Connaissance Vigne Vin, 1977, **11**, N° 2, 131-163

THERMORESISTANCE DES LEVURES DANS LE VIN APPLICATION A LA STABILISATION BIOLOGIQUE DES VINS PAR LA CHALEUR

M. DEVÈZE et P. RIBÉREAU-GAYON

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

INTRODUCTION

Les exigences de plus en plus grandes de la législation nécessitent la réduction des doses d'antiseptiques, en particulier d'anhydride sulfureux, utilisées au cours de la conservation du vin. La mise en œuvre des procédés thermiques pour la destruction des microorganismes constitue un moyen élégant de stabilisation biologique des vins doux connu depuis les travaux de PASTEUR qui remontent à plus d'un siècle. Cependant la pasteurisation ne s'est pas imposée en œnologie, si ce n'est sous la forme de la « mise en bouteilles à chaud ». En effet, la destruction des levures par la chaleur ne pose pas de problème particulier ; mais le vin stérile ainsi obtenu est rapidement contaminé par le matériel et les récipients, à moins que des dispositions contraignantes ne soient mises en œuvre. Par comparaison, il est bien évident que l'emploi des additifs chimiques constitue une solution de relative facilité, puisque le vin ainsi traité ne permet pas le développement des microorganismes, même après contamination ultérieure.

Aujourd'hui la conjugaison, d'une part des nécessités hygiéniques et législatives, d'autre part du développement d'équipements de chai permettant de manipuler le vin dans des conditions quasi-stériles, permet d'envisager la généralisation de l'emploi du chauffage pour la stabilisation biologique des vins doux.

Il importe alors d'effectuer une véritable étude théorique de la thermorésistance des levures dans le vin, analogue à celles qui ont été faites dans le cas de la brasserie et d'autres industries alimentaires. Une telle étude est nécessaire pour définir, donc prévoir, les conditions de température et de temps de chauffage permettant d'obtenir la stérilisation du vin. Un chauffage plus important n'a alors aucune efficacité biologique supplémentaire ; il peut compromettre inutilement la qualité du vin et entraîne un gaspillage d'énergie.

Nous décrivons dans ce travail les résultats d'une telle étude. Après avoir rappelé les lois de la destruction thermique des microorganismes,

nous avons déterminé les caractéristiques de la thermorésistance de quatre souches de levures dans le même vin et d'une souche dans des vins d'acidité, de degré alcoolique et de taux de sucre différents ; également nous avons comparé le comportement d'une même souche en fonction de l'âge de la culture. Enfin les résultats théoriques obtenus au laboratoire ont été confrontés avec ceux que nous avons observés lors du traitement de vins à l'échelle de la pratique.

LOIS DE LA DESTRUCTION THERMIQUE

L'étude de la destruction thermique des microorganismes s'est développée à partir du siècle dernier, c'est à dire à partir du moment où l'on a pris conscience, grâce aux études d'APPERT et de PASTEUR, du fait que la chaleur peut aider à stériliser les aliments. Les premiers travaux ont surtout porté sur la destruction de microorganismes pathogènes, comme *Clostridium botulinum,* qui sous leur forme sporulée sont particulièrement résistants à la chaleur ; pour cette raison les températures mises en œuvre sont souvent élevées.

Ces études ont permis de dégager empiriquement, peu à peu, des lois générales sur le comportement des microorganismes soumis à l'action de températures létales, c'est à dire des températures suffisantes pour entraîner une destruction. Il est intéressant de connaître les divers critères qui ont été successivement utilisés pour exprimer ce comportement.

1. LE POINT DE MORT THERMIQUE (ou « Thermal death point », TDP)

Le « thermal death point » a été l'un des premiers critères utilisé. Le TDP était défini comme la température minimale à laquelle une suspension de microorganismes est tuée en un temps donné, temps qui était en général de dix minutes.

Ce seul critère qui ne tient pas compte de la concentration initiale en germes parut rapidement insuffisant pour représenter l'ensemble du phénomène et pour déterminer des normes pratiques pour la stérilisation.

2. LE TEMPS DE MORT THERMIQUE (ou « Thermal death time », TDT)

BIGELOW et ESTY (1920) définirent une nouvelle grandeur qui permit une meilleure compréhension de la thermorésistance, le « Thermal death point in relation to time » ou « Thermal death time ». Le TDT est le temps nécessaire, à une température donnée, pour détruire une population de concentration donnée, dans un milieu de pH donné.

Pour déterminer ce TDT, ces auteurs opéraient dans des tubes de verre scellés qui étaient chauffés dans un bain d'huile thermostaté. Après différents temps d'exposition, le contenu de ces tubes était transféré sur un milieu de culture pour constater la présence éventuelle de survivants, sans se préoccuper de leur nombre. Le TDT était compris entre

le temps le plus long pour lequel on observait des survivants et le temps le plus court pour lequel on obtenait une stérilisation complète.

BIGELOW et ESTY (1920) montrèrent clairement que le TDT est fonction de la concentration en spores et que, pour une concentration donnée, ce temps diminue quand la température augmente.

En 1921, BIGELOW, reprenant les résultats de la publication de 1920, nota qu'il existe une relation linéaire entre le logarithme du TDT et la température (fig. 1).

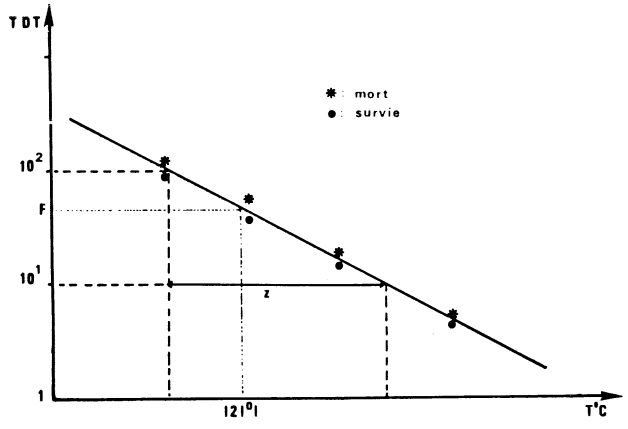


Fig. 1. — Courbe théorique de variation du « thermal death time » en fonction de la température.

BALL (1923, 1928) montra ensuite que la courbe du TDT peut être caractérisée par un point de la droite et par sa pente. Le point caractéristique était la valeur F du TDT à 250 °F soit 121,1 °C. La pente, ayant la dimension de l'inverse d'une température, était représentée par son inverse, z, qui est donc une température et représente le nombre de degrés dont il faut faire varier la température pour que le TDT soit multiplié ou divisé par 10.

3. LES COURBES DE SURVIE :

MADSEN et NYMAN (1907) et CHICK (1908, 1910) aboutirent à la conclusion que la destruction d'une population homogène de microorganismes, soumise à l'action de désinfectants, suit une loi logarithmique. De nombreux auteurs ont constaté un phénomène équivalent en ce qui concerne l'action de la chaleur.

Si l'on expose une population homogène de microorganismes à une température létale constante, on observe une relation linéaire entre le

logarithme du nombre de survivants et le temps d'exposition à cette température (fig. 2). L'expression algébrique de cette courbe est

$$\log \frac{N_t}{N_o} = - k.t \qquad (1)$$

dans laquelle N_o représente le nombre initial de microorganismes vivants et N_t le nombre de survivants après un chauffage pendant un temps t.

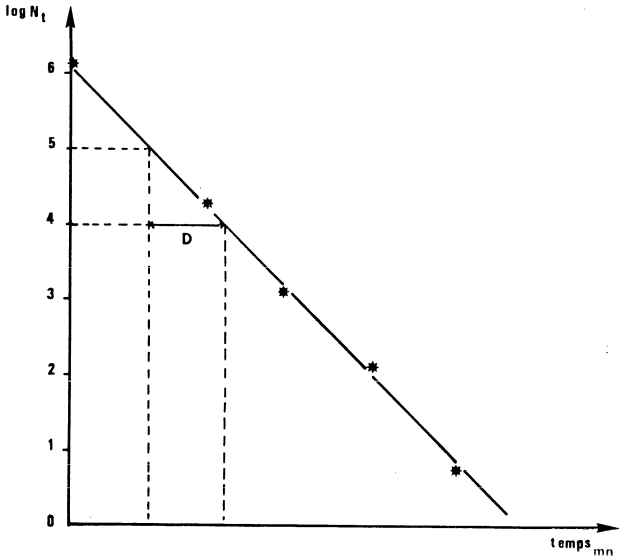


Fig. 2. — Courbe de survie : variation du logarithme du nombre de survivants (N_t) en fonction du temps de chauffage à température constante.

La constante k ayant la dimension de l'inverse du temps, on a choisi pour la caractériser son inverse, qui représente le temps nécessaire, à une température létale constante, pour réduire une population au dixième de sa valeur. Cette constante est appelée « décimal réduction time » ou temps de réduction décimale. On la désigne par D (SCHMIDT, 1957), éventuellement suivi en indice de l'indication de la température correspondante, par exemple D_{51}, D_{47}... La relation (1) peut donc s'écrire :

$$\log \frac{N_t}{N_o} = - \frac{t}{D} \qquad (2)$$

On explique ainsi (BIGELOW et ESTY, 1920) que le temps de chauffage doit être d'autant plus important que la concentration en microorganimes est grande. On peut en déduire que la stérilisation totale n'est théoriquement atteinte que pour un temps de chauffage infini ; on aboutit cependant assez rapidement à des concentrations en survivants qui peuvent être considérées comme négligeables.

La dérivée de la relation (1) donne :

$$\frac{dN_t}{N_t} = -\, k'.dt \quad \text{ou}$$

$$\frac{dN_t}{dt} = -\, k'.N_t \qquad (3)$$

Cette nouvelle relation indique qu'à chaque instant la variation du nombre de survivants, c'est à dire le nombre de tués, est proportionnelle à ce nombre de survivants.

Pour certains auteurs, un tel type de destruction n'est pas incompatible, malgré les apparences, avec une résistance thermique homogène de la population. Selon HANSEN et RIEMANN (1963) la mort résulterait de la rencontre de l'agent létal et d'un site sensible de la cellule. Ce site serait suffisamment localisé pour que la chance de contact soit faible ; il pourrait être un gène dont la modification entraînerait une mutation létale. Cette explication suppose que l'effet de la chaleur ne soit pas un phénomène continu mais un phénomène discontinu analogue à une série de « tirs ». p étant la probabilité pour qu'un « tir » atteigne le site sensible d'une cellule et n le nombre de « tirs », BROWN et MELLING (1971) ont montré que le nombre de survivants X d'une population initiale X_o, soumise à un nombre de « tirs » suffisamment grand, sera tel que :

$$\frac{X}{X_o} = e^{-np}$$

On obtient une relation analogue à la relation (1), dans laquelle n peut être assimilé au temps et p peut être considéré comme une constante de sensibilité, caractéristique du microorganisme considéré. D'après ce raisonnement les microorganismes survivants ne sont pas forcément plus résistants que ceux détruits en priorité.

Il faut cependant signaler que certains auteurs ont fait état de l'existence de courbes de survie non logarithmiques traduisant des mécanismes différents de la destruction des microorganismes. SCHMIDT (1957) classe les courbes de survie en quatre groupes (fig. 3).

a) Les courbes logarithmiques, type A.

b) Les courbes présentant au départ une phase stationnaire ou même une légère augmentation, type B. Cette augmentation peut se produire quand on chauffe des spores de bactéries à des températures inférieures à 100 °C, températures auxquelles une activation des spores peut intervenir.

c) Les courbes présentant au départ une destruction lente d'allure courbe ou linéaire, suivie d'une destruction plus rapide, type C.

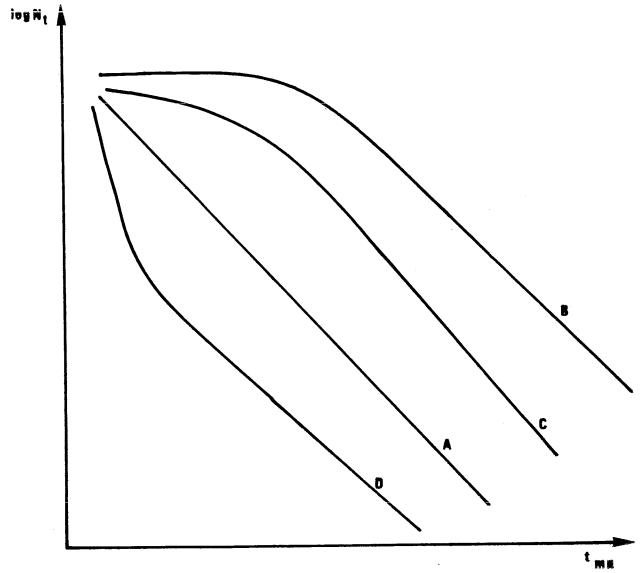


Fig. 3. — Différents types de courbes de survie.

d) Enfin les courbes débutant par une destruction rapide suivie d'une destruction lente ; ces deux parties étant linéaires ou légèrement courbes, type D. Ce type de destruction montre une résistance hétérogène de la population de microorganismes.

4. VARIATION DES TEMPS DE REDUCTION DECIMALE EN FONCTION DE LA TEMPERATURE :

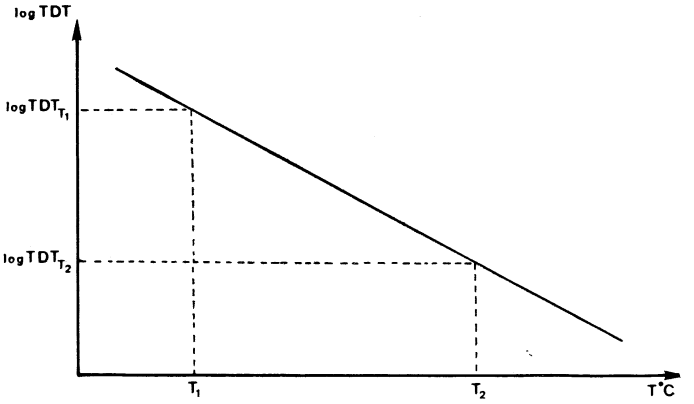


Fig. 4. — Variation du logarithme du TDT en fonction de la température.

La variation de D découle directement de celle des TDT. La figure 4, qui provient directement de la figure 1, montre que :

$$\log (TDT)_{T_1} - \log (TDT)_{T_2} = - k. (T_1 - T_2) \qquad (4)$$

avec comme nous l'avons vu k = 1/z. Donc

$$\log \frac{(TDT)_{T_1}}{(TDT)_{T_2}} = \frac{T_2 - T_1}{z} \qquad (5)$$

On sait que TDT = k.D, la constante k dépendant de la concentration initiale en microorganismes ; pour une telle concentration identique on a :

$$(TDT)_{T_1} = k.D_{T_1} \qquad \text{et} \qquad (TDT)_{T_2} = k.D_{T_2}$$

Par conséquent :

$$\log \frac{D_{T_1}}{D_{T_2}} = \frac{T_2 - T_1}{z} \qquad (6)$$

On explique ainsi que la représentation en coordonnées semi-logarithmiques de la variation de D en fonction de T soit une droite (BALL, 1943) (fig. 5). La pente de cette droite est la même que celle de la droite des TDT de BIGELOW.

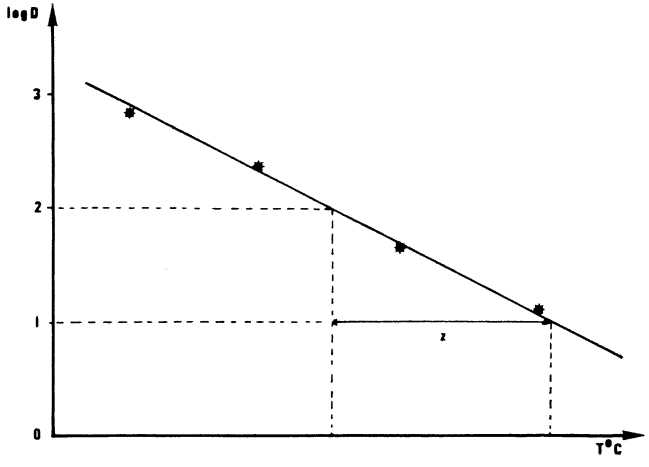


Fig. 5. — Courbe de résistance thermique : variation du logarithme du temps de réduction décimale, D, en fonction de la température.

OLSON et SCHMIDT (1950) ont donné à cette courbe le nom de « courbe de résistance thermique » car ils pensent qu'elle représente la mesure réelle de cette résistance. Cette droite peut être aussi représentée par sa pente et par un point caractéristique.

On peut donc dire en résumé que si l'on soumet une population homogène de microorganismes à l'action d'une température létale constante, on obtient une destruction logarithmique en fonction du temps (fig. 2). Cette courbe de survie peut être caractérisée par le temps nécessaire pour réduire la population au dixième de sa valeur, désigné par D. Enfin si l'on trace la courbe représentant le logarithme de D en fonction de la

température, on obtient une droite caractérisée par l'inverse de sa pente qui est l'élévation de température nécessaire pour réduire au dixième le temps de réduction décimale ; on représente cette grandeur par le symbole z (fig. 5).

FACTEURS DE LA THERMORESISTANCE DES MICROORGANISMES

Les travaux consacrés à l'étude de la thermorésistance des microorganismes ont montré l'importance de nombreux facteurs. SCHMIDT (1957) distingue trois types d'influences : l'espèce et la souche du microorganisme, les facteurs intervenant pendant la multiplication des cellules de microorganismes et les conditions de milieu pendant le chauffage.

1. INFLUENCE DU MICROORGANISME :

Cette influence a été mise en évidence par le fait que, dans les mêmes conditions de chauffage et dans le même milieu, des espèces différentes et même des souches différentes de la même espèce présentent des thermorésistances différentes. On peut en trouver des exemples dans BEAMER et TANNER (1939) et plus récemment dans JACOB et *al.* (1964) et SPLITTSTOESSER et *al.* (1975).

2. INFLUENCE DES FACTEURS INTERVENANT PENDANT LA MULTIPLICATION DES MICROORGANISMES :

On peut distinguer l'âge de la culture et la température de croissance.

a) **âge de la culture :** En général la thermorésistance est assez élevée pendant la phase de latence, puis diminue pendant la phase logarithmique de croissance, pour être minimale quand la reproduction est la plus intense. La thermorésistance augmente ensuite pendant la phase stationnaire (SCHMIDT, 1957 ; ELLIKER et FRAZIER, 1938 ; HANSEN et RIEMANN, 1963).

b) **température de croissance :** En général la croissance des microorganismes à des températures supérieures à leur température optimale de croissance entraîne une augmentation de la thermorésistance (SUGIYAMA, 1951 ; ELLIKER et FRAZIER, 1938). Mais on doit cependant signaler que, dans certains cas, des souches repiquées à basse température présentent des thermorésistances élevées (MORFAUX, 1973).

3. INFLUENCE DES CONDITIONS DE MILIEU PENDANT LE CHAUFFAGE DES MICROORGANISMES :

HANSEN et RIEMANN (1963) signalent que l'influence du milieu est importante sur la valeur du temps de réduction décimale et faible sur celle de z. Les études ont beaucoup porté sur des facteurs, tels que la teneur en eau, en lipides, en sels et en protéines, importants pour les aliments en général, mais dont les variations sont faibles dans le vin.

Par contre, les facteurs les plus importants dans le cas du vin semblent être l'alcool, le pH, la teneur en sucres et éventuellement la présence d'inhibiteurs tels que l'anhydride sulfureux.

a) **L'alcool** : L'effet de l'alcool sur la diminution de la thermorésistance avait été clairement mis en évidence par les travaux de BAILLOT d'ESTIVAUX (1958) sur la mise en bouteilles à chaud. Cet effet a été aussi signalé par JACOB et *al.* (1964) pour *Saccharomyces cerevisiae.* SPLITTSTOESSER et *al.* (1975) ont plus récemment chiffré cette action. Pour une même souche de levures en voile, utilisée pour la fermentation du Xérès et appartenant au genre *Saccharomyces,* le temps de réduction décimale est de 16 minutes à 51 °C dans un jus de raisin alors qu'il est de 0,82 mn dans le même jus additionné de 10 p. 100 d'alcool et de 0,30 mn pour 12 p. 100 d'alcool.

b) **La teneur en sucre** : Une augmentation de la teneur en sucres se traduit généralement par un accroissement de la thermorésistance (SCHMIDT, 1957). SPLITTSTOESSER et *al.* (1975) ont montré une influence de protection faible ; toujours avec la même souche de levures du genre *Saccharomyces,* les temps de réduction décimale à 49 °C varient de 0,77 mn, pour une teneur en glucose inférieure à 1 p. 100, à 0,83 mn pour 5 et 10 p. 100 de glucose.

c) **Le pH** : En général la thermorésistance est maximale dans une zone de pH voisine de la neutralité et diminue rapidement en dehors de cette zone (HANSEN et RIEMANN, 1963). MORFAUX (1973) donne, pour *Saccharomyces carlbergensis,* des temps de réduction décimale à 55 °C de 0,903 mn pour pH 5,0, de 0,78 mn pour pH 4,0 et de 0,71 mn pour pH 3,0. SPLITTSTOESSER et *al.* (1975) donnent par contre des valeurs voisines mais irrégulières, pour des pH compris entre 3,0 et 4,0. Ce résultat est surprenant et, d'ailleurs, il n'est pas confirmé par notre propre expérimentation.

d) **Inhibiteurs** : La présence dans le milieu de chauffage d'inhibiteurs tels que l'anhydride sulfureux diminue sensiblement la thermorésistance (HANSEN et RIEMANN, 1963). SPLITTSTOESSER et *al.* (1975) n'ont pas mis en évidence une telle action pour des additions de SO_2 de 25 et 50 mg par litre. Il faut remarquer que les doses de SO_2 utilisées par ces auteurs sont relativement faibles. Une expérimentation personnelle, non décrite dans ce mémoire, montre qu'un sulfitage de 150 à 200 mg par litre diminue sensiblement la résistance des levures à la chaleur ; un résultat identique a été obtenu par ailleurs (ANONYME, 1975).

En conclusion, la présence d'alcool semble être, dans le vin, le facteur le plus important sur la thermorésistance des levures et elle est responsable de la bonne efficacité des traitements thermiques pour la stabilisation biologique des vins.

ETUDE DE LA THERMORESISTANCE DES LEVURES DANS LE VIN

Nous avons entrepris une étude systématique de la thermorésistance des levures dans l'optique d'un traitement thermique destiné à muter les vins blancs moelleux et liquoreux. Il s'agissait donc d'étudier l'influence de la souche, du degré alcoolique, de la teneur en sucres, du pH et de l'âge de la culture sur la destruction des levures. En dehors de la publication récente de SPLITTSTOESSER et *al.* (1975), dont nous avons eu connaissance alors que notre expérimentation était déjà bien avancée, aucune étude de ce genre ne semble avoir été effectuée dans le cas du vin ; elle est cependant indispensable pour interpréter, et donc prévoir, l'efficacité d'un tel traitement.

Dans notre travail nous avons effectué la détermination des mesures de thermorésistance de différentes souches de levures, prises dans un état physiologique correspondant à une fin de fermentation, dans des milieux de composition variable, rappelant celle du vin ; cette détermination comporte la mesure de D, temps de réduction décimale à une température donnée, et de z, variation de température permettant de modifier D par un facteur 10.

1. MATERIEL ET METHODES :

a) **Obtention de la suspension de levures :**

Un moût stérile, en bouteilles de 75 cl, est ensemencé par une suspension de la souche de levures à étudier. Les bouteilles ensemencées sont placées dans une chambre thermostatée à 25 °C. En fin de fermentation les levures sont récupérées par centrifugation et reprises par environ 10 ml du milieu stérile qui servira à la détermination de la thermorésistance.

b) **Dispositif de chauffage :**

Le chauffage peut être effectué soit en tubes capillaires (STERN et PROCTOR, 1954), soit dans un réacteur ; dans un cas comme dans l'autre, le dispositif doit permettre d'avoir un temps de montée et de descente en température négligeable. Nous avons utilisé le dispositif mis au point et décrit par DOUTSIAS (1972). Ce dispositif permet d'obtenir des résultats aussi bons que par la méthode des capillaires, tout en étant plus simple et plus rapide à mettre en œuvre. Il est constitué d'un bécher (fig. 6) comportant une double enveloppe dans laquelle on fait circuler de l'eau thermostatée. Ce bécher est fermé par un couvercle à double enveloppe également relié au bain thermostaté, ce qui permet de le maintenir à la même température, de telle sorte que les projections éventuelles de liquide soient soumises au même traitement que l'ensemble du milieu. Ce couvercle est muni de deux ouvertures ; l'une permet l'introduction d'un thermomètre destiné à contrôler la température de traitement, l'autre est utilisée pour les prélèvements d'échantillons. Enfin le milieu est homogénéisé en permanence par l'intermédiaire d'un barreau magnétique.

Avant la manipulation, le dispositif est stérilisé à l'autoclave. Il est ensuite rempli par 100 ml environ de milieu stérile, milieu dans lequel on veut étudier la thermorésistance. Par mesure de précaution contre d'éventuelles contaminations, l'ensemble est porté à une température supérieure de 15 à 20 °C à la température de traitement, puis ramené à cette température.

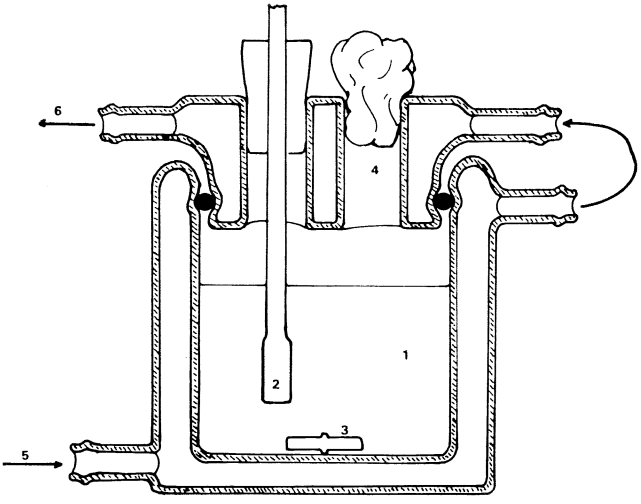


Fig. 6. — Schéma du dispositif utilisé pour la détermination de la thermorésistance des levures, d'après DOUTSIAS (1972) ;
1. milieu d'étude de la thermorésistance ; 2. thermomètre de contrôle ; 3. barreau magnétique ; 4. orifice permettant le prélèvement d'échantillons ; 5 et 6. entrée et sortie du circuit d'eau thermostatée.

Quand cette température est atteinte, on introduit stérilement 1 ml de la suspension de levures. Après quelques secondes d'homogénéisation un premier échantillon est prélevé en même temps qu'un chronomètre est déclenché. Nous effectuons ensuite des prélèvements à des intervalles de temps réguliers, intervalles fonction de la température et déterminés par des essais préalables. Ces échantillons sont prélevés à l'aide de pipettes stériles et introduits aussitôt dans des tubes stériles préalablement refroidis et immédiatement plongés dans un bain d'eau glacée.

Une numération de levures vivantes est effectuée, par culture sur milieu nutritif gélosé en boîtes de Pétri, pour chacun des échantillons. Le milieu nutritif est constitué par un jus de raisin, milieu convenant bien aux levures.

c) **Calculs.**

Sur la figure 2, la courbe de survie est représentée par la variation du logarithme du nombre de survivants (N_t) en fonction du temps. Dans l'interprétation de nos résultats expérimentaux nous avons préféré, comme DOUTSIAS (1972), représenter la variation, en fonction du temps, du loga-

rithme du rapport N_t/N_o (N_o étant le nombre de levures vivantes au moment du premier prélèvement). Cette modification permet d'avoir des courbes qui passent toutes par l'origine quelle que soit la valeur de N_o ; elle facilite la représentation des courbes de survie obtenues à différentes températures.

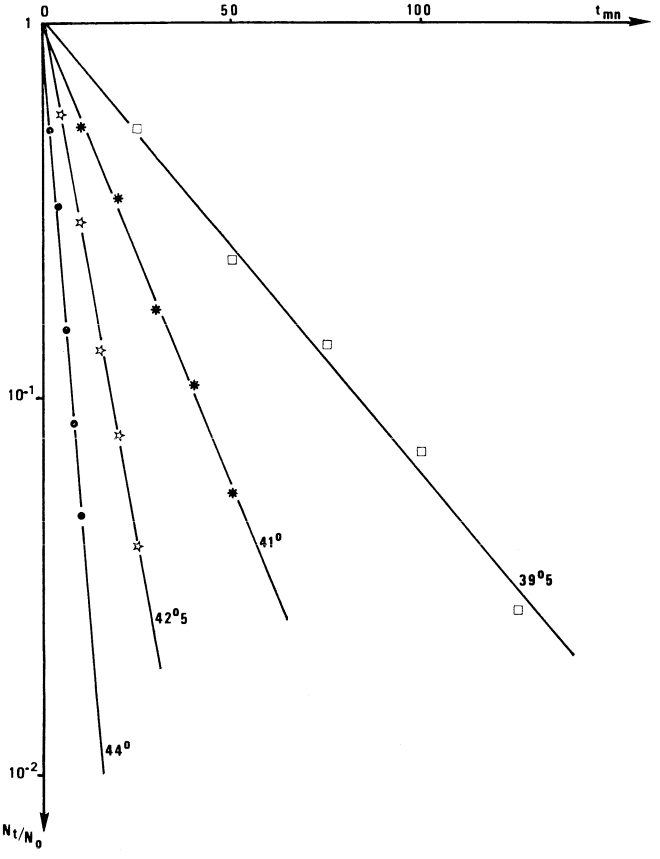


Fig. 7. — Courbes de survie obtenues pour *Saccharomyces cerevisiae,* dans un vin de 12° d'alcool, à 44, 42,5, 41 et 39,5 °C.

Les figures 7 et 9 donnent des exemples de courbes de survie de *Saccharomyces cerevisiae* et de *Saccharomyces bayanus* dans les mêmes conditions et pour des températures de 36 à 44 °C ; on constate que, comme on pouvait le supposer, ces courbes sont des droites. Pour plus de précision, elles ont été tracées à partir de la formule de la droite de régression entre le logarithme du rapport N_t/N_o et le temps de chauffage exprimé en minutes, selon les méthodes de calcul classiques. Dans tous les cas, nous avons également calculé le coefficient de corrélation qui traduit la dispersion des points de part et d'autre de cette droite.

Ce calcul donne, pour la droite de régression, une équation du type :

$$\log N_t/N_o = - a.t\ (_{mn}) + k$$

Dans cette formule, a représente l'inverse du temps de réduction décimale (D) exprimé en minutes, qui caractérise la thermorésistance du microorganisme dans les conditions opératoires.

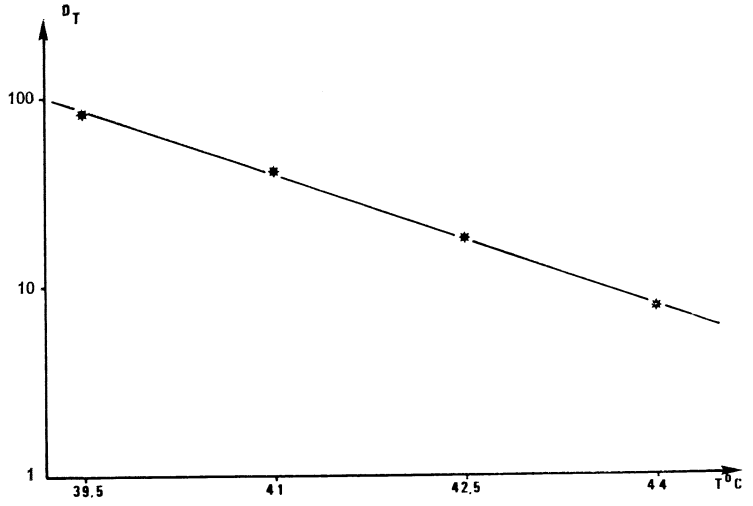


Fig. 8. — Courbe de résistance thermique de *Saccharomyces cerevisiae*, dans un vin de 12° d'alcool.

On sait que D et la température sont reliés par la relation :

$$\log D = - a'.T\,°C + k'$$

Avec le même mode de calcul que précédemment et à partir des valeurs de D à quatre températures différentes, nous avons calculé les coefficients a' et k'. On a ainsi tracé les courbes des figures 8 et 10. a' est l'inverse de z, qui est l'augmentation de température nécessaire pour diviser par 10 le temps de réduction décimale, D.

2. THERMORESISTANCE DE QUATRE ESPECES DE LEVURES :

Nous avons déterminé les critères de la thermorésistance sur les levures qui prédominent en fin de vinification des vins blancs liquoreux, *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces bayanus*, ainsi que sur les levures susceptibles, de par leur résistance à l'alcool et à l'anhydride sulfureux, d'induire des refermentations, *Saccharomyces bailii* et *Saccharomycodes ludwigii*.

Le milieu utilisé était un vin désulfité de composition suivante :

degré alcoolique	12 °GL
sucres réducteurs	moins de 2 g par litre
pH	3,50

Nous donnons dans les figures 7 et 9 les courbes de survie obtenues pour *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces bayanus*, et dans les figures 8 et 10 les courbes de résistance thermique pour ces mêmes levures. Les temps de réduction décimale calculés, les valeurs de z correspondantes et les coefficients de corrélation de chacune des courbes pour les quatre souches de levures sont regroupés dans les tableaux I à IV.

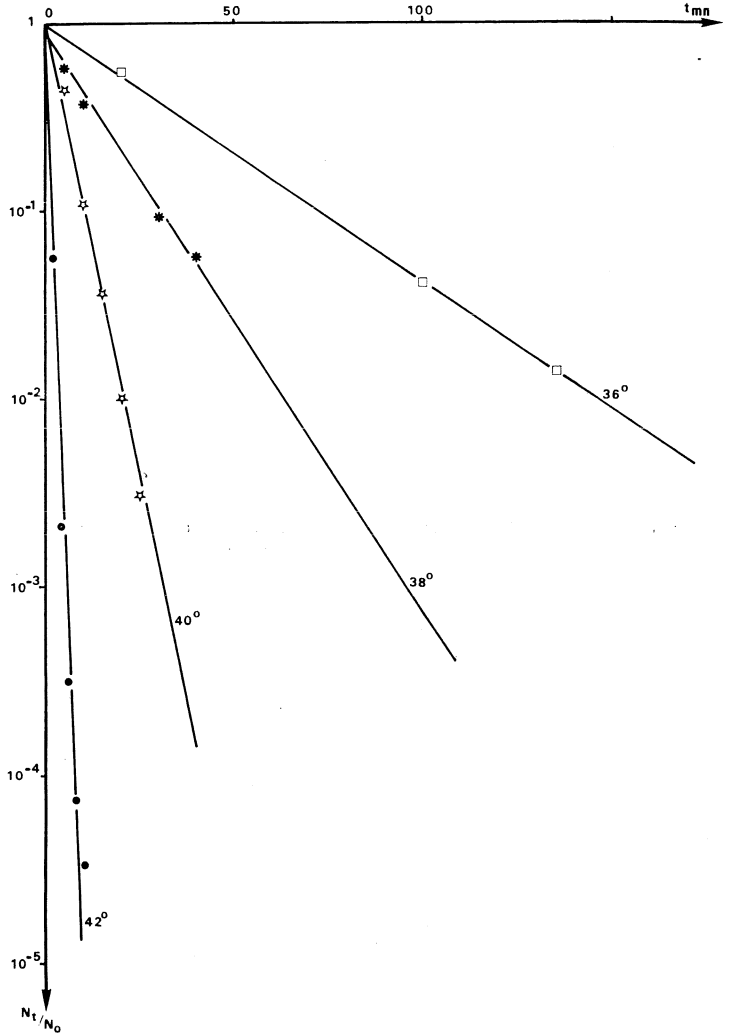


Fig. 9. — Courbes de survie obtenues pour *Saccharomyces bayanus*, dans un vin de 12° d'alcool, à 42, 40, 38 et 36 °C.

Les valeurs de z pour ces levures sont comprises dans la fourchette, 3 à 5 °C, donnée par HANSEN et RIEMANN (1963). Le classement de ces quatre espèces par ordre de sensibilité croissante est le suivant : *Saccharo-*

mycodes ludwigii, qui avec un z de 3,23 °C est la plus sensible, *Saccharomyces bayanus, Saccharomyces bailii* et enfin *Saccharomyces cerevisiae.*

Pour *Saccharomyces cerevisiae,* le z trouvé, 4,34 °C, est voisin de celui que l'on peut déduire de la courbe de résistance thermique de VAN UDEN et *al.* (1968), qui est de 4,4 °C, et de celui donné par SPLITTSTOESSER et *al.* (1975) qui est de 4,5 °C. Enfin on peut déduire, de notre courbe de résistance thermique, une valeur de D à 49 °C de 0,55 mn, valeur du même ordre que celles déterminées par SPLITTSTOESSER et *al.* (1975) dans un milieu de composition voisine et comprises entre 0,1 et 1,6 minutes.

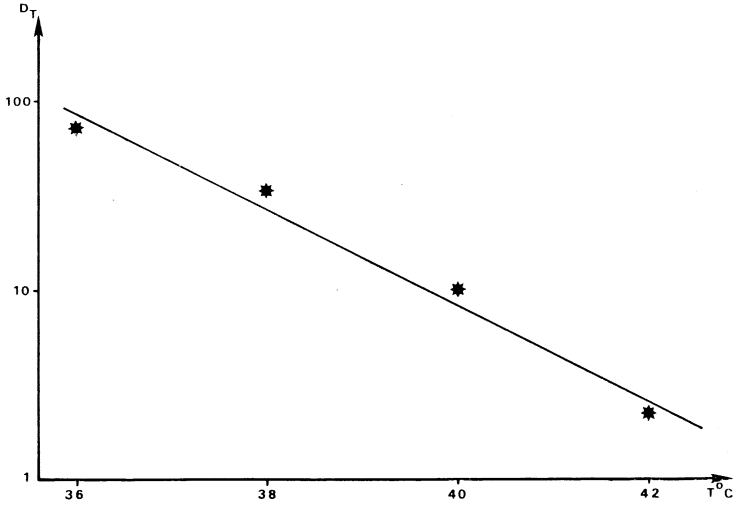


Fig. 10. — Courbe de résistance thermique de *Saccharomyces bayanus,* dans un vin de 12° d'alcool.

TABLEAU I

Thermorésistance de *Saccharomyces cerevisiae* : valeurs de D à quatre températures et valeur de z.

	D				z
	44 °C	42,5 °C	41 °C	39,5 °C	
Valeurs de : D en mn z en °C	7,63	17,8	40,6	82,3	4,34
Coefficients de corrélation	— 0,999	— 0,999	— 0,998	— 0,997	— 0,999

TABLEAU II

Thermorésistance de *Saccharomyces bayanus* : valeurs de D à quatre températures et valeur de z.

	D				z
	42 °C	40 °C	38 °C	36 °C	
Valeurs de : D en mn z en °C	2,2	10,05	32,7	72,8	3,94
Coefficients de corrélation	— 0,975	— 0,998	— 0,994	— 1,00	— 0,991

TABLEAU III

Thermorésistance de *Saccharomyces bailii* : valeurs de D à quatre températures et valeur de z.

	D				z
	42 °C	40,5 °C	39 °C	37,5 °C	
Valeurs de : D en mn z en °C	13,4	41,6	89,5	155,3	4,26
Coefficients de corrélation	— 0,986	— 0,995	— 0,996	— 0,992	— 0,987

TABLEAU IV

Thermorésistance de *Saccharomycodes ludwigii* : valeurs de D à quatre températures et valeur de z.

	D				z
	40 °C	38,5 °C	37 °C	35,5 °C	
Valeurs de : D en mn z en °C	10,6	31,0	105,6	250	3,23
Coefficients de corrélation	— 0,994	— 0,995	— 0,976	— 0,985	— 0,998

3. INFLUENCE DE DIFFERENTS FACTEURS SUR LA THERMORESISTANCE DE *SACCHAROMYCES BAYANUS* :

Il est connu que z est caractéristique d'une souche et est peu influencé par les conditions de culture et de chauffage. Ceci signifie que le milieu influe sur la thermorésistance, mais de la même manière quelle que soit la température.

Nous avons vérifié, dans le cas de *Saccharomyces bayanus,* que la variation de z est faible en fonction du degré alcoolique ; cette valeur est de 3,94 °C pour 12 °GL, de 4,09 °C pour 13 °GL et de 3,80 °C pour 11,65 °GL.

Pour cette raison, dans notre étude des facteurs de la thermorésistance des levures, nous nous sommes exclusivement attachés à la détermination de D.

a) **Influence du degré alcoolique :**

Nous avons déterminé les valeurs de D à 40 °C sur la même suspension de levures et dans un vin de 11, 12 et 13 °GL. Ces vins ont été préparés par modification d'un vin de 12 °GL. Les valeurs de D obtenues et les coefficients de corrélation des courbes de survie sont donnés dans le tableau V.

TABLEAU V

Influence du degré alcoolique sur la thermorésistance de *Saccharomyces bayanus*.

Degré alcoolique	D à 40 °C en mn	Coefficient de corrélation
11 °GL	50,1	— 0,999
12 °GL	33,6	— 0,999
13 °GL	23,1	— 0,998

Les temps de réduction décimale mettent en évidence une plus grande sensibilité à la chaleur quand le degré alcoolique augmente. D'après ce résultat, en accord avec celui de SPLITTSTOESSER et *al.* (1975), il faut un temps de chauffage deux fois plus long pour stériliser un vin de 11 °GL que pour stériliser un vin de 13 °GL.

b) **Influence de la teneur en sucres :**

Les courbes de survie ont été établies à 42 °C sur la même culture dans un vin sec de 12 °GL, ainsi que dans le même vin amené à 48 et 96 grammes de sucres réducteurs par litre. Les valeurs D obtenues et les coefficients de corrélation correspondants sont regroupés dans le tableau VI.

Ces valeurs montrent une action protectrice de la teneur en sucres nettement plus importante que celle mentionnée par SPLITTSTOESSER et *al.* (1975).

TABLEAU VI

Influence de la teneur en sucres sur la thermorésistance de *Saccharomyces bayanus*.

Sucres g/l	D à 42 °C en mn	Coefficient de corrélation
< 2	2,74	— 0,999
48	4,43	— 0,997
96	7,20	— 0,997

c) **Influence du pH :**

Les valeurs des temps de réduction décimale à 40 °C ont été déterminées dans un vin de 12 °GL dont le pH a été ajusté à 3,00, 3,40 et 3,80. Ces valeurs et celles des coefficients de corrélation des courbes de survie sont données dans le tableau VII.

TABLEAU VII

Influence du pH sur la thermorésistance de *Saccharomyces bayanus*.

pH	D à 40 °C en mn	Coefficient de corrélation
3,00	6,0	— 0,995
3,40	12,8	— 0,999
3,80	20,8	— 0,996

Les résultats montrent que la souche étudiée est beaucoup plus sensible quand le pH est plus acide. Les différences constatées sont, dans ce cas également, plus importantes que celles indiquées par SPLITTSTOESSER et *al.* (1975).

d) **Influence de l'âge de la culture :**

Pour étudier cette influence nous avons ensemencé un moût de raisin renfermant 201 g de sucres par litre, par une souche de *Saccharomyces bayanus.* Les courbes de survie ont été déterminées à 40 °C après 1, 7 et 14 jours de culture. Les teneurs en sucres étaient alors respective-

ment de 200, 32 et de moins de 2 g par litre. La quantité de sucres fermentés, les valeurs de D et les coefficients de corrélation des courbes de survie sont regroupés dans le tableau VIII.

TABLEAU VIII

Influence de l'âge de la culture sur la thermorésistance de *Saccharomyces bayanus*.

Nombre de jours de culture	Sucres fermentés g/l	D à 40 °C en mn	Coefficient de corrélation
1	1	2,40	— 0,973
7	169	8,0	— 0,992
14	201	21,9	— 0,997

Les temps de réduction décimale obtenus montrent une sensibilité beaucoup plus grande au début de la fermentation, correspondant à la phase de multiplication des cellules, puis une augmentation de la thermorésistance au cours de la fermentation.

APPLICATION AUX TRAITEMENTS PRATIQUES DE PASTEURISATION DES VINS

1. EXPRESSION DE L'EFFICACITE D'UN TRAITEMENT THERMIQUE EN UNITES DE PASTEURISATION :

Lors d'un traitement industriel, on obtient rarement un chauffage à température constante ; il faut éventuellement tenir compte des temps de montée et de descente en température dont l'importance n'est pas toujours négligeable. Il est donc intéressant de pouvoir exprimer l'efficacité globale d'un traitement thermique au moyen d'une seule grandeur qui tienne compte des différents paramètres du chauffage.

a) **Unités de pasteurisation :**

Pour un microorganisme donné, à chaque température létale correspond un degré d'efficacité sur la destruction de ce microorganisme ; comme nous l'avons vu, il varie de façon logarithmique avec la température.

STUMBO (1949) donne le nom de « lethal rate value » ou « niveau létal » à ce degré d'efficacité représenté par l'inverse du TDT à cette température. Le produit de ce « niveau létal » par le temps d'application de la température est exprimé en unités de létalité ; une « unité de létalité » correspond à un traitement juste suffisant pour stériliser un milieu donné, pour une concentration en microorganismes donnée. Pour un traitement thermique, on peut calculer, pour chaque température, un

niveau létal et tracer la courbe de variation du niveau létal en fonction du temps au cours du traitement. La courbe obtenue est appelée courbe de létalité. La surface comprise entre cette courbe et l'axe des abcisses représente l'efficacité de l'ensemble du traitement.

On utilise en brasserie, à la suite des travaux de BENJAMIN (1958), une méthode légèrement différente. Elle consiste à exprimer globalement l'efficacité d'un traitement de pasteurisation en « unités de pasteurisasation ». Par convention, une unité de pasteurisation correspond à l'efficacité d'un chauffage de 1 minute à 60 °C. Le degré d'efficacité de la température est appelé « vitesse de destruction biologique » ou VDB et le produit de cette VDB par le temps d'exposition représente le nombre d'unités de pasteurisation fourni par le chauffage.

La vitesse de destruction biologique est inversement proportionnelle au temps qu'il faut pour obtenir une certaine destruction, donc en particulier au temps de réduction décimale. Donc :

$$VDB_T = k. \frac{1}{D_T}$$

Or, nous avons vu que :

$$\log \frac{D_{T_1}}{D_{T_2}} = \frac{T_2 - T_1}{z}$$

Par conséquent :

$$\log \frac{VDB_{T_1}}{VDB_{T_2}} = \frac{T_1 - T_2}{z}$$

Par convention, la vitesse de destruction biologique à 60 °C est prise égale à 1, on aura donc :

$$\log VDB_T = \frac{T - 60}{z} \quad \text{ou} \quad VDB_T = e^{2,303. \frac{T - 60}{z}} \qquad (7)$$

L'intérêt de ce mode d'expression résulte du fait que la vitesse de destruction biologique dépend exclusivement de la température et de la valeur z, caractéristique du microorganisme ; elle ne dépend pas du temps de destruction thermique, donc du milieu. Elle est obtenue par le calcul.

A partir de la formule (7) nous avons donc calculé, pour diverses températures, les vitesses de destruction biologique, pour des valeurs de z de 4,00, 4,25 et 4,50 °C (tableau IX). En brasserie on utilise couramment une valeur de z de 12,5 °F, soit 6,94 °C, car la pasteurisation doit éliminer non seulement les levures mais aussi les bactéries qui sont plus résistantes à la chaleur. Dans le cas des vins liquoreux, leur protection contre les oxydations suppose une certaine quantité de SO_2 libre suffisante pour inhiber le développement des bactéries. Dans la suite de nos calculs nous utilisons 4,5 comme valeur de z.

TABLEAU IX

Vitesse de destruction biologique à différentes températures pour des valeurs z de 4,00, 4,25 et 4,50 °C.

T°C	VDB 4,00 °C	VDB 4,25 °C	VDB 4,50 °C	T°C	VDB 4,00 °C	VDB 4,25 °C	VDB 4,50 °C
40	$1 .10^{-5}$	$2. 10^{-5}$	$3,6.10^{-5}$	63	5,62	5,08	4,64
41	$1,8.10^{-5}$	$3,4.10^{-5}$	$6 .10^{-5}$	64	10	8,73	7,74
42	$3,2.10^{-5}$	$5,8.10^{-5}$	$1 .10^{-4}$	65	17,8	15	12,92
43	$5,6.10^{-5}$	$1 .10^{-4}$	$1,7.10^{-4}$	66	31,6	25,8	21,5
44	$1 .10^{-4}$	$1,7.10^{-4}$	$2,8.10^{-4}$	67	56,2	44,4	35,9
45	$1,8.10^{-4}$	$3 .10^{-4}$	$4,6.10^{-4}$	68	100	76,3	59,9
46	$3,2.10^{-4}$	$5,1.10^{-4}$	$7,7.10^{-4}$	69	178	131	100
47	$5,6.10^{-4}$	$8,7.10^{-4}$	$1,3.10^{-3}$	70	316	225	167
48	$1 .10^{-3}$	$1,5.10^{-3}$	$2,2.10^{-3}$	71	562	387	278
49	$1,8.10^{-3}$	$2,6.10^{-3}$	$3,6.10^{-3}$	72	1000	666	464
50	$3,2.10^{-3}$	$4,4.10^{-3}$	$6 .10^{-3}$	73	1780	1145	774
51	$5,6.10^{-3}$	$7,6.10^{-3}$	$1 .10^{-2}$	74	3160	1970	1290
52	$1. 10^{-2}$	$1,3.10^{-2}$	$1,7.10^{-2}$	75	5620	3380	2150
53	$1,8.10^{-2}$	$2,3.10^{-2}$	$2,8.10^{-2}$	76	10000	5820	3590
54	$3,2.10^{-2}$	$3,9.10^{-2}$	$4,6.10^{-2}$	77	17800	10000	5990
55	$5,6.10^{-2}$	$6,7.10^{-2}$	$7,7.10^{-2}$	78	31600	17200	10000
56	0,1	0,11	0,13	79	56200	29550	16700
57	0,18	0,20	0,22	80	100000	50800	27800
58	0,32	0,34	0,36	81	$1,78.10^5$	$8.73.10^4$	$4,64.10^4$
59	0,56	0,58	0,60	82	$3,16.10^5$	$1,50.10^5$	$7,74.10^4$
60	1	1	1	83	$5,62.10^5$	$2,58.10^5$	$1,29.10^5$
61	1,78	1,72	1,67	84	$1,00.10^6$	$4,44.10^5$	$2,15.10^5$
62	3,16	2,96	2,78	85	$1,78.10^6$	$7,63.10^5$	$3,59.10^5$

b **Calcul des unités de pasteurisation :**

— *cas d'un chauffage à température constante T :*

Le nombre d'unités de pasteurisation est égal au produit de la vitesse de destruction biologique à cette température par son temps de maintien exprimé en minutes.

$$UP = VDB_T . t_{mn} = t . e^{2,303. \frac{T - 60}{z}}$$

— *cas d'un chauffage à température variable :*

On peut considérer qu'un tel chauffage est la somme d'une infinité de chauffages élémentaires à température constante T, pendant un temps très court dt. L'efficacité de chacun de ces chauffages élémentaires est : $VDB_T.dt$. L'efficacité globale du traitement est la somme des efficacités de chacun de ces chauffages élémentaires, soit :

$$\int_0^t VDB.dt \text{ avec } VDB = f(t)$$

Dans le cas où la variation de température en fonction du temps n'est pas une fonction mathématique simple, on peut déterminer graphiquement cette intégrale. Il suffit de tracer, d'une part la courbe de variation de la température en fonction du temps qui dépend uniquement des caractéristiques et du débit de l'appareil, d'autre part la courbe de variation de la vitesse de destruction biologique en fonction du temps, qui est déduite point par point de la précédente à l'aide d'un tableau de correspondance (tableau IX par exemple). On mesure ensuite la surface comprise entre la courbe des VDB et l'axe des abcisses. Le nombre d'unités de pasteurisation sera le rapport entre cette surface et la surface correspondant à une unité de pasteurisation (c'est à dire la surface d'un rectangle dont un côté correspond à une minute et l'autre à une VDB de 1). Nous donnons dans la figure 11 un exemple de calcul graphique d'unités de pasteurisation pour l'un des traitements que nous avons effectués. Cette figure comporte la courbe de variation de la température en fonction du temps (en trait continu) et la courbe de variation de la vitesse de destruction biologique qui en est déduite (en traits discontinus) ; l'échelle des VDB est une échelle arbitraire choisie pour des raisons de commodité. La surface correspondant à 10^{-3} UP est délimitée par une VDB de 10^{-2} et par un temps de 0,1 minute. Une telle représentation graphique a déjà été utilisée par ailleurs dans le cas du vin (ANONYME, 1975).

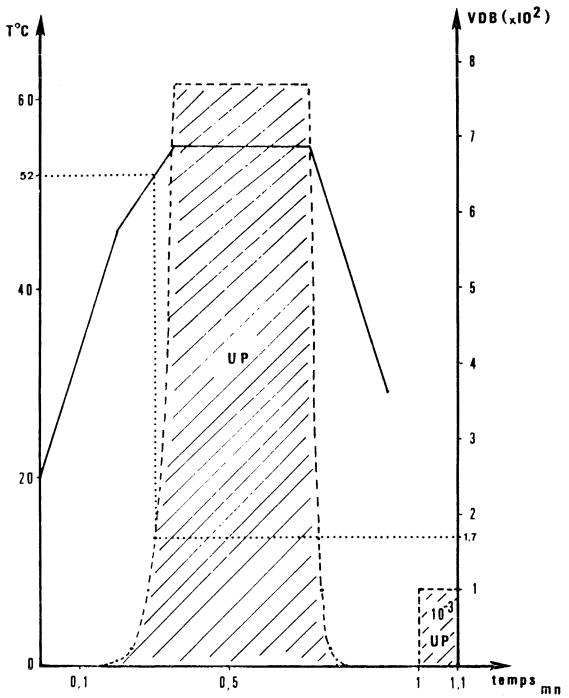


Fig. 11. — Calcul graphique des unités de pasteurisation. Courbe de variation de la température (en traits continus) et de la vitesse de destruction biologique (en traits discontinus) en fonction de la température. La figure montre, à titre d'exemple, comment à une température de 52 °C correspond une VDB de $1,7.10^{-2}$.

Mais dans le cas particulier plus simple où la température varie linéairement en fonction du temps, on peut obtenir la valeur du nombre d'unités de pasteurisation par le calcul. Pour un chauffage provoquant une variation linéaire de température de T_o à $T_o + \Delta T$ pendant un temps de t_o à $t_o + \Delta t$, l'équation $T = f(t)$ est de la forme :

$$T = \frac{\Delta T}{\Delta t} . (t - t_o) + T_o$$

Le nombre d'UP fourni par ce chauffage sera la valeur de l'intégrale :

$$UP = \int_{t_o}^{t_o + \Delta t} e^{2{,}303 . \frac{\frac{\Delta T}{\Delta t} . (t - t_o) + T_o - 60}{z}} . dt$$

On obtient après intégration et simplification :

$$UP = e^{2{,}303 \frac{T_o - 60}{z}} . \frac{z . \Delta t}{2{,}303 . \Delta T} . \left(e^{2{,}303 \frac{\Delta T}{z}} - 1 \right)$$

Dans le cas de l'exemple de la figure 11, l'estimation graphique donne $3{,}11 . 10^{-2}$ UP alors que le calcul donne $3{,}17 . 10^{-2}$ UP. La différence provient de l'imprécision dans le tracé de la courbe de variation des VDB et dans l'estimation de la surface. Compte tenu du fait que, dans les essais de pasteurisation que nous avons effectués, la variation de température peut être décomposée en différentes phases linéaires, nous avons utilisé le calcul, de préférence à la représentation graphique, pour obtenir le nombre d'unités de pasteurisation.

On peut donc caractériser l'efficacité d'un chauffage à une température quelconque par la durée d'un chauffage à 60 °C qui aurait la même efficacité sur le même microorganisme. Par conséquent, le chiffre d'unités de pasteurisation que nous avons effectués, la variation de température peut de même efficacité. Comme nous l'avons vu ce chiffre est, pour un traitement donné, uniquement fonction de la valeur z ; il dépend donc du microorganisme, mais il est peu dépendant des conditions du milieu.

Le raisonnement précédent permet donc de prévoir le nombre d'unités de pasteurisation fourni par un traitement donné. Il importe également de pouvoir calculer le nombre d'unités de pasteurisation nécessaire pour obtenir une certaine destruction dans un milieu donné. Ce calcul est fait à partir du temps de réduction décimale et de la concentration en microorganismes. Par exemple si l'on veut obtenir à partir d'une population de 10^7 germes/ml, un nombre de survivants de 1 germe par litre, soit 10^{-3}/ml, la relation (2).

$$\log \frac{N_t}{N_o} = -\frac{t}{D_T} \quad \text{donne} \quad \log \frac{10^{-3}}{10^7} = -\frac{t}{D_T}$$

$$\text{d'où} \quad -10 = -\frac{t}{D_T}$$

Par conséquent il faut fournir un temps de chauffage égal à 10 fois le temps de réduction décimale (D) à la température considérée. Les unités de pasteurisation étant rapportées à une température de 60 °C, le nombre à fournir devra être de 10 fois le temps de réduction décimale à 60 °C.

Généralement on ne peut pas mesurer directement la valeur de D à 60 °C, car la destruction est trop rapide ; mais on peut l'obtenir à partir de la courbe de résistance thermique ou la calculer à partir de la valeur de D à une autre température, par l'intermédiaire de la relation (6).

2. VERIFICATION DE L'EFFICACITE D'UN TRAITEMENT PRATIQUE DE PASTEURISATION :

a) **Description du pasteurisateur utilisé :**

Nous avons utilisé un pasteurisateur de marque Alfa-Laval. Cet appareil se compose de quatre compartiments (fig. 12). Le premier compartiment (a) réalise un échange thermique entre, d'une part, le vin entrant dans l'appareil et d'autre part, le vin sortant ; ceci permet de récupérer environ 75 p. 100 des calories du vin chaud, d'où une économie importante d'énergie. Dans le deuxième compartiment (b), le vin est chauffé à la température désirée par échange avec un circuit d'eau chaude. Le vin passe ensuite dans un chambreur (c), constitué d'une tubulure permettant de le maintenir quelques instants à la température maximale. A la sortie du chambreur, le vin passe à nouveau dans le premier compartiment (a) où il subit un premier refroidissement, puis est enfin refroidi dans un quatrième compartiment (d), par échange avec un circuit d'eau froide.

Les volumes correspondants sont les suivants :

Pré-chauffage	31,2	litres
Chauffage	23,4	»
Chambrage	56	»
Pré-refroidissement	31,2	»
Refroidissement	28,6	»

b) **Résultats :**

Avec cet appareil, 5 vins différents ont été pasteurisés en fin de fermentation, à différentes températures. Pour chacun des vins le degré alcoolique, le pH et la teneur en sucres ont été mesurés. Enfin à chacune des températures une numération de levures vivantes a été effectuée à la sortie de l'appareil.

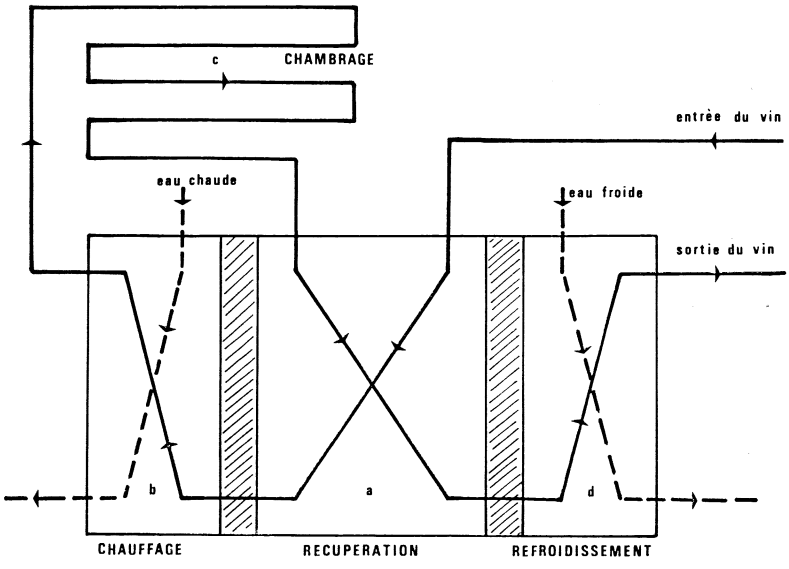


Fig. 12. — Schéma du principe de fonctionnement de pasteurisation utilisé.

Pour chacun des traitements, le nombre d'unités de pasteurisation fourni par le chauffage a été calculé en prenant une valeur pour z de 4,5 °C et en considérant que la variation de température est linéaire dans chaque compartiment. Nous donnons dans le tableau X, pour le vin n° 1, le nombre d'unités de pasteurisation fourni dans chaque compartiment et le nombre total d'UP pour des pasteurisations à des températures maximales de 40, 45, 50, 55 et 60 °C ; le débit de l'appareil était, dans ce cas, de 155 litres par minute. Le tableau XI récapitule pour chacun des vins, sa composition, le nombre de levures vivantes avant traitement, la température maximale de traitement et le nombre d'unités de pasteurisation. Cette valeur n'a pas été calculée pour les températures supérieures à la température minimale de stérilisation complète. Les résultats du tableau XI permettent certaines conclusions :

1) Un chauffage modéré, à une température inférieure à celles généralement proposées, permet dans tous les cas de détruire la population de levures de ces vins. Probablement, des stérilisations incomplètes observées à des températures supérieures ou égales à 70 °C correspondent à des contaminations entre la sortie de l'appareil de chauffage et le prélèvement de l'échantillon. Le nombre d'unités de pasteurisation à fournir est inférieur à 0,5 pour les trois premiers vins, d'un degré alcoolique voisin de 12, et à 0,05 pour les deux derniers de degré supérieur à 14.

TABLEAU X

Détail des unités de pasteurisation fournies lors du chauffage du vin n° 1 à différentes températures (débit : 155 litres/mn). Les temps de séjour dans les différents compartiments sont de : 0,201 mn (pré-chauffage), 0,151 mn (chauffage), 0,361 mn (chambrage), 0,201 mn (pré-refroidissement).

Nombre d'unités de pasteurisation fourni par				Nombre total d'UP
Pré-chauffage	chauffage	chambrage	Pré-refroidissement	
20° ——→ 50° $7{,}86.10^{-5}$	50° → 60° $2{,}86.10^{-2}$	60° → 60° $3{,}61.10^{-1}$	60° ——→ 30° $1{,}31.10^{-2}$	$4{,}04.10^{-1}$
20° ——→ 46° $1{,}17.10^{-5}$	46° → 55° $2{,}51.10^{-3}$	55° → 55° $2{,}80.10^{-2}$	55° ——→ 29° $1{,}17.10^{-3}$	$3{,}17.10^{-2}$
20° ——→ 42,5° $2{,}26.10^{-6}$	42,5° → 50° $2{,}31.10^{-4}$	50° → 50° $2{,}17.10^{-3}$	50° ——→ 27,5° $1{,}05.10^{-5}$	$2{,}50.10^{-3}$
20° ——→ 39° $4{,}46.10^{-7}$	39° → 45° $2{,}18.10^{-5}$	45° → 45° $1{,}68.10^{-4}$	45° ——→ 26° $9{,}61.10.^{-6}$	$2{,}00.10^{-4}$
20° ——→ 35° $7{,}29.10^{-8}$	35° → 40° $1{,}96.10^{-6}$	40° → 40° $1.30.10^{-5}$	40° ——→ 25° $9{,}42.10^{-7}$	$1{,}59.10^{-5}$

2) Les chiffres précédents sont cependant plus importants que ceux prévus. La souche la plus résistante que nous ayons testée au laboratoire possédait un temps de réduction décimale, à 44 °C et pour 12 °GL d'alcool, inférieur à 8 minutes ; pour passer de 10^7 levures vivantes par ml à 1 levure vivante par ml, il faudrait un temps de chauffage égal à 7 fois la valeur de D, soit un nombre d'unités de pasteurisation d'environ 0,016. De même SPLITTSTOESSER et *al.* (1975) donnent, pour la souche la plus résistante, un D de 1,6 mn à 49 °C et pour 12,1 p. 100 d'alcool ; il faudrait dans ce cas 0,04 UP pour avoir la même réduction de la population de levures. Après de tels traitements (même nombre d'UP) les résultats du tableau XI montrent, avec des vins de composition voisine, des concentrations importantes en levures vivantes.

3) Si l'on trace les courbes de variation des logarithmes des rapports entre le nombre de microorganismes vivants après traitement (N_m) et ce nombre avant traitement (N_o), en fonction du nombre d'unités de pasteurisation fourni par le chauffage, on doit en théorie obtenir une droite dans le cas d'une souche homogène. Les 5 vins étudiés (fig. 13) donnent des courbes montrant une destruction rapide au départ, suivie d'une destruction plus lente. De telles courbes sont caractéristiques d'une population de résistance thermique hétérogène (fig. 3, type D). On peut en conclure qu'un

vin en fin de fermentation renferme des levures de résistances différentes, dont certaines sont plus résistantes que celles que nous avons testées au laboratoire.

TABLEAU XI

Pasteurisation de 5 vins différents dans les conditions de la pratique.

Vin N°	Composition du vin			Nbre de levures vivantes par ml avant traitement	Température maximale de traitement °C	Nbre de levures vivantes par ml après traitement	Unités de Pasteurisation
	Degré	pH	sucre g/l				
1	11°55	3,45	< 2	$2{,}1 \cdot 10^{7}$	75	< 1	
					70	< 1	
					65	< 1	
					60	< 1	$4{,}04.10^{-1}$
					55	7	$3{,}17.10^{-2}$
					50	$2{,}1 \cdot 10^{6}$	$2{,}5 \cdot 10^{-3}$
					45	$1{,}56.10^{7}$	$2 \cdot 10^{-4}$
					40	$1{,}89.10^{7}$	$1{,}59.10^{-5}$
2	12°1	3,42	< 2	$3{,}05.10^{7}$	65	< 1	
					60	< 1	$4{,}54.10^{-1}$
					57	15	$9{,}83.10^{-2}$
					54	$4{,}2 \cdot 10^{2}$	$2{,}14.10^{-2}$
					51	$3{,}8 \cdot 10^{5}$	$4{,}65.10^{-3}$
3	11°8	3,75	94	$1{,}7 \cdot 10^{7}$	67	< 1	
					61	< 1	$6{,}15.10^{-1}$
					57	$8{,}9 \cdot 10^{2}$	$8{,}03.10^{-2}$
					53,5	$1{,}7 \cdot 10^{4}$	$1{,}35.10^{-2}$
					51	$1{,}6 \cdot 10^{6}$	$3{,}79.10^{-3}$
4	14°8	3,80	61	$4{,}5 \cdot 10^{6}$	60	< 1	
					58	< 1	
					56	< 1	$4{,}82.10^{-2}$
					54	8	$1{,}74.10^{-2}$
					52	$4 \cdot 10^{2}$	$6{,}29.10^{-3}$
5	14°1	3,85	94	$5{,}6 \cdot 10^{6}$	60	< 1	
					56	< 1	
					54	< 1	$1{,}75.10^{-2}$
					52	$4{,}2\ 10^{2}$	$6{,}32.10^{-3}$
					50	$2{,}4 \cdot 10^{3}$	$2{,}29.10^{-3}$

4) Pour interpréter ces différences entre les pasteurisations industrielles et les pasteurisations au laboratoire, il faut aussi tenir compte de la dispersion des temps de séjour dans les appareils de grand débit ; il en résulte qu'une partie du liquide passe plus vite et une autre plus lentement

par rapport au temps de séjour moyen mesuré ; par conséquent on peut s'attendre à une diminution de l'effet de destruction. A titre d'exemple, si l'on suppose que le temps de réduction décimale à une température est de 0,1 mn, on passera de 10^5 à 1 cellule par ml en 0,5 minute. Mais si l'on considère qu'une moitié du liquide est chauffée pendant 0,6 mn et l'autre pendant 0,4 mn, on aura toujours un temps moyen de chauffage de 0,5 mn, mais il restera 10 cellules par ml dans la première moitié et 0,1 dans la seconde ; la concentration moyenne sera d'environ 5 cellules par ml. Ce phénomème ne paraît cependant pas suffisant pour expliquer les différences entre les valeurs constatées et celles prévues.

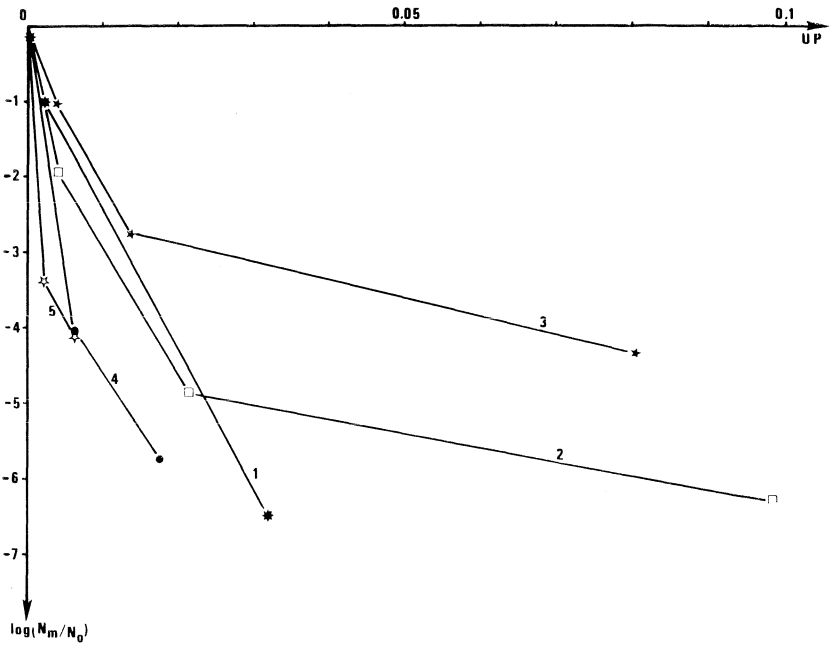


Fig. 13. — Variation du logarithme du rapport entre le nombre de levures survivantes après traitement (N_m) et le nombre de levures vivantes avant traitement (N_o), en fonction du nombre d'unités de pasteurisation fourni par le chauffage, pour les 5 vins traités.

5) On constate que la considération du degré alcoolique, du pH et de la teneur en sucres est insuffisante pour expliquer les différences de comportement entre les vins. Si l'on compare le cas des vins n° 1 et n° 2, qui sont tous les deux secs et de pH voisins, on voit que le chauffage doit être plus important pour stériliser le vin n° 2 alors qu'il possède un degré alcoolique supérieur. De même le vin n° 4, d'un pH voisin de celui du vin n° 5, mais plus riche en alcool et moins riche en sucres, a un comportement assez voisin de celui du vin n° 5. Pour interpréter ces différences il faudrait faire intervenir d'autres facteurs de la composition des vins, ou plus vraisemblablement la plus ou moins grande résistance des microorganismes qu'ils contiennent.

CONCLUSIONS

La thermorésistance d'un microorganisme peut être caractérisée par deux critères : a) le temps de réduction décimale (D) représente le temps de chauffage nécessaire, à une température constante, pour réduire une population au dixième de sa valeur ; b) la variation de température qui permet de multiplier ou de diviser D par 10, appelée z. La valeur D dépend du microorganisme, des conditions de culture et du milieu de chauffage ; par contre la valeur z ne dépend pratiquement que du microorganisme.

Quatre souches de levures testées sont classées par ordre de sensibilité croissante, en fonction de z et de D à 40 °C :

Saccharomycodes ludwigii	z = 3,23 °C	D_{40} = 10,8 mn
Saccharomyces bayanus	z = 3,94 °C	D_{40} = 8,45 mn
Saccharomyces bailii	z = 4,26 °C	D_{40} = 46,1 mn
Saccharomyces cerevisiae	z = 4,34 °C	D_{40} = 65,7 mn

L'étude de l'influence de différents facteurs sur la thermorésistance d'une souche de *Saccharomyces bayanus* a montré :

1) une résistance deux fois plus faible dans un vin de 13 °GL par rapport à un vin de 11 °GL ;

2) une résistance environ trois fois plus grande dans un vin renfermant 100 g de sucres par litre par comparaison au vin sec correspondant ;

3) la nécessité d'un chauffage trois fois plus long pour stériliser un vin de pH 3,80 par rapport au même vin à pH 3,00 ;

4) une résistance dix fois plus grande en fin de fermentation que pendant la phase de multiplication logarithmique.

L'efficacité d'un traitement thermique quelconque se mesure en unités de pasteurisation qui représentent le temps d'un traitement à 60 °C ayant la même efficacité sur un microorganisme donné que le traitement considéré. D'un autre côté, à partir des critères de la thermorésistance de la levure dans un milieu, on peut prévoir le nombre d'unités de pasteurisation nécessaire pour obtenir une certaine destruction.

Les études effectuées au laboratoire laissaient prévoir, pour des vins secs de 12 °GL, que 0,05 UP (soit un chauffage de 3 secondes à 60 °C ou 5 mn à 51 °C) était suffisante pour obtenir la destruction des levures. Dans la pratique il faut fournir 0,5 UP (soit un chauffage de 30 secondes à 60 °C ou 50 mn à 51 °C) pour stériliser de tels vins. La différence peut s'interpréter par l'hétérogénéité du chauffage dans les appareils industriels et par l'existence dans les vins en fin de fermentation de souches de levures particulièrement résistantes.

En outre, compte tenu du fait qu'un sulfitage modéré reste nécessaire pour protéger les vins doux de l'oxydation et qu'un tel sulfitage accroît la sensibilité des levures à la chaleur, on peut envisager d'améliorer l'efficacité d'un traitement thermique par injection d'anhydride sulfureux à l'entrée de l'échangeur de température. Cette question est actuellement à l'étude.

Ces résultats montrent la relative facilité de destruction thermique des levures ; ils permettent de fixer les conditions opératoires adaptées à chaque cas particulier. Sur le plan pratique, la principale difficulté intervient après le traitement proprement dit, pour éviter les contaminations ultérieures.

Manuscrit reçu le 7 février 1977.

RÉSUMÉ

La thermorésistance des micro-organismes peut être caractérisée : par le temps de chauffage nécessaire, à une température constante, pour réduire une population au dixième de sa valeur (D) et par la variation de température (z) permettant de modifier D par un facteur 10. Ces critères ont été déterminés pour quatre souches de levures importantes en vinification des vins blancs liquoreux. L'influence du degré alcoolique, du pH, de la teneur en sucres et de l'âge de la culture sur la thermorésistance a été étudiée sur une souche de *Saccharomyces bayanus.*

A partir de cette étude théorique il a été possible d'effectuer le contrôle de l'efficacité de traitements thermiques réalisés à l'échelle de la pratique sur des vins liquoreux.

SUMMARY

The thermal resistance of microorganisms can be characterised by, firstly, the length of time of heating, at a constant temperature, necessary to destroy 90 % of a population, (D), and secondly by the temperature variation (z) which will modify D by a factor of 10. These values were determined for four yeast strains, which are all important in the vinification of white dessert wines. The influence of alcohol, pH, sugar concentration and the age of the culture upon the thermal resistance were studied with one strain of *Saccharomyces bayanus.*

Applying these theoritical considerations, it was possible to monitor the effectiveness of heat treatments found in the vinification of these wines.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Wärmeresistenz der Mikroorganismen kann charakterisiert werden : durch die Wärmeperiode, die bei konstanter Temperatur notwendig ist, um eine Bevölkerung auf ein Zehntel des Anfangwertes zu reduzieren (D) und durch die Temperaturschwankung (z), die die Anderung von D durch den Faktor 10 gestattet. Diese Masstäbe sind an vier Hefestämmen ermittelt worden, die bei der Herstellung von süssen Weissweinen wichtig sind. Der Einfluss des Alkoholgrades, des pH, des Zuckergehaltes und des Alters der Kultur auf die Wärmeresistenz sind an einem Stamm von *Saccharomyces bayanus.*

Ausgehend von dieser thoeretischen Studie ist es möglich, gewesen, die Kontrolle der Wirksamkeit der Thermabehandlungen vorzunehmen, die in der Praxis bei süssen Worden sind.

RESUMEN

La thermoresistencia de los microorganismos puede estar caracterizada : por el tiempo de calentamiento necesario, a una temperatura constante, para reducir una población al décimo de su valor (D) y por la variación de temperatura (z) permitiendo modificar D por un factor 10. Estos criterios han estado determinados para cuatro cepas de levaduras importantes en vinificación de vinos blancos licorosos. La influencia del grado alcohólico, del pH, de la tenor en azúcar y de la edad del cultivo sobre la termoresistencia ha estado estudiado sobre una cepa de *Saccharomyces bayanus.*

A partir de este estudio teórico ha sido posible efectuar el control de la eficacitez de tratamientos térmicos realisados a una escala práctica sobre vinos licorosos.

RIASSUNTO

La termoresistenza dei microorganismi puo essere caratterizzata : per il tempo di riscaldamento necessario, a una temperatura constante, per ridurre una popolazione al decimo del suo valore (D) e per la variazione della temperatura (z) permettendo di modificare D per un fattore 10. Questi criteri sono stati determinati su quattro ceppi di lieviti importanti nella vinificazione di vini bianchi liquorosi. L'influenza del grado alcoolico, del pH, del tenore in zuccheri e del tempo della coltura sulla termoresistenza e stata studiata su un ceppo di *Saccharomyces bayanus.*

A partire da questo studio teorico e stato possibile di effettuare il controllo delli efficacita dei trattamenti termici realizzati sulla scala della pratica dei vini liquorosi.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANONYME, 1975. Elaboration des vins blancs liquoreux à taux réduit de SO_2. *Chambre d'Agriculture de la Gironde.*

BAILLOT D'ESTIVAUX L., 1958. La conservation des vins blancs en bouteilles sans anhydride sulfureux. *C.R. Acad. Agric.,* **44**, 342-345.

BALL C.O., 1923. Thermal process time for canned foods. *Bull. Natl. Research council,* Part **I**, 7, n° 37, cité par C.R. STUMBO (1949).

BALL C.O., 1928. Mathematical solution of problems on thermal processing of canned food. Univ. Calif. (Berkeley). *Pubs in public Health, I,* 15-245, cité par C.R. STUMBO (1949).

BEAMER P.R. et TANNER F.W., 1939. Heat resistance studies on selected yeasts. *Zentralbatt Bakt. Parasit. Infek. und Hygiene,* **II**, n° 100, 202-211.

BENJAMIN H.A. Rapport (non publié) de l'American Can C°, cité par F.C. BASELT, (1958). *Brewers digest.*, p. 56.

BIGELOW W.D., 1921. The logarithmic nature of thermal death time curves. *The journal of infectious diseases,* **29**, n° 5, 528-536.

BIGELOW W.D. et ESTY J.R., 1920. The thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. *The journal of infectious diseases,* **27**, n° 6, 602-617.

BROWN M. R. W. et MELLING J., 1971. Inhibition and destruction of micro-organisms by heat in *inhibition and destruction of the microbial cell.* ed by HUGO, Academic Press LONDON. NEW-YORK.

CHICK H., 1908. An investigation of the laws of disinfection. *J. Hyg.,* **8**, 92-158, cité par C.F. SCHMIDT (1957).

CHICK H., 1910. The process of disinfection by chemical agencies and hot water. *J. Hyg.,* **10**, 237-286, cité par C.F. SCHMIDT (1957).

DE CLERCK J., 1962. *Cours de brasserie.* Ed. Université de Louvain.

DOUTSIAS G., 1972. Etude de la thermorésistance d'une souche de *Pichia Etchellsii* isolée de saumures d'olives vertes. *Mémoire diplôme d'Etudes Supérieures.* Fac. Sciences, Dijon.

ELLIKER P.R. et FRAZIER W.V., 1938. Influence of time and temperature of incubation on heat resistance of *Escherichia Coli. J. Bact.* **36**, 83-98.

HANSEN N.H. et RIEMANN H., 1963. Factors affecting the heat resistance of nonsporing organisms. *J. Appl. Bact.,* **26**, 314-333.

HIATT C.W., 1964. Kinetics of the inactivation of viruses. *Bacteriol. Rev. reviews,* **28**, n° 2, 150-163.

JACOB F.C., ARCHER T.E. et CASTOR J.G.B., 1964. Thermal death time of yeast. *Amer. J. Enol. Vitic.,* **15**, N° 2, 69-74.

MADEN T. et NYMAN H., 1907. Zur Theorie des Desinfection. *Z. Hyg. Infectionskrank,* **57**, 388-404, cité par C.F. SCHMIDT (1957).

MORFAUX J.N., 1973. Théorie de la destruction thermique des germes. Colloque int. d'Œn. d'ARC et SENANS. *N° Spécial Vignes et Vins,* 119-124.

SCHMIDT C.F., 195 . Thermal resistance of microorganisms in *Antiseptics Disinfectants, Fungicides and Sterilization,* ed. by REDDISH C.F., 831-884. Lea and Febiger.

SPLITTSTOESSER D.F., LIENK L.L., WILKINSON H. et STAMER J.R., 1975. Influence of wine composition on the theat resistance of potential spoilage organisms. *Applied microbiol.*, sept, 369-373.

STERN J.A. et PROCTOR B.E., 1954. A micromethod and apparatus for the multiple determinations of rates of destruction of bacteria and bacterial spores subjected to heat. *Food Technol.*, **8**, 139-143.

STUMBO C.R., 1949. Thermobacteriology as applied to food processing. *Adv. Food Res.*, **t 2**, 47-115.

SUGIYAMA H., 1951. Studies on factors affecting the heat resistance of spores of *Clostridium botulinum*. *J. of Bact.*, **62**, 81-96.

VAN UDEN N., ABRANCHES P. et CABEÇA-SILVA C., 1968. Temperature functions of thermal death in yeasts and their relation to the maximum temperature for growth. *Arch. Mikrobiol.*, **61**, 381-393. 381-393.

WHITE H.R., 1963. The effect of variation in pH on the heat resistance of cultures of *Streptococcus faecalis*. *J. Appl. Bact.*, **26**, (I), 91-99.