Connaissance Vigne Vin, 1984, 18, N° 2, 127-133.

CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DES VINS SUR LES CHAINES D'EMBOUTEILLAGE

M. SERRANO

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

Un trouble microbien dans un vin embouteillé constitue un problème grave qu'il se produise après quelques semaines, sur le lieu d'embouteillage, ou plus tard, chez le client. Les contrôles microbiologiques, complétés par le dosage des antiseptiques chimiques et par la mesure de la turbidité, permettent de vérifier la stabilité biologique des produits et de détecter les contaminations apportées par les différents éléments d'une chaîne d'embouteillage. Des exemples d'application pratique sont donnés.

I. — CONTROLE MICROBIOLOGIQUE ET MESURES COMPLEMENTAIRES

1°) **Contrôles microbiologiques**

Les levures et les bactéries viables sont dénombrées à l'aide des techniques décrites par LAFON-LAFOURCADE et JOYEUX (1979). Pour réduire le nombre de manipulations, les bactéries sont comptées en totalité, mais il est possible d'affiner le contrôle en séparant les bactéries lactiques des bactéries acétiques. De même certaines colonies isolées (levures ou bactéries) peuvent être rapidement identifiées à l'aide de leur réponse aux tests des « API system 50 CHL ».

Dans un premier temps, on vérifie les produits embouteillés après concentration des germes par filtration de 200 ml de vin sur membrane. Dans le cas ou des contaminations sont détectées, les différents éléments de la chaîne sont contrôlés en prélevant des échantillons sur la boucheuse, la tireuse, le ou les filtres, la rinceuse ou la laveuse de bouteilles. Les dénombrements des germes viables à l'entrée des filtres sont généralement réalisés sur 1 ml de vin, car les populations sont plus importantes.

Dans un deuxième temps, afin de mieux cerner les foyers de contamination, il est possible de procéder au contrôle des surfaces (becs, réservoirs des tireuses) avec la technique de l'écouvillonnage.

2°) **Techniques de contrôles complémentaires.**

Les contrôles microbiologiques doivent être complétés par le dosage de l'anhydride sulfureux libre, de l'anhydride sulfureux total, éventuellement de l'acide sorbique, car la survie des populations est liée aux doses de ces antiseptiques.

De même la mesure de la turbidité est indispensable ; en effet, un vin peut être stérile et présenter un trouble excessif dû à la présence de particules diverses d'origine non microbienne. Un vin embouteillé doit être brillant et présenter une turbidité inférieure à 1,10 NTU (Unité de Turbidité Néphélométrique) soit environ 3,5 mg de silice par litre (MANDRAU, 1973).

II. — CARACTERISTIQUES DES VINS EMBOUTEILLES

Lorsque le matériel d'embouteillage est stérilisable et que l'aseptisation de celui-ci est réalisée tous les jours avec de la vapeur ou de l'eau chaude (SERRANO et RIBÉREAU-GAYON, 1983) ; si la filtration est effectuée sur plaques stérilisantes (SERRANO, 1981) ou sur membranes les vins embouteillés doivent présenter les caractéristiques analytiques détaillées dans le tableau I.

TABLEAU I

Caractéristiques des vins embouteillés

	Vins avant filtration	Vins embouteillés
Germes viables	$<$ 100/ml	$<$1/200 ml ou $<$ 1/bouteille
SO_2 l (mg/l)	25 à 30 mg/l	$\simeq$ 20 mg/l
Turbidité NTU	$<$ 1,10	0,25 à 0,65

III. — EXEMPLES DE CONTAMINATIONS MICROBIENNES PAR LES DIFFERENTS ELEMENTS DE LA CHAINE D'EMBOUTEILLAGE

1°) Boucheuse liège

Lorsque les nettoyages sont peu fréquents sur les chaînes d'embouteillage, la boucheuse est souvent la cause de contaminations microbiennes.

Le tableau II donne l'exemple de la mise en bouteilles d'un vin blanc sec sur une chaîne où la boucheuse liège n'est pas nettoyée. Après bouchage, la turbidité du vin embouteillé augmente, on dénombre 100 à 200 levures viables pour 200 ml.

Les boucheuses couramment utilisées ne sont pas démontables ni stérilisables. Toutefois, la base des mâchoires de compression en contact avec le goulot des bouteilles peut être nettoyée quotidiennement avec un tampon de coton imbibé d'un antiseptique chimique ; dans ces conditions, des résultats satisfaisants sont obtenus. Cependant, il existe des boucheuses facilement démontables, donc nettoyables ; elles peuvent être maintenues stériles par un flambage continu ; malgré leur prix élevé, leur

TABLEAU II

Contamination par la boucheuse

Mise en bouteilles d'un vin blanc sec

avant filtration — turbidité = 1,10 NTU ; levures viables = 800/200 ml

		Sortie filtre	Bouteilles A	Bouteilles B
Turbidité NTU	1 heure	0,50	0,50	0,62
	3 heures	0,53	0,53	0,87
	6 heures	0,53	0,53	0,75
Levures viables (Nombre/200 ml)	1 heure	< 1	< 1	120
	3 heures	< 1	< 1	150
	6 heures	< 1	< 1	185

A : bouteilles obturées manuellement avec des bouchons caoutchouc stériles.
B : bouteilles obturées par la boucheuse avec des bouchons liège stériles.
Les bouteilles sont préalablement lavées et stérilisées au laboratoire.

TABLEAU III

Contamination par la rinceuse * de bouteilles neuves

* Le rinçage est effectué avec de l'eau non filtrée

Le nombre de levures et de bactéries est exprimé par bouteille.

Identification des bouteilles	levures viables	bactéries viables
bouteilles neuves non rincées (contrôle sur 10 bouteilles)	< 1	< 1
bouteilles neuves rincées. bouteille N° 1	140	46
» » » » N° 2	60	< 1
» » » » N° 3	22	< 1
» » » » N° 4	360	200
» » » » N° 5	2	140
» » » » N° 6	40	< 1
» » » » N° 7	< 1	< 1
» » » » N° 8	< 1	< 1
» » » » N° 9	274	< 1
» » » » N° 10	56	4

TABLEAU IV

Contamination par la tireuse

Mise en bouteille d'un vin rouge

Avant filtration

turbidité : 0,69 NTU
levures viables : 14000/200 ml
bactéries viables : 6000/200 ml
anhydride sulfureux libre : 25 mg/l

Niveau des prélèvements		Sortie du filtre stérilisé	Tireuse non stérilisée
Turbidité NTU	t = 1 heure	0,31	0,44
	t = 4 heures	0,31	0,44
	t = 8 heures	0,37	0,41
Levures viables (Nombre/200 ml)	t = 1 heure	< 1	25
	t = 4 heures	< 1	10
	t = 8 heures	< 1	< 1
Bactéries viables (Nombre/200 ml)	t = 1 heure	< 1	> 5000
	t = 4 heures	< 1	> 5000
	t = 8 heures	< 1	> 5000

Les bouteilles prélevées sur la tireuse sont préalablement lavées et stérilisées au laboratoire, après remplissage sur la chaîne elles sont obturées manuellement avec des bouchons de caoutchouc stériles.

TABLEAU V

Contamination par une cuve tampon

Identification de l'échantillon	Turbidité NTU	Levures viables (Nbre/200 ml)	Bactéries viables (Nbre/200 ml)
Avant filtration	0,75	4000	18000
Sortie filtre plaques stérilisantes	0,37	< 1	< 1
Cuve tampon	0,75	2000	25000

La cuve de tirage est constituée par une cuve tampon placée entre le filtre et la tireuse.

emploi devrait se généraliser. Dans tous les cas, il faut surveiller le niveau de remplissage des bouteilles car, si du vin est expulsé lors de l'enfoncement des bouchons, il peut se produire des contaminations par aspersion.

2°) **Rinceuse de bouteilles neuves**

Le tableau III donne le résultat de contrôles réalisés sur une machine dans un état de propreté douteux et alimentée avec de l'eau non filtrée. On ne dénombre pas de germes viables dans les bouteilles neuves prélevées dans les housses. Par contre, après rinçage, les mêmes bouteilles contiennent des quantités variables de levures et de bactéries qui polluent les vins embouteillés. L'expérience montre que ces contaminations disparaissent dès que les rinceuses sont correctement nettoyées et alimentées avec de l'eau filtrée.

3°) **Tireuse**

Le tableau IV montre les contaminations apportées par la tireuse lors de la mise en bouteilles d'un vin rouge avec filtration sur plaques stérilisantes. Dans cet exemple, seul, le filtre est stérilisé. Au cours de l'embouteillage les turbidités sont faibles à la sortie du filtre, le vin est quasi stérile. Mais les échantillons prélevés sur la tireuse font apparaître une forte contamination microbienne ; bien que les turbidités soient peu élevées, le nombre de bactéries viables est du même ordre que celui observé avant filtration.

4°) **Cuve tampon**

Pour éviter les contaminations microbiennes, il est conseillé de supprimer les cuves tampon placées entre les filtres et les tireuses. Cepen-

TABLEAU VI

Contamination par le filtre

Filtration d'un vin blanc moelleux

avant filtration : turbidité : 1,25 NTU ; levures viables : 1000/200 ml

		Filtre non stérilisé	Filtre stérilisé
Turbidité NTU	t = 5 mn	0,97	0,56
	t = 4 heures	0,87	0,62
	t = 8 heures	0,84	0,66
Levures viables (Nombre/200 ml)	t = 5 mn	70	< 1
	t = 4 heures	20	< 1
	t = 8 heures	10	< 1

dant, ce schéma d'installation existe encore dans certaines entreprises. Les difficultés de nettoyage de ces cuves expliquent des pollutions importantes (tableau V).

5°) **Filtre**

Le tableau VI donne l'exemple de la filtration sur plaques stérilisantes d'un vin blanc doux avec deux filtres identiques fonctionnant en parallèle. Le premier est simplement nettoyé à l'eau sous pression et égoutté avant mise en place des plaques (pratique courante dans de nombreux chais), le deuxième est stérilisé. Lorsqu'il y a stérilisation, la turbidité augmente légèrement au cours du temps, mais elle reste faible. La rétention des germes viables est satisfaisante. En l'absence de stérilisation le vin filtré présente une turbidité plus élevé, il contient des levures viables.

CONCLUSION

Lorsque les matériaux filtrants ont des seuils de coupure suffisamment bas et que tous les éléments de la chaîne d'embouteillage sont correctement stérilisés, les vins embouteillés contiennent moins de 1 germe viable pour 200 ml ; leur turbidité est comprise entre 0,25 et 0,65 NTU Les doses d'anhydride sulfureux libre peuvent être limitées à 20 mg par litre. On peut ainsi être assuré de la stabilité biologique des produits ; ils répondent aux exigences sévères de certains importateurs. Si ces résultats ne sont pas obtenus, les contrôles microbiologiques permettent de détecter les éléments de la chaîne d'embouteillage responsables des contaminations.

Manuscrit reçu le 3 juin 1983 ; accepté pour publication le 4 juillet 1983.

RESUMÉ

Les techniques du contrôle microbiologique des vins embouteillés sont brièvement décrites, Leur application à la détection des contaminations apportées par les différents éléments d'une chaîne d'embouteillage est illustrée par des exemples.

SUMMARY

The techniques of microbiological control of bottling wine are described briefly. Their application to the detection of contamination from the different elements of a bottling chain is illustrated by examples.

RESUMEN

Se describen las técnicas de control microbiolólogico de los vinos embotellados. Tambien se ilustra con ejemplos su aplicación a la detección de contaminantes originados por los distintos elementos de una cadena embotelladora.

RIASSUNTO

Le tecniche del controllo microbiologico dei vini imbottigliati sono brevemente descrite. La loro applicazione alla rivelazione delle contaminazioni portate nei differenti elementi d'una catena d'imbottigliamento è illustrata con esempi.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LAFON-LAFOURCADE S. et JOYEUX A., 1979. Techniques simplifiées pour le dénombrement et l'identification des microorganismes vivants dans les moûts et les vins. *Connaissance Vigne Vin,* **13**, N° 4, 295-309.

MANDRAU J.L., 1973. Les méthodes de mesure de la limpidité et leur application à l'étude de la clarification des vins. *Thèse 3ème cycle,* Université de Bordeaux II.

SERRANO M. et RIBÉREAU-GAYON P., 1983. Filtration des vins sur plaques au moment de la mise en bouteilles. *Revue Française d'Œnologie,* N° 83, 57-63.

SERRANO M. 1981. Etude théorique et pratique de la filtration des vins sur plaques. *Thèse Université,* Université de Bordeaux II.