

**INFLUENCE DE LA NATURE LIQUIDE OU GAZEUSE  
DE L'ENVIRONNEMENT DES BAIES DE RAISIN  
SUR LES PROPRIÉTÉS RHÉOLOGIQUES  
ET SUR LES EXTRACTIBILITÉS DE COULEUR  
ET D'AZOTE AU COURS DE CONDITIONS SIMULANT  
LA VINIFICATION BEAUJOLAISE**

**INFLUENCE OF THE LIQUID OR GAZEOUS NATURE  
OF THE GRAPE BERRIES ENVIRONMENT  
ON RHEOLOGICAL PROPERTIES AND ON COLOUR  
AND NITROGEN EXTRACTABILITIES DURING CONDITIONS  
SIMULATING THE BEAUJOLAIS WINE-MAKING PROCESS**

Ph. ABBAL\*, J. SARRIS\*, Martine PRADAL\*, J.-L. BERGER\*\* et J.-P. ROBIN\*

\*Unité de Recherche de Biochimie Métabolique et Technologie,  
Institut des Produits de la Vigne, INRA, 2 Place Pierre Viala, 34060 Montpellier (France).

\*\*Institut Technique du Vin Rhône-Alpes, Sicarex Beaujolais, 69400 Villefranche/Saône (France).

**Résumé :** L'étude concerne les évolutions de certaines caractéristiques physicochimiques des baies au cours de conditions simples simulant la vinification beaujolaise. Afin de simuler le procédé, deux échantillons identiques de baies mures des cépages Gamay et Carignan ont été introduits dans un même récipient et soumis à une anaérobiose carbonique. Un échantillon est maintenu en atmosphère gazeuse et l'autre est immergé dans un liquide qui peut être une solution aqueuse d'éthanol à 6 p. cent (v/v), la même solution contenant en plus 1 M de sorbitol ou encore le moût issu du broyage des baies. Le but des expérimentations a été d'étudier les effets de l'éthanol sur les propriétés rhéologiques et sur les extractibilités de couleur et d'azote des deux catégories de baies. Quel que soit le modèle, on vérifie que l'éthanol a un effet délétère notamment sur les baies maintenues immergées : le développement du métabolisme anaérobie est fortement réduit, et les extractibilités des composés azotés et de ceux qui sont responsables de la couleur sont significativement augmentées. Parmi ces dernières molécules, les pigments et copigments anthocyaniques sembleraient préférentiellement extraits. Les propriétés rhéologiques de ces baies seraient dépendantes de la contrainte osmotique imposée par la composition du milieu d'immersion. On fait l'hypothèse que des phénomènes d'hydratation ou de déshydratation des polymères glucidiques pariétaux pourraient expliquer les différences de comportement rhéologique des baies et notamment les modifications de leur élasticité pelliculaire.

**Abstract :** This study concerns the evolutions of some physicochemical characteristics of berries during conditions simulating the beaujolais wine-making process. In this process, a large number of intact berries is kept in a CO<sub>2</sub> atmosphere which is produced by ethanolic fermentation of the must in the bottom of the tank. To simulate this, two equivalent samples of ripe Gamay or Carignane berries were placed in the same jar and subjected to carbonic anaerobiosis. One sample was maintained in the gaseous atmosphere and the other submerged in the liquid which was either an aqueous solution of 6 p. cent ethanol (v/v), the same solution with 1 M sorbitol, or grape must obtained from crushed berries. The aim of these experiments was to study, in both submerged and non-submerged samples, the effects of ethanol on rheological properties of berries and on potential extractabilities of colour and soluble nitrogen from skin and berry flesh. Whatever the model, ethanol had a deleterious effect on berries, especially on those which were immersed. For those, the development of anaerobic metabolism was drastically reduced, but nitrogenous and colouring compounds extractabilities were significantly increased. The anthocyanins and their copigments seem to be preferentially extracted when berries were immersed. The rheological properties were related to the osmotic strength of the submerging liquid. It was assumed that hydration or dehydration phenomenons of cell-wall polysaccharides could explained the differences observed in the rheological behaviour of berries and in particular the modifications of their pellicular elasticity.

**Mots clés :** raisin, vin, *Vitis vinifera* L., Beaujolais, vinification, métabolisme anaérobie, éthanol, propriétés rhéologiques, couleur des moûts, polyphénols.

**Key-words :** grape, wine, *Vitis vinifera* L., Beaujolais, wine-making process, anaerobic metabolism, ethanol, rheological properties, must colour, phenolic compounds.

## INTRODUCTION

Dans la vinification par macération carbonique (BURET *et al.*, 1975 ; FLANZY *et al.*, 1987) et la vinification beaujolaise (DESCOUT, 1989), les baies de raisin sont soumises à un métabolisme anaérobie (FLANZY, 1978) qui se produit à la fois en phase gazeuse et en phase liquide. Ce métabolisme génère de l'éthanol, du gaz carbonique, et des composés qui impriment aux vins des caractères très particuliers, notamment en ce qui concerne la couleur et l'arôme.

Dans la vinification beaujolaise, une partie importante de vendange intacte se trouve immergée dans le moût qui résulte de l'écrasement du raisin à l'encuvage. Selon les caractéristiques mécaniques des baies et la hauteur de chute dans la cuve de vinification, une quantité plus ou moins importante de baies intactes se trouve en contact avec le moût dans la partie inférieure de la cuve. La faible intensité du métabolisme anaérobie qui se développe dans les baies immergées durant cette vinification, ainsi que les échanges entre celles-ci et le moût ont déjà été mentionnés (BENARD *et al.*, 1971 ; BURET *et al.* 1975, 1976 ; FLANZY *et al.*, 1987). Cependant, les effets spécifiques liés aux propriétés du liquide qui environne les baies, telles que l'influence des concentrations en éthanol et en sucres, sur les propriétés rhéologiques des baies et sur les possibilités d'extraction de composés majeurs sont encore mal connus.

L'étude présentée vise notamment à comparer et à mieux comprendre les effets provoqués par l'éthanol sur les baies intègres présentes : d'une part, dans le moût en fond de cuve qui baigne les baies immergées et d'autre part dans la phase gazeuse en hypoxie. À partir de modèles expérimentaux simples, nous avons examiné les propriétés rhéologiques et l'extractibilité des composés phénoliques et azotés. Le travail avait également pour but de déterminer si le liquide d'immersion ou les sucres présents dans le moût au début de la

vinification avaient joué un rôle osmotique susceptible de modifier les propriétés rhéologiques des baies immergées et/ou l'extraction de leurs constituants.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### I - MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les deux cépages utilisés, le Gamay noir à jus blanc, cépage typique de l'appellation Beaujolais, ainsi que le Carignan noir, proviennent du vignoble de la Station Expérimentale de l'IPV-INRA à Pech-Rouge, Aude. L'utilisation du cépage Carignan se justifie par le fait que celui-ci est bien adapté à la vinification par macération carbonique, autre technologie qui met en œuvre le métabolisme anaérobie.

Les baies issues de 3 kg de raisin récolté à maturité (tableau I) sont séparées de la rafle par section du pédicelle au dessus du bourrelet. Après tri, lavage à l'eau courante et épongeage sur papier absorbant, des échantillons de 200 baies (environ 300 g) sont constitués selon la méthode décrite par FLANZY *et al.* (1969).

### II - PROTOCOLES DE MODÉLISATION DE LA VINIFICATION BEAUJOLAISE

Compte tenu des objectifs de l'étude, trois modèles simulant de plus en plus précisément les conditions de la vinification beaujolaise ont été mis en œuvre en utilisant des bocaux de type Keller, de 1,5 l de capacité (figure 1) :

- modèle I : dans le même bocal, baies immergées dans une solution hydroéthanolique non tamponnée, à une concentration en éthanol voisine de celle régnant

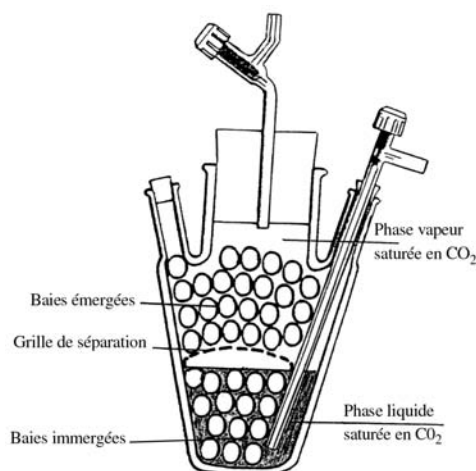


Fig. 1 - Le bocal Keller avec les deux catégories de baies.

Fig. 1 - The Keller jar with the two types of berries.

TABLEAU I

### Principales caractéristiques biochimiques des raisins utilisés dans l'étude

Table I - Biochemical characteristics of studied grapes

	Sucres (g.l <sup>-1</sup> )	pH du moût	Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .l <sup>-1</sup> )	Indice de maturité*
Gamay 95	182	3,12	6,6	27,6
Carignan 95	186	3,15	4,0	46,6
Carignan 96	192	3,43	9,3	20,9
Gamay 98	181	3,56	4,5	40,1
Carignan 98	213	3,52	3,7	56,8

\* rapport sucres sur acidité totale

dans un moût à mi-fermentation (6 p. cent v/v) et baies émergées ;

- modèle II : dans le même bocal, baies immergées dans la solution précédente contenant en plus 180 g.l<sup>-1</sup> de sorbitol et 10 g.l<sup>-1</sup> d'acide citrique, ajustée à pH 3,3 par de la soude, et baies émergées ; le sorbitol, sucre non fermentescible, reproduit à la concentration de 1 M la pression osmotique d'un moût contenant sensiblement la même concentration en sucres réducteurs ; par ailleurs, le choix de l'acide citrique à la concentration indiquée reproduit sensiblement les conditions d'acidité d'un moût de départ, il se justifie aussi par le fait que cet acide ne précipite pas au froid contrairement à l'acide tartrique, des refroidissements rapides étant requis pour les besoins analytiques ;

- modèle III : dans le même bocal, baies immergées dans le moût correspondant, et baies émergées ; ces dernières conditions étant celles qui se rapprochent le plus des conditions de la pratique.

Ainsi, pour chaque durée de macération et pour chacun des modèles, un premier échantillon de 200 baies (baies immergées, BI) est plongé dans 200 ml de liquide hydroéthanolique (modèles I et II) ou de moût frais (modèle III). Un échantillon identique (baies émergées, BE) est ensuite introduit au-dessus d'une grille de séparation en métal souple. Dans le cas du modèle II, 100 µl de phénol sont ajoutées au liquide afin de limiter un développement levurien. Les bocaux sont ensuite fermés et saturés à pression atmosphérique par un courant de CO<sub>2</sub> pendant dix minutes, afin de simuler l'hypoxie régnant dans une cuve en cours de fermentation, puis ils sont placés dans une chambre noire régulée à 30 °C. Les échantillons de baies et les liquides sont retirés, pour analyse, après des durées de macération variant de 0 à 8 jours.

### III - PRÉPARATION DES MOÛTS

Après séjour en anaérobiose, les baies de chaque lot et le liquide d'immersion correspondant sont rapidement refroidis à une température de 2 à 4 °C par un bain de glace et balayés par un fort courant d'azote pendant 30 min, afin de limiter les phénomènes d'oxydation. 100 baies de chacun des échantillons sont prélevées pour la mesure des caractéristiques rhéologiques. Les 100 baies restantes sont broyées manuellement au presse purée sous le même courant d'azote et à froid (ce mode de broyage doux est celui qui se rapproche le plus des conditions classiques de pressurage de la vendange). Dans le moût obtenu, après centrifugation à 8 000 g max pendant 20 min et à 4 °C, on détermine les teneurs en éthanol et en azote soluble total.

Pour chacun des modèles, la préparation du moût témoin est réalisée, par la même méthode, à partir de 100 baies d'un échantillon identique à ceux introduits dans les bocaux, les 100 autres baies de cet échantillon étant utilisées pour la détermination des caractéristiques au temps zéro.

Les 200 ml de moût utilisés comme liquide d'immersion dans le cas du modèle III sont aussi obtenus par le même type de broyage, à partir de 300 g de baies. Après centrifugation, le moût est placé dans le bocal juste avant l'introduction des baies et le démarrage de l'anaérobiose.

## IV - DÉTERMINATION ANALYTIQUE

### 1) Éthanol

Pour chaque durée d'anaérobiose, l'intensité du métabolisme anaérobie qui s'est développé dans les baies immergées et émergées est estimée par dosage de l'éthanol dans les moûts correspondants. Afin de tenir compte, dans le cas des baies immergées, des phénomènes de diffusion en phase liquide, l'éthanol est également dosé dans les liquides d'immersion. La méthode d'analyse utilisée est la chromatographie en phase gazeuse d'une aliquote de l'espace de tête selon SARRIS *et al.* (1987). Les résultats sont exprimés en pourcentage volumique. La répétabilité du dosage de l'éthanol est de ± 5 p. cent.

### 2) Composés phénoliques et couleur

L'extractibilité des molécules polyphénoliques responsables de la couleur des liquides d'immersion et des moûts issus du broyage des baies, ayant subi l'anaérobiose en milieu liquide ou gazeux, est estimée par spectrophotométrie.

Une aliquote de 2 ml de liquide ou de moût est centrifugée pendant 5 min à 10 000 g max, à 4°C, dans des tubes Eppendorf de 2 ml. Le surnageant est rapidement placé dans une cuve en quartz de 1 cm de trajet optique et les absorbances à 280, 420, 520 et 620 nm sont mesurées toutes les deux minutes, pendant 10 min, ceci afin de contrôler la stabilité des différentes absorbances. Lorsque celles-ci sont instables au cours de la mesure, la valeur retenue est celle qui correspond à l'extrapolation de la cinétique au temps zéro. La cuve de référence contient de l'eau pour les moûts, de l'éthanol à 6 p. cent pour les solutions synthétiques (modèles I et II) et pour le moût fermenté (modèle III). La somme des absorbances à 420, 520 et 620 nm correspond à l'indice de coloration modifié (ICM), selon BLOUIN (1992).

### 3) Azote soluble

Pour les trois modèles, l'azote soluble extractible (essentiellement acides aminés et peptides) est dosé dans les surnageants de centrifugation des moûts. Pour tenir compte des transferts entre baies et phase liquide, l'azote soluble est aussi dosé dans les liquides d'immersion.

La concentration en azote est calculée à partir du dosage colorimétrique de l'ammonium formé après minéralisation en présence d'acide, selon la méthode de MOLL *et al.* (1975) et de FISHER et GURNSEY (1987).

### 4) Caractéristiques rhéologiques des baies

Ces déterminations sont réalisées à l'aide du rhéomètre Pénélaup<sup>®</sup> qui mesure la résistance des baies jusqu'à leur éclatement (ABBAL *et al.*, 1992). Les conditions imposées à l'appareil sont les suivantes : déformation maximale fixée à 40 p. cent du diamètre des baies (déplacement suffisant pour éclater la majorité d'entre elles), vitesse d'écrasement fixée à 1 mm.s<sup>-1</sup>. Pour chacun des lots de 100 baies, les paramètres moyens résultent de l'analyse des 100 courbes de déformation selon ROBIN *et al.* (1997). On s'intéressera :

- à la fermeté à la rupture (*fr*) qui est égale au rapport entre la contrainte au moment de l'éclatement des baies et le déplacement correspondant ; ce rapport qui a été défini jusqu'à présent comme représentant la fermeté des baies (ABBAL *et al.*, 1992), correspondrait en fait au coefficient d'élasticité pelliculaire,

- à la fermeté initiale (*fi*) qui est égale au rapport entre la contrainte au démarrage de la déformation (mesurée à 4 p. cent du diamètre des baies) et le déplacement correspondant ; ce rapport correspondrait au coefficient d'élasticité au début de la déformation,

- à l'indice de turgescence ou de gonflement des baies calculé à partir de la différence entre la fermeté à la rupture et la fermeté initiale (si  $\Delta$  est cette différence exprimée en pourcentage de *fr*, l'indice de gonflement (*ig*) sera égal à  $1 - 10^{-2} \Delta$ ), et enfin,

- au pourcentage de baies à comportement rhéologique normal (répondant à  $fr - fi \geq 0$ ). Ce pourcentage renseigne sur le niveau global d'intégrité des baies de l'échantillon.

## RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

Les résultats utilisés pour illustrer chaque partie de l'exposé ont été choisis à partir de diverses expérimentations menées depuis 1995 sur les effets de l'éthanol en vinification beaujolaise. Ils sont à considérer comme des exemples décrivant les tendances généralement observées, indépendamment de la nature du cépage ou du millésime.

### I - ESTIMATION DE L'IMPORTANCE DU MÉTABOLISME ANAÉROBIE DEVELOPPÉ DANS LES BAIES

- **Modèle I.** La concentration en éthanol dans la solution d'immersion diminue fortement tandis que les baies immergées comme émergées s'enrichissent au cours du temps (figure 2A, Gamay 95). Une part de cet enrichissement peut s'expliquer par la diffusion de l'éthanol depuis le milieu liquide vers les baies : il s'agit essentiellement d'un transfert vers les baies immergées, bien qu'un enrichissement à partir des vapeurs d'alcool de la phase gazeuse soit possible (FONVILLE-BAGNOL, 1996). Une autre part proviendrait du métabolisme anaérobie, celui-ci étant nettement plus intense pour les baies émergées que pour les baies immergées (BURET *et al.*, 1976). L'effet destructurant de faibles concentrations en éthanol vis-à-vis des membranes et son effet inhibiteur vis-à-vis des activités enzymatiques étant démontrés (ROMIEU *et al.*, 1989, 1992 ; TERRIER et ROMIEU, 1997), l'absorption d'éthanol par les baies immergées dès le début de l'anaérobiose inhiberait d'emblée le métabolisme anaérobie alors que les baies émergées continueraient un peu plus longtemps à produire de l'éthanol par cette voie.

- **Modèle II.** Les résultats sont globalement voisins de ceux obtenus dans le cas du modèle I (figure 2B, Carignan 98). La concentration en éthanol dans la solution d'immersion chute ici fortement (3 p. cent) dès les deux premiers jours d'anaérobiose. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le sorbitol 1 M dans le liquide d'immersion peut augmenter la pression partielle de l'éthanol dans la phase gazeuse. Si c'est le cas, cette pression partielle plus élevée ne semble pas cependant se traduire par une plus forte diffusion d'éthanol vers les baies émergées. Dans celles-ci, la majeure partie de l'éthanol serait issue du métabolisme anaérobie. La concentration à 7 jours d'anaérobiose reste en deçà de la valeur limite (2 p. cent) généralement mesurée pour le métabolisme anaérobie en phase gazeuse (FLANZY *et al.*, 1980).

- **Modèle III.** On observe aussi avec ce modèle que la teneur en éthanol des baies émergées ne dépasse pas

la valeur limite de 2 p. cent (figure 2C, Carigan 96). Dans les baies immergées du même modèle, on constate une augmentation notable de la concentration en éthanol. Ce résultat indique clairement que de l'éthanol exogène provenant de la fermentation des sucres du moût a été absorbé, cet éthanol venant s'ajouter à celui produit par le métabolisme anaérobie en tout début de macération. Si l'on considère que l'intensité du métabolisme anaérobie en milieu liquide ne représente qu'environ 10 p. cent de ce qu'il est en phase gazeuse (BURET *et al.*, 1976), on peut considérer que la concentration en éthanol présente dans les baies immergées est majoritairement due à de l'éthanol absorbé depuis la phase liquide.

**II - INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT HYDROÉTHANOLIQUE DES BAIES SUR LEUR CARACTÉRISTIQUES RHÉOLOGIQUES**

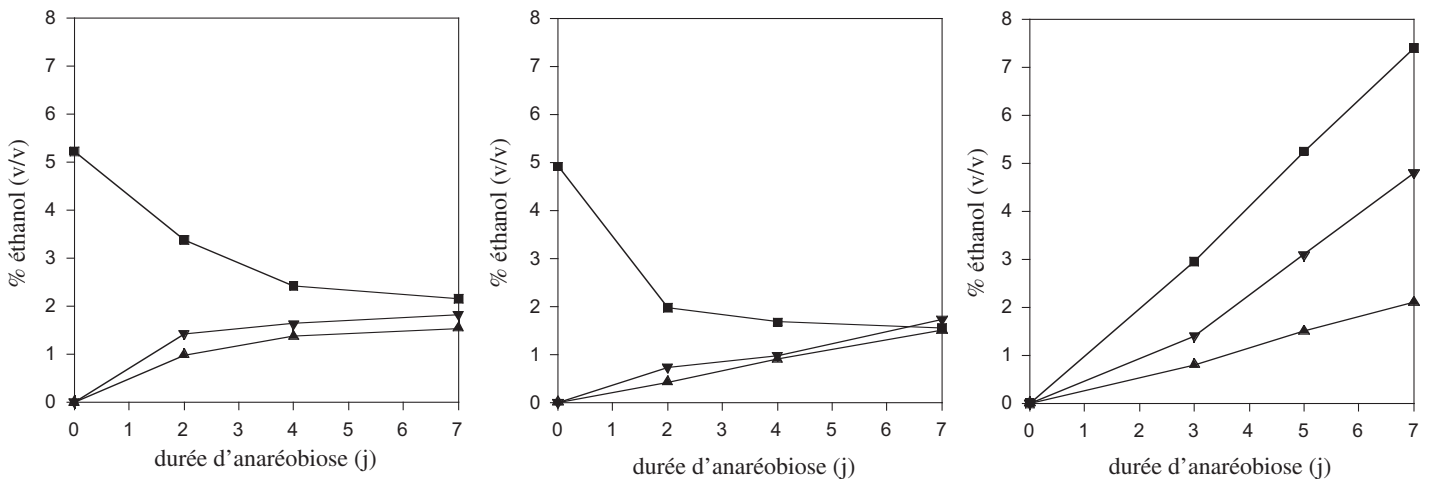
- Modèle I. Qu'il s'agisse des baies émergées ou immergées, les variations de fermeté à la rupture sont relativement faibles dans le cas du cépage Gamay 95 (figure 3A), elles sont plus importantes dans le cas du cépage Carignan 95 (non illustré). D'une façon générale, il y a toujours une diminution de cette fermeté au cours des deux premiers jours d'anaérobiose. Au-delà, elle augmente dans le cas des baies émergées, pour retrouver un niveau équivalent au niveau initial, ou bien reste à peu près constante ou diminue légèrement pour les baies immergées (à 7 jours, moins 13 p. cent pour le Gamay, moins 33 p. cent pour le Carignan). Les variations de l'indice de gonflement des baies et

du pourcentage de baies normales sont illustrées respectivement par les figures 3B et 3C.

Un certain nombre d'éléments peuvent être pris en compte pour tenter d'expliquer les comportements rhéologiques observés.

Pour les baies émergées, la chute de la fermeté à la rupture au début de l'anaérobiose pourrait provenir de la déshydratation des baies (une chute d'environ 2 p. cent de leur poids moyen est observée quel que soit le cépage) ou de la fragilisation de leur pellicule en présence des vapeurs d'éthanol présentes dans l'atmosphère ; cette chute de fermeté paraît cependant contradictoire avec l'augmentation de l'indice de gonflement des baies pendant cette même période, augmentation que l'on peut attribuer à l'absorption du CO<sub>2</sub> de l'atmosphère, phénomène qui a toujours lieu au début du métabolisme anaérobie (FLANZY *et al.*, 1987). Au-delà de cette période pendant laquelle les baies produisent du CO<sub>2</sub> et de l'éthanol, la fermeté augmente et l'indice de gonflement diminue, la valeur de ces deux paramètres retournant sensiblement à leur valeur d'origine.

Dans le cas des baies immergées, la chute observée pour la fermeté à la rupture et surtout l'augmentation de l'indice de gonflement, au début de l'anaérobiose, pourraient s'expliquer par un effet osmotique (le milieu externe n'étant pas tamponné). Les baies absorberaient de la solution d'immersion provoquant de ce fait une augmentation importante de



**Fig. 2 - Evolution de la teneur en éthanol en fonction de la durée d'anaérobiose.**

**A : modèle I (Gamay 1995) ; B : modèle II (Carignan 1998) ; C : modèle III (Carignan 1996).**

—▲— baies émergées —▼— baies immergées —■— liquide d'immersion

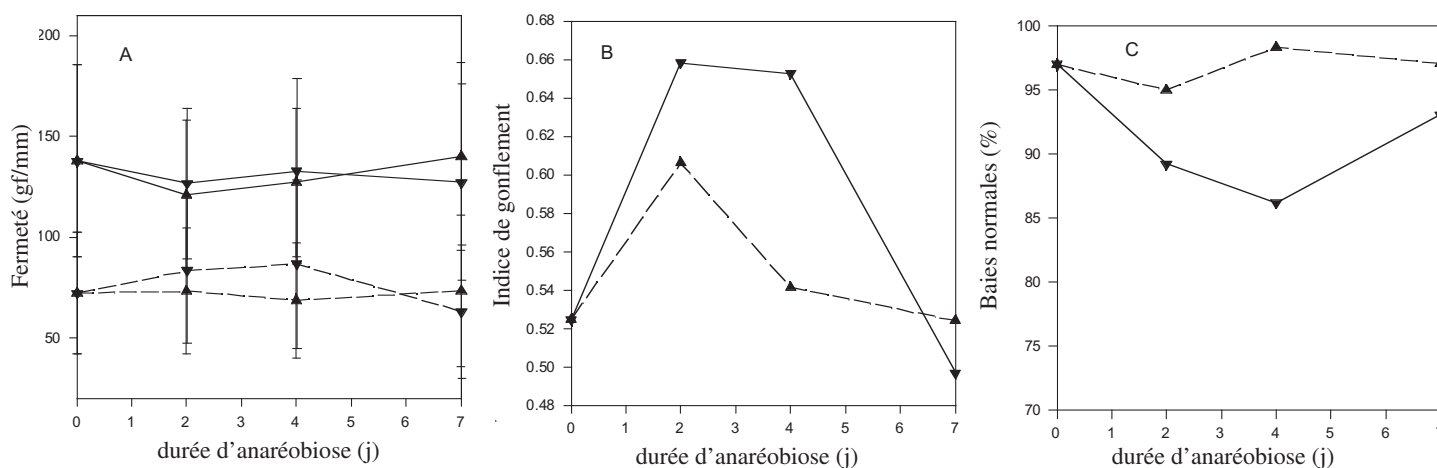
**Fig. 2 - Evolution of ethanol concentration versus anaerobiosis time.**

**A : model I (Gamay 1995) ; B : model II (Carignane 1998) ; C : model III (Carignane 1996).**

—▲— emerged berries —▼— submerged berries —■— submerging liquid

l'indice de gonflement et l'éthanol absorbé du même coup inhiberait d'emblée le métabolisme anaérobie tout en commençant à fragiliser les structures membranaires. Au-delà de cette période, l'amplification de ces effets provoquerait le dégonflement des baies probablement par décompartmentage de leur organisation cellulaire, cet effet ne se traduisant pas de façon notable sur la fermeté.

L'évolution du pourcentage de baies normales pour les deux catégories de baies est donnée en figure 3C. Si l'intégrité des baies émergées est globalement conservée au cours du traitement d'anaérobiose, il apparaît que celle des baies immergées l'est nettement moins, constat qui s'accorde tout à fait avec les résultats et les interprétations qui ont été précédemment formulés.

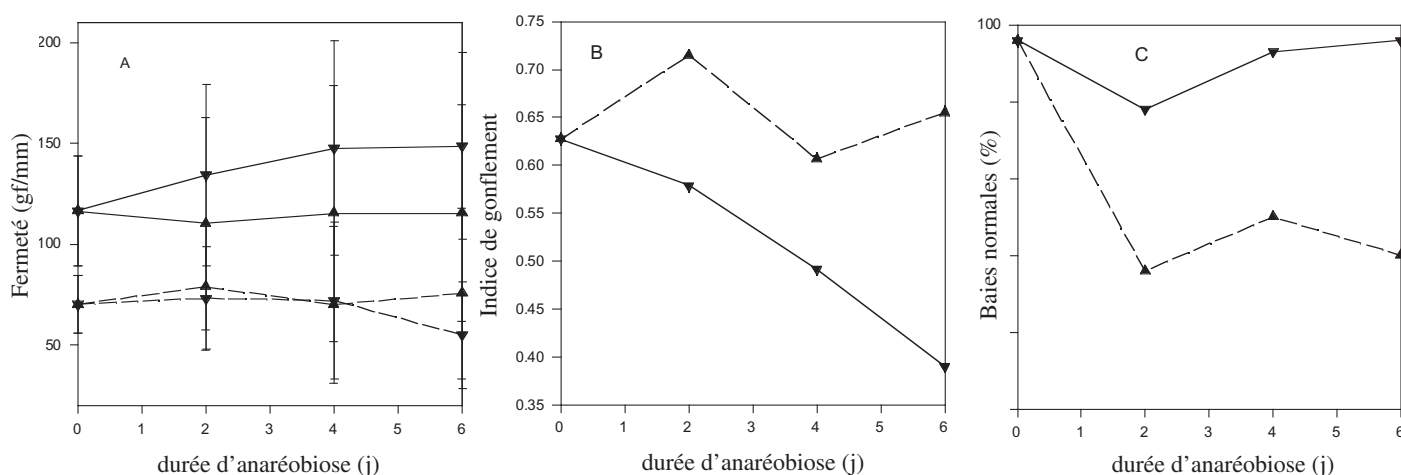


**Fig. 3 - Evolutions des caractéristiques rhéologiques des baies du modèle I (Gamay 1995) en fonction de la durée d'anaérobiose.**

A : fermeté à la rupture des baies émergées —▲—, fermeté à la rupture des baies immergées —▼—, fermeté initiale des baies émergées —▲--, fermeté initiale des baies immergées —▼--. B : indice de gonflement des baies émergées —▲--, indice de gonflement des baies immergées —▼—. C : pourcentage de baies émergées normales —▲--, pourcentage de baies immergées normales —▼—.

**Fig. 3 - Evolutions of the rheological properties of the model I berries (Gamay 1995) versus the anaerobiosis time.**

A : firmness at bursting of emerged berries —▲—, firmness at bursting of submerged berries —▼—, initial firmness of emerged berries —▲--, initial firmness of submerged berries —▼--. B : swelling index of emerged berries —▲--, swelling index of submerged berries —▼—. C : percentage of normal emer-



**Fig. 4 - Evolutions des caractéristiques rhéologiques des baies du modèle II (Gamay 1998) en fonction de la durée d'anaérobiose.**

A : fermeté à la rupture des baies émergées —▲—, fermeté à la rupture des baies immergées —▼—, fermeté initiale des baies émergées —▲--, fermeté initiale des baies immergées —▼--. B : indice de gonflement des baies émergées —▲--, indice de gonflement des baies immergées —▼—. C : pourcentage de baies émergées normales —▲--, pourcentage de baies immergées normales —▼—.

**Fig. 4 - Evolutions of the rheological properties of the model II berries (Gamay 1998) versus the anaerobiosis time.**

A : firmness at bursting of emerged berries —▲—, firmness at bursting of submerged berries —▼—, initial firmness of emerged berries —▲--, initial firmness of submerged berries —▼--. B : swelling index of emerged berries —▲--, swelling index of submerged berries —▼—. C : percentage of normal emerged berries —▲--, percentage of normal submerged berries —▼—.

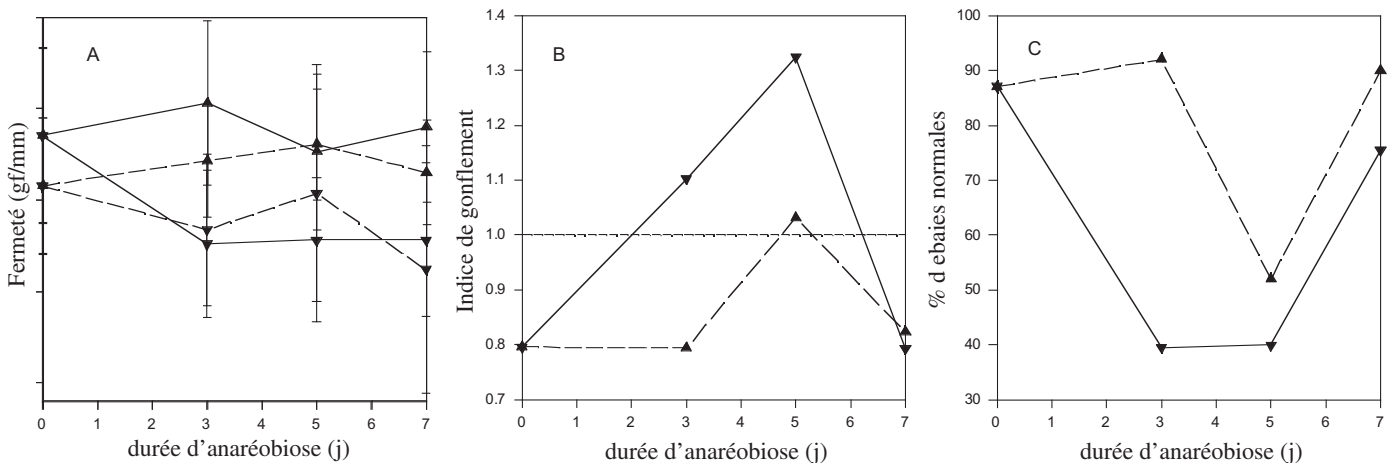
- **Modèle II.** Si dans les conditions de ce modèle le comportement des baies émergées est voisin de celui observé dans le cas du modèle I, il n'en est pas de même pour les baies immergées (figure 4, Gamay 98). En effet, les baies immergées dans la solution contenant du sorbitol et de l'acide citrique réagissent de façon très différente : la fermeté à la rupture augmente significativement au cours de l'anaérobiose (figure 4A), l'indice de gonflement diminuant fortement (figure 4B). Le dégonflement de ces baies pourrait aussi s'expliquer par un effet osmotique, celui-ci étant inversé par rapport au premier modèle : les baies perdent de l'eau (leur poids moyen diminue de 16 p. cent, entre 0 et 6 j), bien que leur concentration en sucres (tableau I) soit voisine (1 M) de celle du sorbitol dans la solution. Cette déshydratation des baies aurait pour conséquence une augmentation de leur fermeté à la rupture. Si l'on admet que ce paramètre représente le coefficient d'élasticité pelliculaire (ROBIN *et al.*, 1997), on peut donc conclure qu'il y a eu modification de la structure des pellicules. Les évolutions des pourcentages de baies normales illustrées en figure 4C indiquent par ailleurs, contrairement à ce qui a été observé dans le cas du modèle I, que l'intégrité des baies immergées est supérieure à celle des baies émergées. Ce résultat suggère que l'effet osmotique pourrait entraver l'absorption de l'éthanol de la solution par les baies, phénomène qui limiterait son action inhibitrice vis-à-vis du métabolisme anaérobie ainsi que son effet destructurant vis-à-vis des membranes cellulaires.

- **Modèle III.** On constate que les résultats ne sont pas globalement très différents de ceux mentionnés dans

le cas du premier modèle (figure 5, Carignan 96). Cependant, la fermeté à la rupture des baies immergées apparaît ici nettement diminuée au cours des premiers jours d'anaérobiose (chute d'environ 48 p. cent), celle des baies émergées étant faiblement modifiée. Il apparaît, contrairement à ce qui se passe dans le cas du modèle II, que les baies immergées gonflent fortement au point de présenter un comportement rhéologique atypique ( $ig > 1$ , figure 5B), comportement qui est aussi attesté par la forte diminution du pourcentage de baies normales (figure 5C). La concentration en éthanol produite par fermentation rapide des sucres du moût (figure 2C) et l'entraînement de cette molécule dans les baies à travers leur pellicule seraient donc suffisants pour provoquer la destruction des tissus de la baie et/ou le décompartimentage des cellules ainsi que des modifications dans la structure des pellicules. L'effet osmotique protecteur lié à la présence de sucres dans le liquide d'immersion, effet envisagé pour expliquer les résultats obtenus sur le modèle II, n'aurait pas ici le temps de se manifester du fait de la fermentation rapide des sucres par les levures indigènes du moût. Au-delà de 5 jours d'anaérobiose les destructurations sont telles qu'il n'est plus possible d'interpréter la variation des paramètres.

### III - INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT HYDROÉTHANOLIQUE DES BAIES SUR LES EXTRACTIBILITÉS DE LA COULEUR ET DE L'AZOTE

1) Extractibilité des composés support de la couleur



**Fig. 5 - Evolutions des caractéristiques rhéologiques des baies du modèle III (Carignan 1996) en fonction de la durée d'anaérobiose.**

A : fermeté à la rupture des baies émergées —▲—, fermeté à la rupture des baies immergées —▼—, fermeté initiale des baies émergées --▲--, fermeté initiale des baies immergées --▼--. B : indice de gonflement des baies émergées --▲--, indice de gonflement des baies immergées —▼—. C : pourcentage de baies émergées normales --▲--, pourcentage de baies immergées normales —▼—.

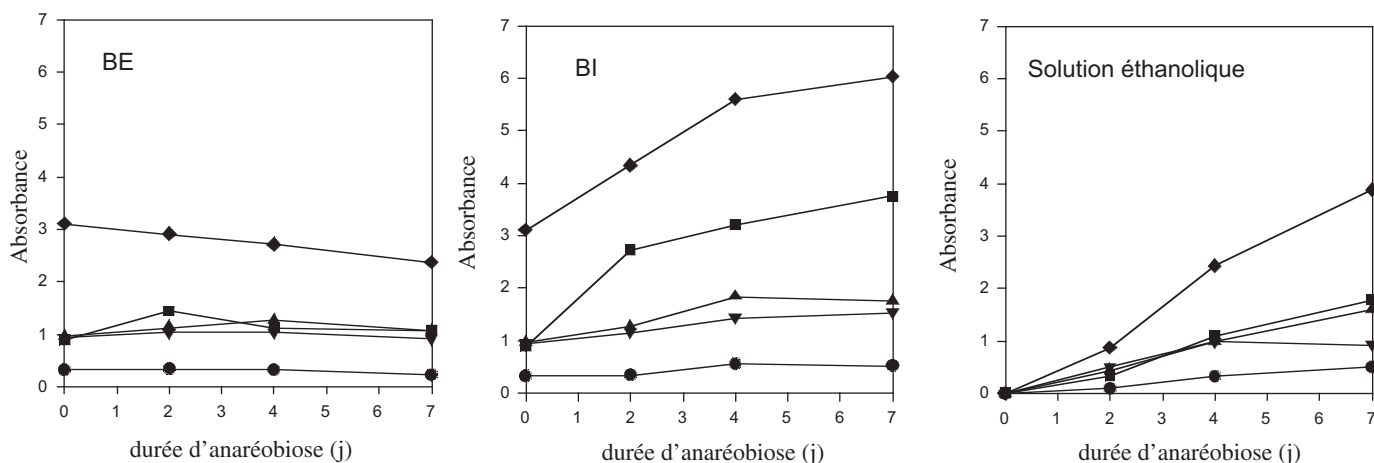
**Fig. 5 - Evolutions of the rheological properties of the model III berries (Carignan 1996) versus the anaerobiosis time.**

A : firmness at bursting of emerged berries —▲—, firmness at bursting of submerged berries —▼—, initial firmness of emerged berries --▲--, initial firmness of submerged berries --▼--. B : swelling index of emerged berries --▲--, swelling index of submerged berries —▼—. C : percentage of normal emerged berries --▲--, percentage of normal submerged berries —▼—.

- **Modèle I.** Les résultats présentés en figure 6 pour le cépage Gamay 95 indiquent clairement que l'extractibilité des composés absorbant à 520 nm est, dès les premiers jours d'anaérobiose, nettement plus importante dans le cas des baies immergées que dans celui des baies émergées. Ces composés, correspondant majoritairement aux anthocyanes et à leurs copigments, seraient donc plus disponibles dans les baies immergées et contribueraient de ce fait fortement à la couleur des moûts (ICM) résultant de leur broyage. Ce résultat est aussi obtenu sur le cépage Carignan 95 (non illustré). On peut noter que les extractibilités des autres

familles de composés évoluent peu au cours du traitement d'anaérobiose quelle que soit la catégorie de baies concernée. La différenciation observée entre les deux catégories de baies peut s'expliquer par le rôle destructurant de l'éthanol qui est rentré plus facilement dans les baies, suite à leur gonflement par effet osmotique (figure 3B).

- **Modèle II.** L'ajout de sorbitol dans la solution d'immersion ne semble pas modifier fondamentalement les extractibilités des composés phénoliques (figure 7, Gamay 98). On observe également l'extra-

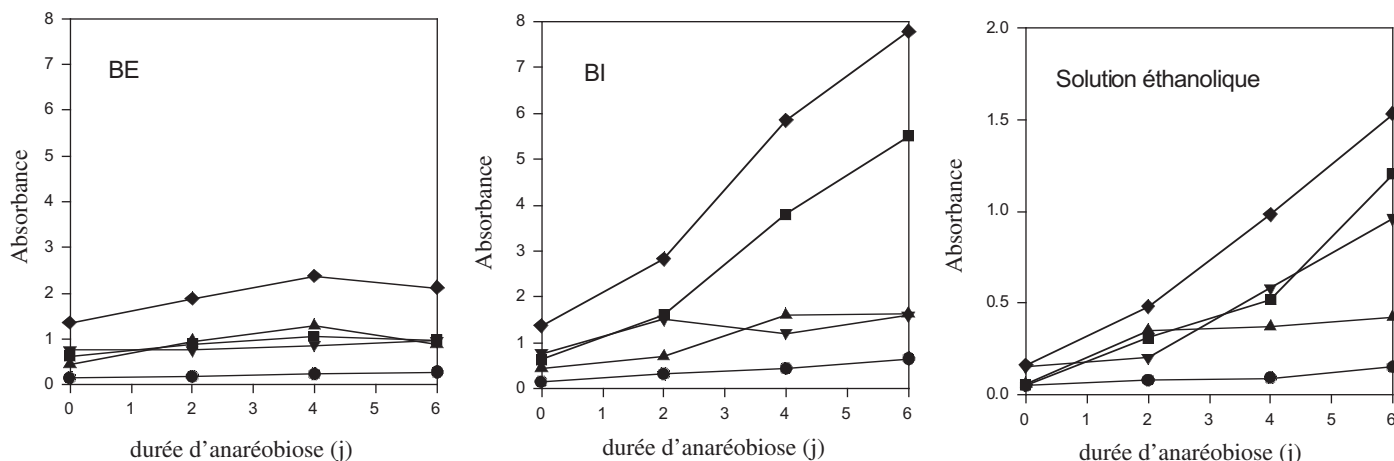


**Fig. 6 - Evolutions des absorbances des moûts et de la solution synthétique d'immersion dans le cas du modèle I (Gamay 1995), en fonction de la durée d'anaérobiose.**

Absorbances à 280 nm (dil. 1/15) : ▼, à 420 nm : ▲, à 520 nm : ■, à 620 nm : ● ; ICM : ◆. BE : baies émergées ; BI : baies immergées.

**Fig. 6 - Evolutions of the absorbancies of musts and of submerging synthetic solution for the model I (Gamay 1995), versus the anaerobiosis time.**

Absorbancies at 280 nm (diluted 1/15) : ▼, at 420 nm : ▲, at 520 nm : ■, at 620 nm : ● ; ICM : ◆. BE : emerged berries ; BI : submerged berries.



**Fig. 7 - Evolutions des absorbances des moûts et de la solution synthétique d'immersion dans le cas du modèle II (Gamay 1998), en fonction de la durée d'anaérobiose.**

Absorbances à 280 nm (dil. 1/15) : ▼, à 420 nm : ▲, à 520 nm : ■, à 620 nm : ● ; ICM : ◆. BE : baies émergées ; BI : baies immergées.

**Fig. 7 - Evolutions of the absorbancies of musts and of submerging synthetic solution for the model II (Gamay 1998), versus the anaerobiosis time.**

Absorbancies at 280 nm (diluted 1/15) : ▼, at 420 nm : ▲, at 520 nm : ■, at 620 nm : ● ; ICM : ◆. BE : emerged berries ; BI : submerged berries.



ctibilité préférentielle des anthocyanes et copigments dans le cas des baies immergées. Par rapport au premier modèle, les facteurs d'amplification de l'extractibilité, calculés entre le temps zéro et la fin du traitement, sont ici plus élevés : l'absorbance à 520 nm est multipliée par 8, celle à 420 nm par 4 et l'ICM par 6, contre respectivement 4, 1,8 et 2 dans le cas du Gamay 95 en modèle I.

Par contre, l'observation de plus faibles niveaux d'absorbance atteints dans la solution éthanolique d'immersion (à 8 jours, l'absorbance à 520 nm est ici 3 fois plus faible que dans le cas du modèle I), suggère que la présence d'un osmoticum de sorbitol et d'acide citrique dans la solution d'immersion doit entraver la diffusion des molécules depuis les baies vers le liquide. Ce phénomène osmotique pourrait expliquer les plus fortes concentrations en molécules support de couleur dans les baies immergées. Les modifications de structure pelliculaire envisagées pour expliquer l'augmentation de fermeté à la rupture pourraient aussi être la cause d'une plus forte rétention des molécules extractibles à l'intérieur des baies.

Dans le cas des baies émergées, les extractibilités de couleur ne sont pas très différentes de celles observées dans le cas du premier modèle.

- Modèle III. Qu'il s'agisse des baies émergées ou des baies immergées, les courbes d'évolution des extractibilités (figure 8, Carignan 96) des différentes familles de composés support de la couleur ne diffèrent pas sensiblement de celles observées dans le cas des modèles précédents. Les niveaux d'extractibilité

plus élevés atteints à 7 jours pour les baies immergées peuvent être mis en relation avec une plus forte concentration en éthanol dans le liquide. Il en est de même pour les concentrations atteintes dans le moût environnant les baies.

2) Extractibilité de l'azote

- Modèle I. La concentration augmente sensiblement au bout de deux jours d'anaérobiose pour les baies émergées, ce qui traduit bien la mise en place du métabolisme anaérobie dans ces baies, alors qu'une diminution également sensible intervient pour les baies immergées (figure 9A, Carignan 95). Par ailleurs, la solution éthanolique non tamponnée s'enrichit progressivement en azote pour atteindre 100 mg.l<sup>-1</sup> après 8 jours de macération. Il y a donc une diffusion notable des composés azotés depuis les baies immergées vers le liquide d'immersion.

- Modèle II. Par rapport au résultat précédent, la présence de sorbitol dans la solution ne semble pas trop affecter l'enrichissement de celle-ci en azote (figure 9B, Gamay 98). Comme dans le cas des polyphénols, l'effet osmotique qui se traduit surtout par un début de déshydratation des baies, ne supprime pas totalement la diffusion des molécules azotées depuis l'intérieur des baies vers le liquide d'immersion. Si l'on compare l'évolution de la concentration de ces molécules dans les baies immergées avec celle des baies immergées dans le cas du premier modèle, on constate comme pour les polyphénols qu'un frein à la diffusion doit exister puisqu'il y a non pas une diminution de concentration mais une augmentation dès les premiers jours

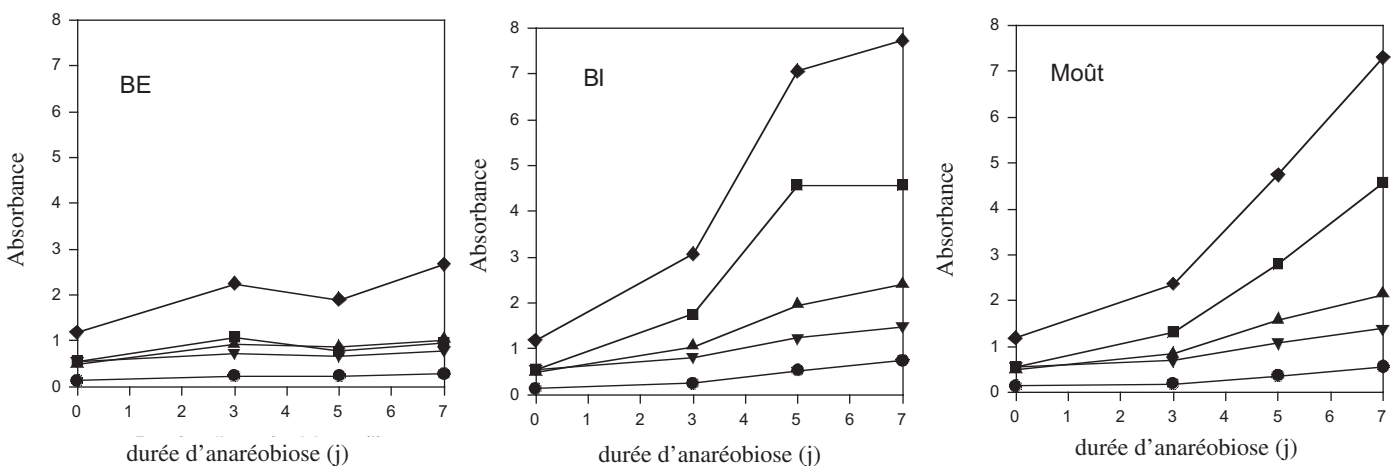
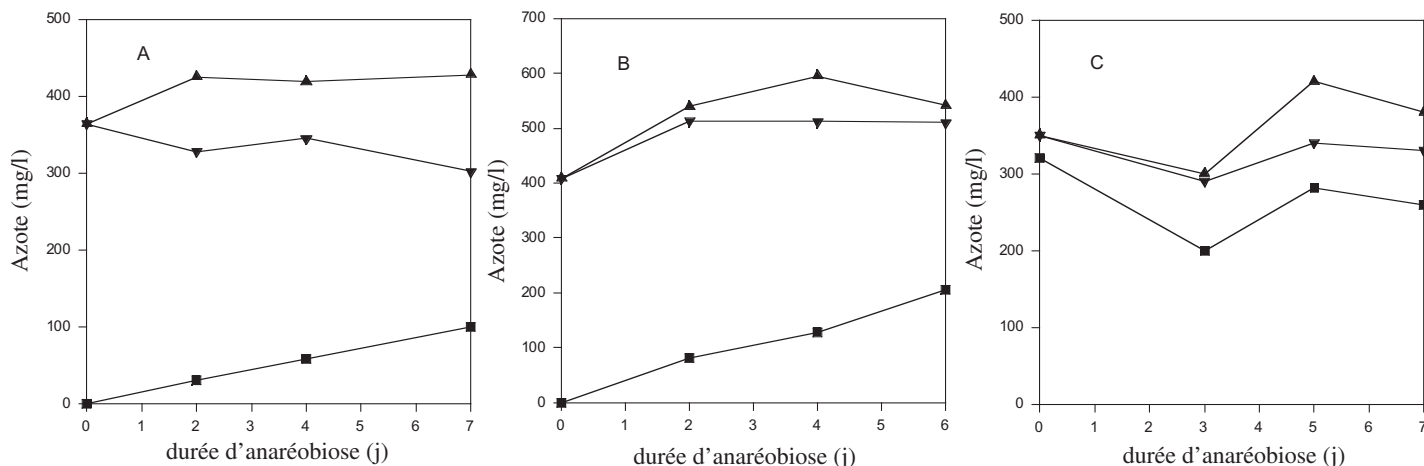


Fig. 8 - Evolutions des absorbances des moûts et de la solution synthétique d'immersion dans le cas du modèle III (Carignan 1996), en fonction de la durée d'anaérobiose.

Absorbances à 280 nm (dil. 1/15) : ▼, à 420 nm : ▲, à 520 nm : ■, à 620 nm : ● ; ICM : ◆. BE : baies émergées ; BI : baies immergées.

Fig. 8 - Evolutions of the absorbancies of musts and of submerging synthetic solution for the model III (Carignan 1996), versus the anaerobiosis time.

Absorbancies at 280 nm (diluted 1/15) : ▼, at 420 nm : ▲, at 520 nm : ■, at 620 nm : ● ; ICM : ◆. BE : emerged berries ; BI : submerged berries.



**Fig. 9 - Evolutions de l'azote soluble total extractible à partir des baies ou ayant diffusé dans les liquides d'immersion en fonction de la durée d'anaérobiose.**

**A : modèle I (Carignan 1995) ; B : modèle II (Gamay 1998) ; C : modèle III (Carignan 1996).**

—▲— : baies émergées, —▼— : baies immergées, —■— : liquides d'immersion.

**Fig. 9 - Evolutions of total soluble extractable nitrogen from berries or diffused in the submerging liquids versus anaerobiosis time.**

**A : model I (Carignane 1995) ; B : model II (Gamay 1998) ; C : model III (Carignane 1996).**

—▲— : emerged berries, —▼— : submerged berries, —■— : submerging liquids.

d'anaérobiose. Par rapport aux baies témoin (temps zéro), l'augmentation de la concentration en formes azotées simples (acides aminés et peptides) serait concomitante aux remaniements protéiques importants qui se produisent au cours du métabolisme anaérobie (FLANZY, 1978 ; FLANZY *et al.*, 1976).

De même que pour les composés phénoliques, la potentialité totale d'extraction de l'azote à partir des baies immergées correspond à la somme de l'azote ayant diffusé vers le liquide et de l'azote disponible resté dans la baie : ainsi, à huit jours de macération, les baies immergées présentent une extractibilité potentielle totale d'environ 380 mg.l<sup>-1</sup>. Cette valeur est obtenue en ajoutant l'azote présent dans le liquide (200 mg.l<sup>-1</sup>) à la concentration potentielle en azote dans les baies (380 mg.l<sup>-1</sup>).

- Modèle III. Le moût d'immersion s'appauvrit en azote pendant les trois premiers jours de macération (figure 9C, Carignan 96), les composés azotés du moût étant métabolisés par les levures. Au-delà, la remontée de concentration pourrait s'expliquer par un ralentissement de l'activité des levures. La concentration en azote extractible à partir des baies immergées diminue également pendant les premiers jours de macération. La variation observée dans le cas des baies émergées est plus difficile à interpréter.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Il a été montré que l'éthanol produit par métabolisme anaérobie dans les baies maintenues sous un envi-

ronnement gazeux pouvait provoquer une altération de la perméabilité des membranes cellulaires (ROMIEU *et al.*, 1989 ; TERRIER et ROMIEU, 1997) et l'inactivation d'enzymes indispensables au développement de ce type de métabolisme (ROMIEU *et al.*, 1992). Les résultats suggèrent qu'en milieu liquide la diffusion de l'éthanol depuis la solution vers la baie doit être très rapide et que les mécanismes qui viennent d'être évoqués doivent intervenir d'une façon nettement plus significative qu'en milieu gazeux, au point d'inhiber très rapidement le métabolisme anaérobie. Ces résultats sont tout à fait en accord avec les observations faites par BURET *et al.* (1976) qui indiquent que le métabolisme anaérobie en milieu liquide correspond à environ 10 p. cent de ce qu'il représente en milieu gazeux. On peut ainsi dire, avec ces auteurs, que l'éthanol acquis par les baies immergées serait plutôt d'origine exogène alors que l'éthanol acquis par les baies émergées est essentiellement issu de la mise en place du métabolisme anaérobie, au moins pendant les deux premiers jours d'anaérobiose. S'il est admis, avec FLANZY *et al.* (1987), que pendant cette période l'enrichissement en éthanol de la phase gazeuse ne perturbe pas fondamentalement l'induction du métabolisme en phase gazeuse, l'absorption croissante d'éthanol à partir de celle-ci (TESNIERE *et al.*, 1991 ; FONDEVILLE-BAGNOL, 1996) constitue, au-delà de cette durée et pour les mêmes raisons, un important frein à son développement. Ce sont ces raisons qui expliquent que dans la pratique, la concentration en éthanol produit par les baies développant un métabolisme anaérobie en phase gazeuse soit limitée à environ 2 p. cent (v/v) (FLANZY *et al.*, 1980).

L'immersion des baies provoque des modifications importantes de leurs propriétés rhéologiques. Pendant les premiers jours de macération en présence du liquide d'immersion ne contenant pas (modèle I) ou peu d'osmoticum (dans le modèle III les sucres sont éliminés très rapidement par fermentation), l'indice de gonflement des baies augmente. L'absorption d'eau, par effet osmotique, accélère la pénétration de l'éthanol à l'intérieur des baies et amplifie, de ce fait, la destruction des cellules. Concomitamment, la diminution de la fermeté à la rupture, paramètre que l'on considère comme représentant le coefficient d'élasticité pelliculaire, traduirait une modification de la structure des pellicules (cela pourrait être une augmentation de l'hydratation des parois pecto-cellulosiques). Au-delà de quatre ou cinq jours d'anaérobiose, les baies deviennent flasques par éclatement ou par déchirure de la pellicule (celle-ci démarre généralement au niveau de l'insertion du pédicelle). La diminution du pourcentage de baies normales rend assez bien compte de l'effet de destruction amplifié de l'éthanol dans le cas des baies immergées. L'ensemble de ces modifications a pour conséquence de rendre plus accessibles les solutés de la pulpe et des pellicules. Ces effets qui ont été qualifiés « de lessivage » en vinification beaujolaise (DESCOUT, 1989), concernent tout particulièrement les composés phénoliques des pellicules. Les moûts issus des baies immergées comme les solutions d'immersion, présentent des augmentations importantes d'absorbance, traduisant un enrichissement en composés rouges (520 nm), jaunes (420 nm) et en tanins (280 nm). Si ces résultats recoupent diverses observations antérieures (AUBERT et POUX, 1969a, b ; BURET *et al.*, 1976 ; FLANZY *et al.*, 1987), ils indiquent aussi que, quel que soit le cépage, le millésime ou la nature de l'environnement liquide des baies, les composés absorbant à 520 nm, c'est-à-dire essentiellement les anthocyanes et leurs copigments, seraient préférentiellement extraits par la macération en milieu liquide par rapport aux autres classes de composés responsables de la couleur des moûts.

Les conditions utilisées dans le cas du modèle II ont été *a priori* déterminées pour éliminer ou limiter la possibilité d'intervention d'un effet osmotique. Les résultats montrent cependant qu'il n'en est rien et qu'un effet osmotique sensible intervient en modifiant à la fois les caractéristiques rhéologiques des baies immergées et les extractibilités de leurs constituants. Si les conditions de ce modèle ne sont pas en pratique la règle générale, elles montrent néanmoins que ce type d'effet peut concerner les baies immergées pendant les premières heures d'anaérobiose. Cet effet osmotique ne semble pas d'ailleurs être spécifique à la présence d'un osmoticum dans le liquide d'immersion puisqu'il se manifeste aussi en l'absence de tout osmoticum

(modèle I) ou lorsque celui-ci a été rapidement éliminé (modèle III). Quel que soit le cas, il semble bien que les transferts d'eau entre baies et milieu d'immersion soient les principaux facteurs explicatifs. Dans le cas du modèle II, ces transferts se traduiraient par une diminution importante de l'indice de gonflement par déshydratation osmotique des baies et une augmentation de la fermeté à la rupture. Ce dernier effet suggère, comme dans le cas des modèles I et III, la possibilité d'une modification de la structure pelliculaire. Le phénomène osmotique inversé qui se produit ici ne semble pas limiter ni la diffusion, ni l'effet lessivant dû à l'éthanol exogène. Par contre, il limiterait sensiblement la diffusion des solutés disponibles depuis l'intérieur des baies vers le milieu liquide, ces solutés s'accumulant ainsi en plus grande quantité à l'intérieur des baies. À l'inverse de ce que l'on a admis pour les modèles I et III, cette limitation pourrait être expliquée par une diminution de l'hydratation des constituants pariétaux des cellules de la pellicule. Malgré ces différences, on retrouve ici très nettement l'extractibilité préférentielle observée pour les composés anthocyaniques.

En ce qui concerne les baies émergées des différents modèles, l'effet de lessivage qui caractérise les baies immergées ne se produirait pas avec autant d'acuité, même si on peut penser à un lessivage modeste dû à l'absorption d'éthanol à partir de la phase gazeuse. Les niveaux d'extractibilité des polyphénols et des composés azotés sont ici faibles, comparativement aux niveaux atteints pour les baies immergées. De plus, on n'observe pas pour ces baies d'extraction préférentielle des anthocyanes et copigments.

Transposés à la vinification beaujolaise, les résultats soulignent toute l'importance que revêt la proportion de vendange immergée dans le moût en fond de cuve par rapport à la vendange non immergée ou « chapeau ». La pratique indique effectivement que le rapport vendange émergée sur vendange immergée conditionne en partie la qualité du vin obtenu, la fraction émergée apportant les arômes fruités typiques du métabolisme anaérobie et la fraction immergée l'essentiel de la couleur. Si ce rapport peut être orienté, volontairement ou non, au moment de l'encuvage, il est aussi fonction du millésime, des conditions de récolte et du degré de maturité, ces facteurs étant déterminants vis-à-vis des propriétés mécaniques des baies et notamment vis-à-vis de leur état de turgescence. Une faible résistance impliquera, dès le départ de la macération, plus de baies éclatées et donc plus de moût en fond de cuve. La composition de celui-ci en molécules jouant un rôle osmotique (sucres et autres constituants de l'extrait sec) pourra aussi influencer la dynamique de la fermentation, et de ce fait la vitesse d'apparition de l'éthanol dans la phase liquide. Cette composition,

en jouant sur les pressions partielles des composés volatils de la phase gazeuse, pourra également se répercuter dans une certaine mesure sur la vendange émergée, suite aux phénomènes d'absorption. Le « remontage » pratiqué en vinification beaujolaise peut aussi être considéré comme un facteur susceptible de modifier le rapport entre les volumes des deux masses de vendange. En fonction du nombre de remontages pratiqués, les baies intactes contenues dans le « chapeau » pourront se comporter comme les baies immergées dans le moût en fond de cuve.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABBAL P., BOULET J.C. et MOUTOUNET M., 1992. Utilisation de paramètres physiques pour la caractérisation de la véraison des baies de raisin. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **26**, n°4, 231-237.
- AUBERT S. et POUX C., 1969a. Extraction des composés phénoliques du raisin. I. Techniques d'estimation d'une vendange. *Ann. Technol. Agric.*, **18**, n°2, 93-109.
- AUBERT S. et POUX C., 1969b. Extraction des composés phénoliques du raisin. II. Taux de passage dans les vins. *Ann. Technol. Agric.*, **18**, n°2, 111-127.
- BENARD P., BURET M., FLANZY C. et BOURZEIX M., 1971. Méthode de vinification par macération carbonique. V. Influence de la hauteur de vendange dans la cuve sur la qualité des vins. *Ann. Technol. Agric.*, **20**, n°1, 35-47.
- BLOUIN J., 1992. *Techniques d'analyses des moûts et des vins*. Dujardin-Salleron, Paris.
- BOURZEIX M., 1971. La diffusion des composés phénoliques au cours de la fermentation intra-cellulaire. *C.R. Journées macération carbonique*, Ed. INRA, Avignon, 47-6.
- BURET M., CHAMBROY Y. et FLANZY C., 1975. Métabolisme anaérobie de la baie de raisin en milieu liquide. I. Aspects méthodologiques. *Ann. Technol. Agric.*, **24**, n°2, 205-215.
- BURET M., CHAMBROY Y. et FLANZY C., 1976. Métabolisme anaérobie de la baie de raisin en milieu liquide. II. Étude expérimentale et méthodologie. *Ann. Technol. Agric.*, **25**, n°1, 45-72.
- DESCOUT J.J., 1989. Principe de la vinification beaujolaise, aperçus sur les phénomènes de macération. *Rev. Œnol.*, **53**, 29-34.
- FISHER M.I. and GURNSEY C., 1987. Scheme for validation of analytical protocol : semi automated Kjeldahl nitrogen determination. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **70**, 3, 405-409.
- FLANZY C., 1978. Étude sur le métabolisme du raisin. *Thèse de Doctorat d'Etat*, Faculté des Sciences de Marseille-Luminy.
- FLANZY C., ANDRÉ P., BURET M., CHAMBROY Y. et GARCIA P., 1976. Évolution des substances azotées au cours du métabolisme anaérobie de la baie de raisin. *Ann. Technol. Agric.*, **25**, 175-190.
- FLANZY C., ANDRÉ P., BURET M. et CHAMBROY Y., 1980. Cépages et métabolisme anaérobie. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, **66**, 828-838.
- FLANZY C., FLANZY M., ANDRÉ P. et CHAMBROY Y., 1969. Fixation à l'obscurité du <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> gazeux dans les baies de raisin en anaérobiose. II. Devenir du <sup>14</sup>C au cours de la fermentation intracellulaire. *Anal. Technol. Agric.*, **18**, n°4, 307-325.
- FLANZY C., FLANZY M. et BENARD P., 1987. *La vinification par macération carbonique*. Ed. Cevilar INRA, Paris.
- FONDVILLE-BAGNOL A., 1996. Étude sur la vinification beaujolaise : échange de composés volatils entre le moût en fermentation et les baies émergées en métabolisme anaérobie. *Thèse*, ENSA, Montpellier.
- MOLL M., FLAYEUX R. et LEHUEDE C., 1975. Détermination automatique de l'azote total dans le moût et la bière. *Ind. Alim. Agric.*, **92**, n°6, 631-633.
- ROBIN J.P., ABBAL P., SALMON J.-M., 1997. Fermeté et maturation du raisin. Définition et évolutions de différents paramètres rhéologiques au cours de la maturation. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **31**, n°3, 127-138.
- ROMIEU C., SAUVAGE F.X., ROBIN J.P. et FLANZY C., 1989. Évolution de diverses activités enzymatiques au cours du métabolisme anaérobie de la baie de raisin. *Connaissance Vigne Vin*, **23**, 165-173.
- ROMIEU C., TESNIERE C., THAN-HAM L., FLANZY C. and ROBIN J.-P., 1992. An examination of the importance of anaerobiosis and ethanol in causing injury to grape mitochondria. *Am. J. Enol. Vitic.*, **43**, n°2, 129-133.
- SARRIS J., PRADAL M., TESNIERE C., VERRIES C., ROMIEU C. et FLANZY C., 1987. Détermination de l'éthanol endogène des baies de raisin par analyse de l'atmosphère des enceintes expérimentales. *Ind. Alim. Agric.*, **12**, 173-1176.
- TERRIER N. and ROMIEU C., 1998. Inhibition of vacuolar proton pumps by ethanol impairs grape berry compartmentation. *Aust. J. Grape Wine Res.*, **4**, 39-45.
- TESNIÈRE C., NICOL M.Z., ROMIEU C. and FLANZY C., 1991. Effect of increasing exogenous ethanol on the anaerobic metabolism of grape berries. *Sci. Alim.*, **11**, 111-124.

Reçu le 10 février 1998 ; révisé le 7 janvier 1999  
 accepté pour publication le 14 juin 1999.