5.2.3. ACIDE LACTIQUE

Tableau 8 : Dosage enzymatique d'acide lactique

	OMEGA témoin	OMEGA Ox.c
Acide lactique	<LQ	<LQ

LD = 0,03, LQ = 0,10 g/L

Le tableau 8 indique que la concentration de l'acide lactique dans les deux barriques se situait entre 0,03-0,10 g/L, presque nulle ce qui est cohérent avec les analyses physicochimiques du vin (Tableau 6).

En fait, ce résultat s'est déjà révélé dans plusieurs essais. Heureusement, dans notre cas, nous avons effectué une PCR quantitative pour la population de *Lachancea thermotolerans* et nous pouvons donc exclure le risque que la souche ne soit pas implantée. En fait, *Lachancea thermotolerans* est une espèce qui est encore très peu étudiée dans le milieu du chai. Il est essentiel de comprendre que presque tous les essais, mentionnés dans mon analyse bibliographique ce sont déroulés sur du moût stérile ou synthétique, ce qui n'est pas notre cas.

A ce point-là, on peut émettre deux hypothèses. Une hypothèse, à l'aide de l'analyse de PCR quantitative, est que la souche OMEGA était bien implantée, mais la souche n'est pas fonctionnée. Ce résultat pourrait être dû aux plusieurs raisons, mais en général lorsqu'on travaille avec deux souches en co-inoculation, c'est toujours une modalité compliquée avec un risque minime d'acidification incontrôlée (quantité très élevée de l'acide lactique) mais très élevé d'acidification presque nulle, à cause de la concurrence entre les deux souches. L'autre hypothèse est que l'analyse de Q-PCR (paragraphe 5.2.2.) a surestimé fortement la population de *Lachancea thermotolerans* car il peut compter les cellules mortes aussi.

### 5.2.4. ACIDE MALIQUE ET SUCCINIQUE

Tableau 9 : Dosage enzymatique d'acide malique et d'acide succinique

	KLIMA témoin	KLIMA Ox.c	X5 témoin	X5 Ox.c	Unité
Acide malique	2,59± 11 %	2,62± 11 %	2,04± 11 %	2,09± 11 %	g/L
Acide succinique	0,375± 11 %	0,375± 11 %	0,408± 11 %	0,402± 11 %	g/L

Les analyses sont faites dans la variable KLIMA et X5. On peut observer qu'une augmentation d'environ 0,6 g/l d'acide malique avec l'utilisation de la souche KLIMA.

Compte tenu de l'analyse initiale du moût, l'augmentation est plutôt de 0,4 et non de 0,6 g/L, car le niveau initial de l'acide malique était de 2,22 g/L ; en conséquence, nous pouvons observer une légère diminution dans la X5, mais ces résultats ne sont pas significatifs dans le contexte de ce mémoire en tenant compte l'incertitude de cette méthode.

L'analyse de l'acide succinique a été faite afin de vérifier le métabolisme de cette souche acidifiante, où l'acide succinique est produit jusqu'à 60% de la fermentation alcoolique (40). Néanmoins, vu l'incertitude, ces résultats ne sont pas significatifs et impossible à vérifier dans le cadre de ce mémoire.

### 5.3. ANALYSE SENSORIELLE

Trois tests de l'analyse sensorielle ont été mis en place. Le jury de 24 personnes était composé des œnologues du Château, des propriétaires, des étudiants de DNO et du personnel formé à la dégustation. En annexe 1, vous trouverez la fiche de dégustation utilisée pour effectuer les tests.

Tout d'abord, un test triangulaire a été effectué pour étudier s'il y avait une différence entre les deux modalités pour les composés phénoliques. Dix dégustateurs ont trouvé l'échantillon unique. Afin d'interpréter ces résultats, il faut se référer à la table de la loi binomiale pour une probabilité de 1/3 (annexe 2). Afin d'avoir une différence significative entre les deux échantillons, il faut que treize dégustateurs différencient l'échantillon. Donc, dans notre cas, nous pouvons affirmer qu'il n'y a pas de différence significative entre le témoin et l'oxygénation contrôlée.

Ensuite, en voyant que l'OMEGA de *Lachancea thermotolerans* n'a pas produit d'acide lactique tout en ayant une population importante, on cherche à voir s'il y a des différences sur la dégustation de cette variable contre la variable témoin X5 avec un test triangulaire. Quatorze dégustateurs ont trouvé l'échantillon unique. D'après la table de la loi binomiale pour une probabilité de 1/3 nous pouvons constater qu'il y a une différence significative entre les échantillons OMEGA et X5 avec un risque de 5% de se tromper.

Enfin, vu le succès de la souche KLIMA, le Château Carbonnieux voulait voir si la modalité KLIMA pouvait être plus qualitative et équilibrée gustativement, mais aussi olfactivement, que la variable X5 précédemment acidifiée en ajoutant 0,75 g/L d'acide tartrique. Pour cette raison, un test par paires a été mis en place posant la question : Quel est le plus qualitatif entre les deux échantillons ? Vingt dégustateurs ont jugé l'échantillon X5 plus qualitatif. Pour interpréter ces résultats, il faut se référer à la table de la loi binomiale pour une probabilité de 1/2 test bilatéral sans a priori (annexe 3). Afin d'obtenir une différence significative, il faut que plus de 19 sujets qui choisissent l'échantillon plus qualitatif. Ainsi, nous

pouvons interpréter que l'échantillon X5 acidifié est plus qualitatif que le KLIMA avec une risque de 1% de se tromper.

## 6. COMPARAISON DU PROJET INITIAL ET DU PROJET FINAL

Dans l'annexe 4 vous pouvez voir la fiche initiale de mon expérimentation. Après discussions avec le maître de chai, le responsable œnologique, le tuteur de mon stage, Monsieur Darriet, et aussi ma professeure, Madame Bely, quelques changements ont été effectués. Peu de modification sur les protocoles de vinification. La plupart des analyses ont été faites mais en ajoutant des analyses, surtout concernant les composés phénoliques. Enfin, au vu des résultats de mon expérimentation, l'analyse sensorielle a été totalement modifiée et adaptée.

Concernant les analyses sur les composés phénoliques des erreurs ont été faites. Elles auraient dû être effectuées conjointement avec la voltamétrie, afin d'obtenir des résultats comparables entre eux. En plus, il aurait fallu garder une modalité témoin de jus non traité par des traitements oxydatifs, de manière à vérifier l'efficacité des traitements. En outre, afin de vraiment quantifier les composés phénoliques, surtout dans les vins blancs, où les analyses comme l'indice de polyphénols totaux et l'indice de Folin-Ciocalteu sont faussés par la présence des protéines, il faut réaliser des analyses de chromatographie pour les catéchines et les acides phénols sur plusieurs échantillons avec une répétition suffisante, ce qui n'était pas souhaité par le Château.

De plus, dans le cas de la souche OMEGA de l'espèce *Lachancea thermotolerans*, il aura fallu faire aussi des boîtes de Pétri sur un milieu non-*Saccharomyces* pour déterminer la population vivante de cet souche. À l'aide de cette mesure, même si les résultats sont exprimés en UFC/mL, on pourrait avoir une comparaison avec l'analyse de QPCR et regarder s'il y avait une surestimation des cellules vivantes.

## 6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La modalité d'oxygénation contrôlée montre beaucoup de similarités par rapport à la modalité témoin. Dans l'analyse sensorielle il n'y a pas de différence entre les deux modalités et dans les analyses chimiques les résultats sont presque pareils. En général, nous constatons que selon notre expérimentation, les traitements oxydatifs dans le moût ont le même profil quelle que soit la dose de l'oxygène impliquée. Or, l'appareil de Michael Paetzold a un prix d'achat ou de location non négligeable. D'autre part, l'utilisation de cette machine ne permet pas une augmentation significative des vins traités et la diminution du temps de travail est négligeable. Par conséquent, la méthode utilisée actuellement peut être confirmée.

Concernant les levures acidifiantes, d'un côté la souche OMEGA de *Lachancea thermotolerans* n'a pas modifié les résultats d'analyses physicochimiques du vin, car elle n'a pas produit d'acide lactique en quantité mesurable. Dans l'analyse sensorielle une différence entre les modalités OMEGA-X5 et X5 a été démontrée, avec un risque de 5% de se tromper. Cette différence il pourrait être due à une modification de l'arôme du vin, car *Lachancea thermotolerans* est une espèce qui possède beaucoup d'enzymes glycosidases, qui peuvent libérer des composés aromatiques et aussi il favorise la production des esters d'éthyle et d'acétate (44). Nous n'avons pas poursuivi les dégustations pour caractériser ces différences du fait que l'objectif derrière de l'utilisation de cette souche était d'augmenter l'acidité et non pour modifier le vin olfactivement. De plus, vu que la production d'acide lactique était nulle, même à des températures hautes pendant la fermentation alcoolique dans les barriques, cette souche ne pourrait pas être adapter à l'itinéraire du Château avec une fermentation alcoolique dans une cuve inox à 16°C, et donc le Château Carbonnieux ne souhaite plus étudier cette souche.

L'utilisation de la souche KLIMA de *Saccharomyces cerevisiae* modifie les analyses physicochimiques du vin très positivement. Cette modification positive ne concordait malheureusement pas avec l'analyse sensorielle, en montrant une qualité supérieure de l'échantillon X5 acidifié. Plusieurs descripteurs sont donnés en ce qui concerne cette différence, mais pour plusieurs dégustateurs, et surtout pour les œnologues, ce qui les dérangeait était la sensation en fin de bouche combinée à l'acidité et la sensation d'amertume plus prolongée, et une réduction plus dense dans le cas de KLIMA. Il faut toutefois prendre en compte l'effet millésime, car il s'agissait d'un millésime qui a donné des vins assez frais avec de belles acidités. J'estime que KLIMA pourrait être une solution pour les années très chaudes avec des acidités très basses, là où un ajout de l'acide tartrique ne suffit pas.

Concernant les études futures, à mon avis et après discussion avec les œnologues du Château Carbonnieux, il serait intéressant d'étudier dans un premier temps, à l'aide d'analyses de chromatographie, la technique d'oxydation de 3-4 heures du jus de fin de pressée utilisée par le Château. De plus, une étude sur l'élimination des composés phénoliques du jus de fin de pressée par un collage avec des bourbes vertes ou avec des produits de collage serait intéressante d'effectuer, puis la comparer et évaluer par rapport à la technique du Château en prenant en compte aussi des analyses du glutathion et des thiols volatils.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

---

Les différents sols du Château Carbonnieux lui permettent de vinifier des vins blancs et les rouges de qualité. Cependant, pour profiter de tout le potentiel de ses microclimats, il faut prendre en compte le facteur humain.

Concernant la viticulture, le Château Carbonnieux arrive aujourd'hui à désherber tout le vignoble avec le travail du sol tout en gagnant toujours en précocité, ce qui favorise la maturité des rouges. Ce travail combiné à un amendement judicieux permet aussi de maintenir la vigueur des vignes blanches ce qui est favorable à la qualité. De plus, le travail dans le vignoble, notamment la taille et la pratique du rajeunissement du pied, leur permet d'avoir des vignes saines qui produisent des raisins de qualité.

Ensuite, la vinification au Château Carbonnieux est extrêmement précise. Pour la vinification des vins blancs, le moût est très protégé de l'oxydation avec des ajouts de gaz carbonique et par l'utilisation des pressoirs inertés. Une fois prêt, chaque lot est entonné dans différents contenants de chêne français où l'élevage se fait pendant dix mois. La vinification en rouge est guidée par le souci d'une extraction modérée. Pour cette raison, différents matériels sont utilisés pour l'extraction, toujours accompagnée avec des dégustations de lots dans le but de trouver un équilibre gustatif. Ensuite la macération post-fermentaire à chaud constitue la phase de finition pour le Château, qui apporte des composés avec une saveur sucrée qui vont accompagner leur extraction des tanins.

En outre, en me confiant ce sujet de recherche, les œnologues du Château Carbonnieux m'ont confirmé et m'ont transmis leur philosophie de remise en question permanente car même s'ils sont déjà satisfaits de leur manipulation des jus de fin de pressée, ils n'arrêtent pas chercher pour d'autres manières afin de s'améliorer.

Enfin, d'un point de vue personnel, le millésime 2023 était un millésime particulièrement approprié pour la réalisation de mon stage. Exactement comme le responsable œnologique Andréa Perrin m'a dit, « tu as bien choisi le millésime pour ton stage ». Un millésime avec un volume conséquent, avec des conditions climatiques à la fois favorables et à la fois défavorables.

J'ai eu de la chance de travailler dans tous les postes possibles, de vendanger des dernières parcelles de 2023 jusqu'à la mise en bouteilles du millésime 2022. Pour finir, à plusieurs occasions pendant mon stage j'ai compris que le savoir n'est pas synonyme de savoir-faire et je crois que le Château Carbonnieux m'a bien formé avec leur savoir-faire.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Koussa T, Broquedis M, Bouard J. Relations entre la teneur en acide abscissique des bourgeons latents de vigne (*Vitis Vinifera* L. *var.* Merlot noir) et leur teneur en eau. *OENO One*. 30 sept 1994;28(3):203-11.
2. Serrano E. L'effeuillage de la vigne : synthèse de quatre années d'études menées en Midi-Pyrénées.
3. Linder C, Rösti J, Lorenzini F, Deneulin P, Badertscher R, Kehrl P. Le kaolin, efficace contre *Drosophila suzukii* dans la vigne et sans impact sur les vins. *Recherche agronomique suisse*. 2020;11(5):49-52.
4. Dal F. Manuel des pratiques viticoles contre les maladies du bois. Sancerre (France): SICAVAC; 2013. 120 p.
5. Sire Y, Doucot S. Activité polyphénol-oxydase du raisin: Influence de la température et de différentes opérations technologiques en vinification. *Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques: magazine trimestriel d'information professionnelle*. 2016;43(160):25-8.
6. Valerie Lavigne V. Recherches sur les composés soufrés volatils formés par la levure au cours de la vinification et de l'élevage des vins blancs secs [Internet] [These de doctorat]. Bordeaux 2; 1996 [cité 29 déc 2023]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/1996BOR20429>
7. Marchal A. Recherches sur les bases moléculaires de la saveur sucrée des vins secs : approches analytique et sensorielle [Internet] [These de doctorat]. Bordeaux 2; 2010 [cité 29 déc 2023]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2010BOR21779>
8. Cretin B. Recherches sur les déterminants moléculaires contribuant à l'équilibre gustatif des vins secs [Internet] [These de doctorat]. Bordeaux; 2016 [cité 29 déc 2023]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2016BORD0289>
9. Le Scanff M. Recherches sur les modifications gustatives consécutives à la cuvaison des vins rouges : interprétations moléculaires et applications pratiques. [Internet] [These de doctorat]. Bordeaux; 2022 [cité 30 déc 2023]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2022BORD0397>
10. Dubourdiou D. ROLE DU GLUTATHION SUR L'EVOLUTION AROMATIQUE DES VINS BLANCS. 2003;(17).
11. Moine Ledoux V. Recherches sur le rôle des mannoprotéines de levure vis-à-vis de la stabilisation protéique et tartrique des vins [Internet] [These de doctorat]. Bordeaux 2; 1996 [cité 30 déc 2023]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/1996BOR20432>
12. Singleton VL. Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model

- Systems: Observations and Practical Implications. *Am J Enol Vitic.* 1 janv 1987;38(1):69-77.
13. Chira K, Suh J, Saucier C, Teissedre PL. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie.* 1 avr 2008;6:75-82.
  14. Panigai S. Évaluation du risque d'oxydation prématurée des vins blancs de Bourgogne par voltamétrie linéaire de balayage et impacts de différents itinéraires techniques [Internet] [other]. Bureau interprofessionnel des vins de Bourgogne, 12 boulevard Bretonnière, 21200 Beaune; 2020 [cité 12 nov 2023]. p. 39 + annexes. Disponible sur: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03641109>
  15. Gunata Z, Salgues M, Cheynier V, Wylde R. Oxidation of Grape Juice 2-S-Glutathionyl Caffeoyl Tartaric Acid by *Botrytis cinerea* Laccase and Characterization of a New Substance: 2,5-di-S-Glutathionyl Caffeoyl Tartaric Acid. *Journal of Food Science.* 1986;51(5):1191-4.
  16. Nikolantonaki M. Incidence de l'oxydation des composés phénoliques sur la composante aromatique des vins blancs [Internet] [These de doctorat]. Bordeaux 2; 2010 [cité 12 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.theses.fr/2010BOR21770>
  17. DNO UE 5 VINIF BLANC 3 2023.pdf.
  18. Cheynier V, Rigaud J, Souquet JM, Duprat F, Moutounet M. Must Browning in Relation to the Behavior of Phenolic Compounds During Oxidation. *Am J Enol Vitic.* 1 janv 1990;41(4):346-9.
  19. Cheynier V. Hyperoxidation: influence of various oxygen supply levels on oxidation kinetics of phenolic compounds and wine quality.
  20. Cheynier V, Owe C, Rigaud J. Oxidation of Grape Juice Phenolic Compounds in Model Solutions. *Journal of Food Science.* 1988;53(6):1729-32.
  21. Oliveira CM, Ferreira ACS, De Freitas V, Silva AMS. Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International.* 1 juin 2011;44(5):1115-26.
  22. Cejudo-Bastante MJ, Pérez-Coello MS, Hermosín-Gutiérrez I. Effect of wine micro-oxygenation treatment and storage period on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. *LWT - Food Science and Technology.* 1 mai 2011;44(4):866-74.
  23. Singleton VL, Zaya J, Trousdale E. White Table Wine Quality and Polyphenol Composition as Affected by Must SO<sub>2</sub> Content and Pomace Contact Time. *Am J Enol Vitic.* 1 janv 1980;31(1):14-20.
  24. DUBOURDIEU D, LAVIGNE V. Incidence de l'hyperoxygénation sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins blancs secs du Bordelais. *Rev fr oenol.* 1990;30(124):58-61.
  25. Schneider V. Must Hyperoxidation: A Review. *Am J Enol Vitic.* 1998;49(1):65-73.

26. Vilela A. *Lachancea thermotolerans*, the Non-*Saccharomyces* Yeast that Reduces the Volatile Acidity of Wines. *Fermentation*. sept 2018;4(3):56.
27. Gatto V, Binati RL, Lemos Junior WJF, Basile A, Treu L, de Almeida OGG, et al. New insights into the variability of lactic acid production in *Lachancea thermotolerans* at the phenotypic and genomic level. *Microbiol Res*. sept 2020;238:126525.
28. Hranilovic A, Gambetta JM, Schmidtke L, Boss PK, Grbin PR, Masneuf-Pomaredo I, et al. Oenological traits of *Lachancea thermotolerans* show signs of domestication and allopatric differentiation. *Sci Rep*. 4 oct 2018;8(1):14812.
29. Sgouros G, Mallouchos A, Filippousi ME, Banilas G, Nisiotou A. Molecular Characterization and Enological Potential of A High Lactic Acid-Producing *Lachancea thermotolerans* Vineyard Strain. *Foods*. mai 2020;9(5):595.
30. Banilas G, Sgouros G, Nisiotou A. Development of microsatellite markers for *Lachancea thermotolerans* typing and population structure of wine-associated isolates. *Microbiological Research*. 1 déc 2016;193:1-10.
31. Javier Vicente, Eva Navascués, Fernando Calderón, Antonio Santos, Domingo Marquina, Santiago Benito. An Integrative View of the Role of *Lachancea thermotolerans* in Wine Technology. *Foods*. 2021;10(11).
32. Sainz F, Pardo J, Ruiz A, Expósito D, Armero R, Querol A, et al. Use of non-conventional yeasts to increase total acidity in the Cava base wines. *LWT*. 15 mars 2022;158:113183.
33. Gobbi M, Comitini F, Domizio P, Romani C, Lencioni L, Mannazzu I, et al. *Lachancea thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae* in simultaneous and sequential co-fermentation: A strategy to enhance acidity and improve the overall quality of wine. *Food Microbiology*. 1 avr 2013;33(2):271-81.
34. Joran A, Klein G, Roullier-Gall C, Alexandre H. Multiparametric Approach to Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and *Lachancea thermotolerans* during Fermentation. *Fermentation*. juin 2022;8(6):286.
35. Kapsopoulou K, Mourtzini A, Anthoulas M, Nerantzis E. Biological acidification during grape must fermentation using mixed cultures of *Kluyveromyces thermotolerans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *World J Microbiol Biotechnol*. 1 mai 2007;23(5):735-9.
36. Morata A, Loira I, Tesfaye W, Bañuelos MA, González C, Suárez Lepe JA. *Lachancea thermotolerans* Applications in Wine Technology. *Fermentation*. sept 2018;4(3):53.
37. Vion C, Muro M, Bernard M, Richard B, Valentine F, Yeramian N, et al. New malic acid producer strains of *Saccharomyces cerevisiae* for preserving wine acidity during alcoholic fermentation. *Food Microbiology*. 1 juin 2023;112:104209.

38. Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B, Lonvaud A. Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications. John Wiley & Sons; 2006. 512 p.
39. Arroyo-López FN, Orlic S, Querol A, Barrio E. Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid. *International Journal of Food Microbiology*. 31 mai 2009;131(2):120-7.
40. Vion C. Etude de la modulation de l'acidité des vins par *Saccharomyces cerevisiae* par des approches génétiques et métabolomiques. Rôle de la consommation et de la production de l'acide malique au cours de la fermentation alcoolique. [Internet] [phdthesis]. Université de Bordeaux; 2023 [cité 12 nov 2023]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-04208534>
41. Minard KI, McAlister-Henn L. Glucose-induced degradation of the MDH2 isozyme of malate dehydrogenase in yeast. *Journal of Biological Chemistry*. 25 oct 1992;267(24):17458-64.
42. Minard KI, McAlister-Henn L. Glucose-Induced Phosphorylation of the MDH2 Isozyme of Malate Dehydrogenase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1 déc 1994;315(2):302-9.
43. Benkowitz F, Tominaga T, Kilmartin PA, Lund C, Wohlers M, Nicolau L. Identifying the Chemical Composition Related to the Distinct Aroma Characteristics of New Zealand Sauvignon blanc Wines. *Am J Enol Vitic*. 1 mars 2012;63(1):62-72.
44. Porter TJ, Divol B, Setati ME. *Lachancea* yeast species: Origin, biochemical characteristics and oenological significance. *Food Res Int*. déc 2019;119:378-89.

## Annexes

### Annexe 1 : Fiche de dégustation

*Nom :*

*Prénom :*

#### **Épreuve I**

Trois vins numérotés vous sont présentés,

571 495 662

Parmi ceux-ci, deux vins sont identiques. Goûtez les échantillons dans l'ordre proposé et indiquez celui que vous percevez comme différent.  
(Veuillez donner une réponse, même si vous n'êtes pas certain.)

Réponse :

#### **Épreuve II**

Trois vins numérotés vous sont présentés,

186 357 642

Parmi ceux-ci, deux vins sont identiques. Goûtez les échantillons dans l'ordre proposé et indiquez celui que vous percevez comme différent.  
(Veuillez donner une réponse, même si vous n'êtes pas certain.)

Réponse :

**Veillez tourner la page**

### Épreuve III

Deux vins numérotés vous sont présentés.

528 746

Goûtez-les de gauche à droite. De ces deux échantillons, quel est le plus qualitatif gustativement et olfactivement ?

(Veuillez donner une réponse, même si vous n'êtes pas certain.)

Réponse :

**Merci pour votre temps**



**PESSAC-LEOGNAN**  
**Grand Cru Classé de Graves**

Annexe 2 :Table de la loi binomiale pour une probabilité de 1/3

Nombre d'essais réalisés	risque $\alpha$	
	5%	1%
18	10	12
19	11	12
20	11	13
21	12	13
22	12	14
23	12	14
24	13	15
25	13	15
26	14	15
27	14	16
28	15	16
29	15	17
30	15	17

Annexe 3 : Table de la loi binomiale pour une probabilité de 1/2, test bilatéral

n	$\alpha$				
	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
10	8	9	9	10	
11	9	9	10	11	11
12	9	10	10	11	12
13	10	10	11	12	13
14	10	11	12	13	14
15	11	12	12	13	14
16	12	12	13	14	15
17	12	13	13	15	16
18	13	13	14	15	17
19	13	14	15	16	17
20	14	15	15	17	18
21	14	15	16	17	19
22	15	16	17	18	19
23	16	16	17	19	20
24	16	17	18	19	21
25	17	18	18	20	21

## Expérimentation:

### Valorisation des jus de presse des raisins du cépage sauvignon blanc

#### Objectifs

1. Valorisation de l'appareil de *Michael Paetzold* afin de savoir son efficacité.
2. Essais d'acidification naturelle de jus de presse avec des souches acidifiantes de *Saccharomyces cerevisiae* et de *Lachancea Thermotolerans* comme solutions envisagées dans le changement climatique et la baisse de l'acidité.

#### Protocole

Nous avons choisi avec le maître de chai Andréa Perrin, d'avoir deux modalités de vinification des jus de presse et trois variables pour chacune.

**Vinification :** La séparation de jus est réalisée avec une analyse du pH. Quand le pH montre 0,2 ou dépasse 3,5 on va fractionner le jus dans une autre cuve. Avec une goutte et le début de presse de 200 hL on a calculé 30 hL de jus de presse (on va assembler le jus de presse des deux pressurages). Pendant le remplissage de la cuve de presse on va la protéger avec du CO<sub>2</sub> (carboglâce) sans SO<sub>2</sub>. Quand le remplissage est fini, on va séparer la cuve de presse aux deux autres cuves

1. La première cuve on va laisser oxyder pour 3-4 heures sans protection. À 3-4 heures, soutirage, sulfitage et enzymage (pectolytique). Le lendemain, débourbage et entonnage dans les barriques sans les bourbes. **Témoin (T)**
2. L'autre cuve est protégée par la carboglâce dans une température assez basse afin de pas démarrer la fermentation alcoolique. Le lendemain, traitement de la cuve avec l'appareil de *Michael Paetzold* de l'**oxygénation maîtrisée (Ox)**. Cet appareil fonctionne avec une mesure du POLYSCAN C200 qui estime une dose d'oxygène à incorporer au moût, dans le but d'éliminer la charge phénolique. Après, on va sulfiter et enzymer la cuve, débourber et entonner dans les barriques sans les bourbes brunes.

Après pour chaque modalité nous aurons **trois variables**.

1. Acidifié par l'**acide tartrique**

Dose pas préconisée mais avec la dégustation des essais des différentes concentrations de l'acide tartrique en cherchant la dose la plus équilibrée gustativement.

2. Acidifié par **OMEGA Lachancea Thermotolerans**

Coinoculation avec une souche de *Saccharomyces cerevisiae*. Deux levains sont préparés et ajoutés-en même temps.

3. Acidifié par une souche acide de *Saccharomyces cerevisiae* **KLIMA** (maliquante)

- ⇒ Dans toutes les modalités, une turbidité de 150-180 NTU est recherchée. On va réajuster la turbidité dans chaque barrique après l'entonnage par des bourbes de goutte.
- ⇒ Azote assimilable à 210 mg/L ou plus avec deux ajouts, T<sub>0</sub> avec de levurage et à -40 densité. À OMEGA LT on va avoir au début un niveau d'azote plus élevé (*Cela reste à discuter*).
- ⇒ À 1000 densité suivie de protocole du Château Carbonnieux.

## Analyses d'intérêt

Notre sujet est de valoriser les vins de presses en fonction **des composés phénoliques, de l'acidité et du goût**. Les analyses vont être réalisées par le laboratoire excell.

### Composés phénoliques

1. Absorbance à 420 nm – 8,76€
2. Plusieurs dosages pour les composés phénoliques encore en discussion avec le tuteur du stage Monsieur Philippe Darriet.

### Acidité

1. Acidité totale (Début F.A, fin F.A) – 4,87€
2. pH (Début F.A, fin F.A) – 4,87€
3. Acide L-lactique (enzymatique) (Fin F.A) – 15,87€
4. Acide L-malique (enzymatique) (Début F.A, **mi-F.A**, fin F.A) – 11,25€  
(Intérêt de le suivre par tout le F.A mais possible avec du FOSS dans le chai)
5. Acide tartrique (Début F.A, fin F.A) – 19,06€
6. Intérêt pour une analyse de l'acide succinique (dosage des acides organiques) pour l'hypothèse de l'origine de l'acide malique dans le cas de la levure maliquante (Fin de F.A) (*Cela reste à discuter*).

### Analyse microbiologique

Implantation dans le cas de OMEGA *Lachancea Thermotolerans* (Q-PCR) – 101,48€

### Analyse sensorielle

Test triangulaire entre les deux modalités, s'il y a une différence significative → test par paires (Qui est le plus qualitatif) et à la plus qualitatif test de classement entre les trois variables.

*\*Les prix indiqués sont pour une mesure et sans remise.*

**Remarque :** Ce protocole n'est pas complet, il reste encore des discussions de réaliser avec le maître de chai et le tuteur du stage pour les analyses mais aussi pour le protocole de l'expérimentation.