

ESSAIS DE MUTAGE DE VINS BLANCS LIQUOREUX PAR TRAITEMENT AUX HAUTES PRESSIONS

Aline LONVAUD-FUNEL*, Géraldine DUPONT*, G. DEMAZEAU** et J. BIGNON***

* Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II,
351, cours de la Libération, 33405 Talence cedex (France)

** Laboratoire de Chimie du Solide du CNRS et Interface Haute Pression : LCS-ENSCP,
Université de Bordeaux I, 351, cours de la Libération, 33405 Talence cedex (France)

*** O.V.I. S.A., Centre de Ressources, Site Bordeaux Montesquieu,
33651 Martillac cedex (France)

Résumé : *Des vins blancs liquoreux ont été mutés par traitement aux hautes pressions. La fermentation alcoolique est complètement et définitivement arrêtée lorsque les vins sont traités à 3000-3500 bars pendant 10 min. Il ne reste plus aucune levure viable. Le traitement n'a aucun effet majeur sur la constitution du vin, au moins en ce qui concerne ses caractéristiques principales. Seule la couleur est légèrement modifiée. Les vins ainsi traités doivent être protégés contre l'oxydation. Les qualités organoleptiques ne sont pas modifiées.*

Ce traitement doit être évalué à plus grande échelle afin de connaître ses effets sur le vieillissement de différents types de vins.

INTRODUCTION

Bien que l'effet des hautes pressions sur les molécules biologiques soit connu depuis plus d'un siècle, les applications sont restées limitées jusqu'à ces dernières années, aux procédés de polymérisation, cristallisation, etc. (DEMAZEAU, 1992). Récemment, grâce à une meilleure connaissance des mécanismes d'action mais surtout à une amélioration des équipements, ce procédé connaît un regain d'intérêt pour l'industrie agro-alimentaire où la préférence va plutôt vers les traitements physiques au dépend des traitements chimiques.

La destruction des microorganismes par la pression permet de proposer un nouveau traitement de stabilisation pour divers aliments en remplacement ou en complément d'autres méthodes. Il s'agit d'un processus très comparable à la stabilisation microbiologique par chauffage. Le principe est de comprimer le produit à traiter en exerçant une forte pression isostatique. Les structures pariétales et membranaires des microorganismes sont altérées de même que des protéines enzymatiques (HOOVER et al., 1989). Les interactions entre les protéines intrinsèques et les lipides membranaires sont modifiées ; ceci aboutit à l'inhi-

bition d'activités vitales telles que des transports de substrats ou des réactions énergétiques (Mc DONALD, 1992). Les cinétiques de destruction de divers microorganismes ont été mesurées. Elles dépendent non seulement de la pression et de la durée du traitement mais aussi du milieu lui-même et de la température (HEREMANS, 1982).

Plusieurs applications en agro-alimentaire ont été envisagées pour la conservation des viandes, jus de fruits et purées de fruits (SHIGEHISA et al., 1991 ; OGAWA et al., 1990 ; KIMURA, 1992). La stérilisation de jus d'agrumes est obtenue par traitement à 4000 bars pendant 10 min à 40°C. Elle a comme principal atout de conserver les arômes du fruit frais (OGAWA et al., 1990). C'est l'un des principaux avantages de ce procédé par comparaison aux traitements thermiques.

En œnologie la stabilisation microbiologique fait appel couramment non seulement à l'action d'additifs chimiques (anhydride sulfureux, acide sorbique) mais aussi aux traitements physiques tels la filtration ou la chaleur. Ces derniers sont efficacement utilisés surtout avant le conditionnement du vin afin d'assurer une conservation "stérile" ou "pauvre en germes". L'arrêt de la fermentation alcoolique des vins blancs liquoreux, le "mutage" est traditionnellement réalisé par sulfitage. Il suffit à stopper l'activité des levures. Mais les incidents de reprise de fermentation sont fréquents, car l'anhydride sulfureux qui n'est réellement efficace que sous forme libre, est rapidement combiné par le vin. La possibilité de muter les vins blancs liquoreux par traitement aux hautes pressions a donc été évaluée.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I — VINS TRAITÉS

Tous les vins traités sont des vins blancs "liquoreux" de Sauternes. Ils sont prélevés à la propriété en fin de fermentation, au moment où ils doivent être mutés, lorsque l'équilibre alcool-sucre résiduel souhaitable est atteint.

II — MÉTHODES ANALYTIQUES

Le dénombrement des microorganismes viables, levures et bactéries, est effectué par comptage des colonies développées par culture sur milieu nutritif gélosé. La viscosité est mesurée par le viscosimètre d'Ubbelohde.

L'indice de dialyse est déterminé par la mesure de la diffusion de molécules, adsorbant à 280 nm, à travers des membranes de dialyse correspondant à des poids moléculaires de 6000-8000 et 12000-13000 Da. Si D_0 est la densité optique du vin initial et D_t à l'instant t , l'indice est $I\% = \frac{D_0 - D_t}{D_t} \times 100$

D_t

La mesure de la combinaison de l'anhydride sulfureux est effectuée par dosage du SO_2 libre et du SO_2 total du vin par la méthode iodométrique. La couleur du vin est mesurée par la densité optique à 420 nm.

III — APPAREILLAGE UTILISÉ

Les échantillons de vin sont placés dans des sachets plastiques thermosoudés de volume de l'ordre de 100 à 150 ml.

L'appareillage utilisé comprend une chambre de pressurisation d'un volume de 0,85 l. Les sachets de vin sont introduits dans le récipient rempli d'eau. La haute pression transmise à l'échantillon par l'eau est créée par une pompe hydraulique. Cet appareil a été mis au point à l'Interface Haute pression : Laboratoire de Chimie du Solide, Université de Bordeaux I. Tous les traitements sont réalisés à température ambiante.

INCIDENCE DU TRAITEMENT SUR LA MICROFLORE DES VINS

Dans un premier essai, un vin a été traité à différentes pressions pendant des durées différentes. Il était en cours de fermentation alcoolique. L'analyse était la suivante : titre alcoométrique 12,30 p. cent, sucres réducteurs 70 g/l, pH 3,93.

Le dénombrement des levures était effectué approximativement dans l'heure qui suivait le traitement. Tous les comptages ont été réalisés en 3 exemplaires pour chacune des dilutions du vin. Le tableau I rapporte les résultats. Aucune cellule viable n'a pu être dénombrée dans les échantillons soumis à 3000 bars et plus, pendant 10 minutes ou plus.

TABLEAU I

Populations de levures résiduelles après les différents traitements d'un vin blanc liquoreux. Population initiale : $7,5 \times 10^6$ cell/ml

Pression (bars)	Durée du traitement (min)			
	5	10	15	20
2000	—	$7,5 \times 10^4$	—	$1,3 \times 10^5$
2500	—	$3,5 \times 10^4$	—	$1,0 \times 10^3$
3000	—	< 2	—	< 2
3500	—	—	< 2	—
3700	< 2	—	—	—
4000	< 2	—	< 2	—

Les chiffres représentent le nombre de cellules viables par ml
< 2 signifie qu'aucune colonie ne s'est développée sur les boîtes inoculées par 0,5 ml de vin

Ces échantillons ont été conservés à 25°C. La fermentation alcoolique semblait arrêtée dans tous les cas, le jour même. Cela correspond évidemment à la forte chute de population viable. Trois jours après le traitement, les échantillons traités à 2500 et 3000 bars ont à nouveau été analysés pour leur microflore.

Le tableau II permet de vérifier que la stabilisation totale est atteinte pour les vins traités à 3000 bars ; la population reste nulle ou très faible. Le traitement a donc éliminé les levures jusqu'à un seuil suffisamment bas puisqu'aucune croissance n'apparaît. Au contraire pour le traitement à 2500 bars, deux cas se présentent. Pour l'échantillon traité 20 minutes, on note une chute de population viable. Cela signifie qu'une partie de la population, bien que viable (c'est-à-dire capable de former des colonies sur milieu optimum gélosé) juste après le traitement, a cependant été altérée et ne recouvre pas sa viabilité pendant la conservation. Au contraire, la population se maintient à un niveau élevé dans l'échantillon traité 10 minutes.

TABLEAU II
Population résiduelle de levures (cell/ml)
trois jours après le traitement (correspondant au tableau I)

Pression (bars)	Durée du traitement (min)	
	10	20
2500	9 x 10 ⁴	3 x 10 ²
3000	< 2	< 2

Dans un deuxième essai le vin a été traité uniquement à 3000 bars pendant des durées variables (tableau III). Les résultats confirment les précédents. Lorsque le traitement à 3000 bars dure au moins 10 minutes, la population est complètement éliminée. De même, on note que la population chute dans les jours suivants, pour l'échantillon traité 5 minutes, démontrant la fragilisation d'une partie de la population résiduelle dénombrée le jour du traitement.

Enfin, l'efficacité du traitement a été testée sur trois vins de propriétés différentes dont deux, vin A et vin B étaient en pleine fermentation alcoolique, le vin C était prêt au mutage (tableau IV). Quel que soit le traitement, les bactéries, peu nombreuses au départ dans ces vins sont totalement éliminées. Le traitement à 3000 bars pendant 10 minutes a laissé dans tous les vins une population résiduelle faible (de 14 à 30 cell/ml) qui à ce niveau ne devrait pas compromettre la stabilité du vin. Bien que le dénombrement n'ait pas été réalisé ultérieurement, il est probable que, comme dans les cas précédents, ces levures résiduelles fragilisées par le traitement n'ont pas repris leur croissance. En tout cas la fermentation alcoolique n'a pas repris par la suite. Sur le vin A, le traitement très bref de 1 minute à 4000 bars est très efficace.

TABLEAU III

**Evolution de la population de levure
en fonction de la durée du traitement à 3000 bars**

Durée (min)	Dénombrement	
	J0	J3
0	2×10^6	-
1	$1,5 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
5	$1,4 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2$
10	< 2	-
15	< 2	-

J0 : dénombrement le jour du traitement J3 : dénombrement 3 jours après le traitement

TABLEAU IV

**Populations résiduelles de levures et bactéries
après traitement de trois vins différents**

	Pression (bars)	Durée (min)	Levures (cell/ml)	Bactéries (cell/ml)
Vin A	0	0	3×10^7	230
	3000	10	24	< 2
	4000	1	< 2	< 2
Vin B	0	0	4×10^7	< 2
	3000	10	14	< 2
	3500	10	10	< 2
Vin C	0	0	5×10^6	240
	3000	10	30	< 2
	3500	5	< 2	< 2

INCIDENCE DU TRAITEMENT SUR QUELQUES PARAMÈTRES CARACTÉRISTIQUES DU VIN

L'analyse chimique du vin après traitement n'a pas toujours été possible en raison du volume trop faible de vin traité. Sur les premiers traitements il a cependant été vérifié que le titre alcoométrique, les sucres réducteurs et le pH n'étaient pas modifiés. D'autres déterminations ont porté sur des indices relatifs à la constitution macromoléculaire et à la couleur du vin.

I — VISCOSITÉ - INDICE DE DIALYSE

La viscosité et l'indice de dialyse ont été mesurés sur les vins avant et après les différents traitements. Ils ne sont pas modifiés par le passage aux hautes pressions (tableau V). En outre, les cinétiques de dialyse au cours du temps sont aussi identiques quel que soit l'échantillon (résultats non présentés).

TABLEAU V

Viscosité et indice de dialyse des vins traités aux hautes pressions

Pression (bars)	Durée (min)	Viscosité (mm ² /sec)	Indice de dialyse
0	0	2,32	88
3000	1	2,27	88
3000	5	2,27	89
3000	10	2,26	89
3000	15	2,25	90

	Pression (bars)	Durée (min)	Viscosité (mm ² /sec)	Indice de dialyse
Vin 1	0	0	2,00	81
	3000	10	2,05	82
	4000	1	2,05	84
Vin 2	0	0	2,10	85
	3000	10	2,10	83
	3500	10	2,15	82
Vin 3	0	0	1,95	84
	3000	10	2,00	84
	3500	5	2,00	84

Indice de dialyse : mesure finale de DO280 nm après 3 jours de dialyse

II — COULEUR

La densité optique à 420 nm a été mesurée pour les mêmes échantillons de vin que ceux analysés précédemment, le jour même du traitement puis plusieurs heures ou plusieurs jours après. Les échantillons sont placés à l'air libre à température ambiante.

Tous les vins réagissent de la même façon : la densité optique du vin non traité est toujours dès l'origine supérieure à celle des vins traités (figures 1 et 2). La différence est significative, plus ou moins importante selon les vins. Par la suite, au cours du temps, l'oxydation du vin se traduit par une augmentation de la mesure. Elle est souvent supérieure pour le vin non traité mais ce n'est pas une règle générale. Dans tous les cas cependant, finalement à la dernière détermination, le vin témoin apparaît toujours plus foncé que tous les vins traités.

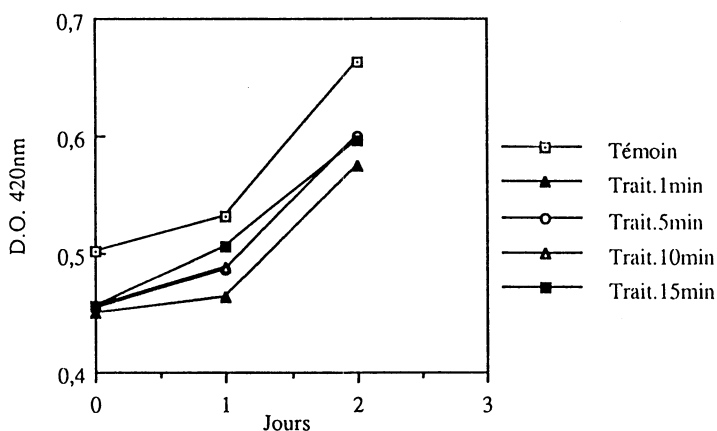


Fig. 1 — Evolution de la couleur du vin traité à 3000 bars pendant des durées croissantes.

III — POUVOIR DE COMBINAISON DES VINS

Le pouvoir de combinaison a été mesuré en sulfitant le vin à 300 mg/l puis en dosant le SO_2 libre après combinaison pendant 25 minutes à pH 5,0. On ne note pas de différence significative entre les échantillons. Lorsque le pouvoir de combinaison est mesuré en sulfitant le vin avec des doses variables de 200 à 300 mg/l en SO_2 total le résultat est le même. Le traitement n'a donc aucune incidence sur cette caractéristique du vin.

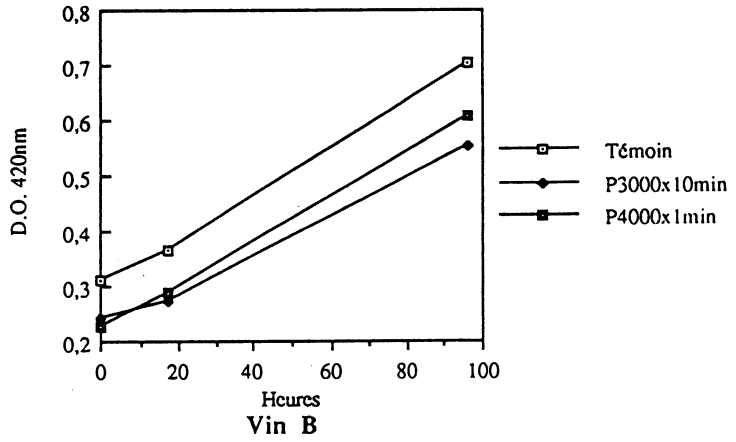
IV — INCIDENCE SUR LA QUALITÉ ORGANOLEPTIQUE DU VIN

Un vin a été soumis à 3500 atm pendant 10 minutes, traitement qui correspond à la stabilisation de ce type de produit. Trois lots ont été constitués en vue d'une analyse organoleptique

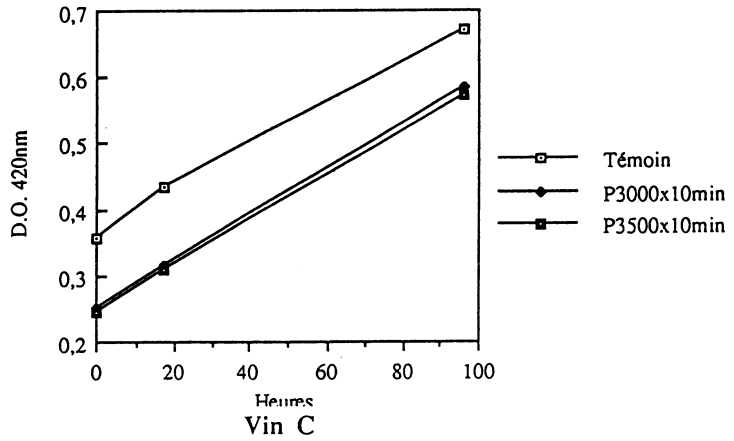
- a) Le vin témoin sulfité à 250 mg/l comme à la production
- b) Le vin traité aux hautes pressions et sulfité à 250 mg/l
- c) le vin traité non sulfité

La dégustation s'est déroulée 12 jours après le traitement, avec cinq dégustateurs spécialistes des vins blancs liquoreux. Elle a eu lieu en deux séries : les deux vins sulfités traité

Vin A



Vin B



Vin C

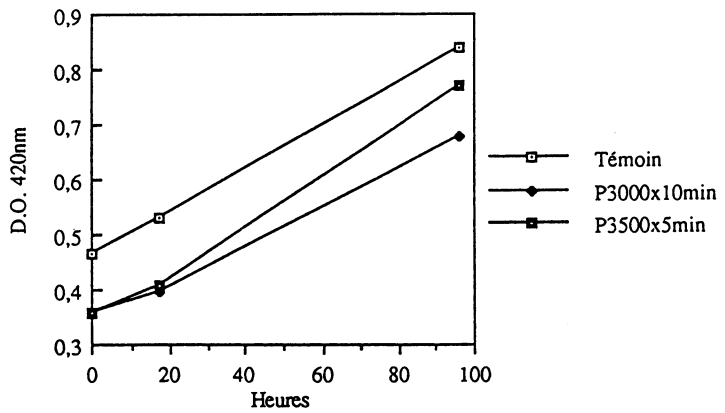


Fig. 2 — Evolution de la couleur de trois vins soumis à des barèmes différents de haute pression

et témoin, le vin traité non sulfité et le vin sulfité témoin. Il s'agissait chaque fois d'une dégustation triangulaire. Dans la première série, aucun des dégustateurs n'a réussi à reconnaître les deux verres identiques parmi les trois proposés. Les différences quand elles sont perçues sont qualifiées de très légères ; aucune préférence ne ressort. Dans la deuxième série, toutes les réponses sont exactes. Les dégustateurs reconnaissent tous l'échantillon traité très facilement car il est oxydé. La préférence va évidemment vers le témoin protégé de l'oxydation par le sulfitage.

DISCUSSION

La stabilisation microbiologique des vins blancs liquoreux par traitement aux hautes pressions est incontestablement démontrée. Les levures bien qu'elles soient encore en pleine activité fermentaire sont totalement éliminées par des traitements de 3000-3500 bars pendant 10 minutes. Les levures quand elles résistent au traitement sont très altérées et incapables de reprendre une croissance. Bien évidemment, les résultats rapportés doivent être complétés par de nombreux autres essais. Il est par exemple indispensable de réaliser les traitements variant par la pression, la durée et même la température afin d'établir les courbes de létalité. Ces essais devraient mettre en œuvre des vins et des populations levuriennes de natures différentes. Par analogie avec les traitements thermiques ces données permettront ensuite de mieux ajuster les paramètres pour un traitement suffisant mais non excessif.

Les autres caractéristiques du vin examinées dans ce travail n'ont pas été modifiées. De même l'analyse sensorielle n'a révélé aucune incidence néfaste sur les qualités organoleptiques. Ces résultats rejoignent ceux obtenus pour les jus de fruits par exemple où il est démontré que les arômes sont parfaitement conservés.

Le changement le plus surprenant concerne la couleur du vin. Il est faible, cependant mesurable, mais surtout il n'est nullement préjudiciable à la qualité. La couleur est plus vive dès que le vin est traité, elle évolue ensuite dans le temps par oxydation à peu près de la même façon que le vin témoin.

Même si le vin est complètement stabilisé vis-à-vis de la fermentation, le sulfitage s'avère donc nécessaire pour éviter l'oxydation. Il reste à préciser si la dose d'anhydride sulfureux peut être abaissée ; en tout cas, le traitement ne diminue pas le pouvoir de combinaison du SO_2 . Il peut éventuellement éviter qu'il augmente au cours du temps, mais cela n'est pas encore démontré. Le mutage des vins liquoreux par ce procédé permet l'élimination totale et brutale des levures. Excepté en cas de contamination ultérieure à un niveau élevé, la fermentation ne peut reprendre.

D'autres essais en plus grand volume sont nécessaires pour permettre de suivre le vin durant plusieurs mois. Les processus complexes du vieillissement pourraient en effet être modifiés. Cela est maintenant envisageable car un prototype de dimension pilote permettant de traiter des volumes de l'ordre de l'ordre de 40 litres par heure a été construit par la société ACB.GEC Alsthom. Par ailleurs, outre le mutage des vins blancs liquoreux, cette nouvel-

le technologie pourrait trouver d'autres applications en œnologie pour la stabilisation microbiologique. Elle paraît pouvoir être adaptée à la stabilisation finale avant le conditionnement non seulement des vins blancs liquoreux mais d'une façon plus générale de tous les autres types de vins, y compris les vins de liqueur. Ces premières expérimentations ont révélé une incidence du traitement sur la couleur du vin blanc. Il est bien entendu indispensable d'étudier l'incidence sur la couleur des vins rouges et son évolution pendant le vieillissement.

Remerciements : Ce travail a été financé par OVI S.A. grâce à une subvention du Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux.

Manuscrit reçu le 7 octobre 1993 ; accepté pour publication le 2 décembre 1993

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DEMAZEAU G., 1992. The demystification of the pressure parameter for industrial applications, in *High Pressure and Biotechnology*. Eds C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans and P. Masson, Colloque INSERM, **224**, 481-491.
- HEREMANS K., 1982. High pressure effects on proteins and other biomolecules. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **11**, 1-21.
- HOOVER D.G., METRICK C., PAPINEAU, A.M., FARKAS D.F. and KNORR D., 1989. Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technology*, **43**, 99-107.
- KIMURA K., 1992. Development of a new fruit processing method by high hydrostatic pressure. in *High Pressure and Biotechnology*. Eds C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans and P. Masson, Colloque INSERM, **224**, 279-283.
- Mc DONALD A.G., 1992. Effect of high hydrostatic pressure on natural and artificial membranes. in *High Pressure and Biotechnology*. Eds C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans and P. Masson, Colloque INSERM, **224**, 67-75.
- OGAWA H., FUKUHISA K., KUBO Y., FUKUMOIO H., 1990. Pressure inactivation of yeasts, molds and pectinesterase in Satsuma mandarin juice : effect of juice concentration, pH and organic acids and comparison with heat sanitation. *J. Biol. Chem.*, **54**, 1219-1225.
- SHIGEHISA T., OHMORI T., SAITO A., TAJI S. and HAYASHI R., 1991. Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, **12**, 207-216.