

Procédés innovants de stabilisation microbiologique des moûts et des vins

Remy Junqua

► To cite this version:

Remy Junqua. Procédés innovants de stabilisation microbiologique des moûts et des vins. Sciences agricoles. Université de Bordeaux, 2017. Français. NNT: 2017BORD0910. tel-01736331

HAL Id: tel-01736331 https://theses.hal.science/tel-01736331

Submitted on 16 Mar 2018 $\,$

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE

Présentée à

L'UNIVERSITE DE BORDEAUX

Ecole doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

Par Rémy JUNQUA

Pour obtenir le grade de DOCTEUR Spécialité : Œnologie

Procédés innovants de stabilisation microbiologique des moûts et des vins

Présentée le 14 Décembre 2017 devant le jury composé de :

Pr Régis Gougeon	Université de Bourgogne	Rapporteur
Pr Julien Ducruet	École d'Ingénieurs de Changins	Rapporteur
Pr Giovanna Ferrari	Université de Salerne	Examinateur
Pr Martine Mietton-Peuchot	Université de Bordeaux	Examinateur
Dr Rémy Ghidossi	Université de Bordeaux	Directeur

THESE

Présentée à

L'UNIVERSITE DE BORDEAUX

Ecole doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

Par Rémy JUNQUA

Pour obtenir le grade de DOCTEUR Spécialité : Œnologie

Procédés innovants de stabilisation microbiologique des moûts et des vins

Présentée le 14 Décembre 2017 devant le jury composé de :

Pr Régis Gougeon	Université de Bourgogne	Rapporteur
Pr Julien Ducruet	École d'Ingénieurs de Changins	Rapporteur
Pr Giovanna Ferrari	Université de Salerne	Examinateur
Pr Martine Mietton-Peuchot	Université de Bordeaux	Examinateur
Dr Rémy Ghidossi	Université de Bordeaux	Directeur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements au Dr Rémy Ghidossi, mon directeur de thèse, pour m'avoir donné la possibilité de réaliser cette thèse ainsi que pour son soutien et ses conseils durant ces trois années. Je remercie aussi le Pr Martine Mietton-Peuchot pour son accueil dans le laboratoire et ses conseils avisés.

Mes sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'examiner ce travail :

- Professeur Giovanna Ferrari, de l'Industrial Engineering Department de l'université de Salerne, Italie
- Professeur Julien Ducruet, de la Haute école de Viticulture et d'Œnologie de Nyon, Suisse
- Professeur Régis Gougeon, de l'Institut Universitaire de la Vigne et du Vin de l'université de Bourgogne, Dijon, France
- Professeur Martine Mietton-Peuchot, de l'Institut de la Vigne et du Vin de l'université de Bordeaux, France

Mes remerciements vont aussi au Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux pour leur confiance et le financement de ce projet.

Je tiens à remercier l'équipe du département « industrial engineering » de l'université de Salerne pour m'avoir accueilli. J'adresse ici mes chaleureux remerciements à Giovanna, Gianpiero et Daniele.

Mes remerciements aux équipes du Professeur Gilles de Revel et du Professeur Philippe Darriet pour leur contribution au travail d'analyse chimique ainsi qu'à l'équipe Microflora pour l'analyse microbiologique.

Je tiens aussi à remercier l'Institut Français de la Vigne et du Vin, et plus particulièrement Emmanuel Vinsonneau et Stéphanie Cestaret qui ont grandement contribué à ce travail. Merci pour votre humanité et votre disponibilité.

Un grand merci à Maeva, Clément, Pierre, Grégory, Anna-Maria et Natalia qui ont participé à ce travail lors de leur stage au laboratoire. Merci à Soizic et Sandra pour leur aide et conseils tout au long de la thèse. Merci Arnaud et Fabrice pour votre gentillesse, votre générosité et votre bonne humeur distillées au quotidien durant ces trois années. Merci Liming et Pauline pour ces nombreuses discussions sur la face du monde.

Merci Marie d'avoir partagé, pendant ces trois ans de thèse, plus que mon bureau : mes joies, mes peines et une partie de ma vie.

Enfin, merci à mes parents pour leur soutien indéfectible durant toutes ces années.

Table des matières

Table des matières1
Index des figures6
Index des tableaux12
Nomenclature15
Introduction générale18
Chapitre 1 : Etude bibliographique22
1 La microbiologie en œnologie23
2 Procédés de stabilisation microbiologique24
2.1 Procédés chimiques24
2.2 Procédés physiques26
3 Extraction et stabilisation microbiologique par chauffage ohmique28
3.1 Paramètres de contrôle28
3.1.1 Energies, tensions et courants
3.1.2 Conductivité électrique
3.1.3 Electrodes et réactions électrochimiques32
3.2 Mécanisme d'inactivation microbiologique34
3.3 Procédés d'extraction thermique utilisés en œnologie
3.4 Procédés d'extraction par champs électriques utilisés en œnologie37
3.5 Extraction par chauffage ohmique
3.6 Impact du chauffage ohmique sur les propriétés des liquides alimentaires41
3.7 Conclusion
4 Stabilisation microbiologique par rayonnement UV-C
4.1 Introduction

4.2 Mécanisme d'inactivation des microorganismes	44
4.3 Pénétration et absorption de la lumière UV	
4.4 Application au vin et « gouts de lumière »	54
4.4.1 Stabilisation microbiologique	54
4.4.2 Gouts de lumière	55
4.4.3 Impact sur les composés phénoliques	58
4.5 Sources de lumière UV-C	59
4.5.1 Les lampes au mercure	59
4.5.2 Les lampes alternatives	61
4.6 Les réacteurs UV-C continus	62
4.6.1 Réacteur annulaire	62
4.6.2 Réacteur hélicoïdal	63
4.7 Actinométrie	63
4.8 Conclusion	65
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	66
1 Traitement par rayonnement UV-C	67
1.1 Réacteur annulaire	67
1.2 Réacteur hélicoïdal	
1.2.1 Pilote expérimental développé	
1.2.2 Evaluation de la dose UV-C délivrée	69
1.2.3 Analyse du spectre de lampes	70
2 Traitement par chauffage ohmique	71
2.1 Pilote de chauffage ohmique discontinu	71
2.2 Pilote de chauffage ohmique continu	72

2.3 Chauffage conventionnel	74
2.4 Refroidissement	74
3 Matière première	74
4 Etude microbiologique	75
4.1 Culture des microorganismes en milieu liquide	75
4.2 Dénombrement des microorganismes sur milieux solides	76
4.2.1 Préparation des milieux	76
4.2.2 Protocole de comptage	76
5 Analyses des moûts et des vins	77
5.1 Composés phénoliques	77
5.1.1 Composés phénoliques totaux	77
5.1.2 Dosage des anthocyanes	77
5.1.3 Dosage des tannins totaux	78
5.2 Analyses chromatographiques	78
5.2.1 Dosage des thiols volatils	78
5.2.2 Dosage des esters	79
5.3 Analyses physico-chimiques générales	80
5.4 Analyses spectrophotométriques	80
5.5 Analyse sensorielle	81
5.6 Analyse statistique	81
Chapitre 3 : Stabilisation microbiologique et extraction par ohmique	chauffage 82
1 Chauffage ohmique d'un moût rouge en conditions de laboratoire	
1.1 Traitement du moût, étude de l'extraction	

1.1.1 Conductivité électrique	
1.1.1 Rendement énergétique	
1.1.2 Stabilisation microbiologique	
1.2 Vinification des moûts	90
1.3 Analyses des vins finis	
2 Chauffage ohmique du moût en conditions semi-industrielles	96
2.1 Traitement du moût et étude de l'extraction	96
2.2 Vinification des moûts	97
3 Mutage de moût blanc liquoreux par chauffage ohmique en c industrielles	onditions semi- 104
4 Stabilisation d'un vin fini par chauffage ohmique en conditions s	emi-industrielles 109
5 Conclusions	113
Chapitre 4 : Stabilisation par UV-C	
1 Essais préliminaires	117
1.1 Stabilisation par UV-C en réacteur annulaire	117
1.2 Stabilisation par UV-C en réacteur hélicoïdal	118
2 Le réacteur UV-C hélicoïdal	121
2.1 Présentation du pilote développé	121
2.2 Spectre lumineux	122
2.3 Actinométrie	123
1.1 Essais préliminaires de stabilisation	126
1.1.1 Influence de la matrice sur les performances du réacteur	126
1.1.2 Influence de la concentration initiale en microorganismes	130
1.1.3 Résistance aux UV-C de différents microorganismes	131

1.1.4 Effet post-traitement UV-C sur l'inactivation des microorganismes133
1.2 Evaluation des performances et bilan énergétique137
1.2.1 Bilan énergétique137
1.2.2 Pertes de charge et optimisation
2 Stabilisation par UV-C des vins finis en conditions semi-industrielles143
2.1 Stabilisation par UV-C d'un sauvignon AOP Bordeaux blanc en élevage144
2.2 Stabilisation par UV-C d'un merlot AOP Bordeaux rouge en fin d'élevage150
2.2.1 Cinétique de consommation d'oxygène158
3 Stabilisation par UV-C de moûts blancs liquoreux en conditions semi-industrielles 161
3.1 Mutage par UV-C d'un moût vin blanc liquoreux AOP Monbazillac161
3.2 Mutage par UV-C d'un moût vin blanc liquoreux AOP Pacherenc-du-Vic-Bilh
4 Conclusion175
Conclusion générale et perspectives178
Bibliographie

Index des figures

Figure 1 : Images SEM d'électrode de titane avec électrode témoin (A), après chauffage ohmique à 60 Hz (B), 100 Hz (C) et 1kHz (D) (Lee et al., 2013)
Figure 2 : Images SEM d'électrodes en titane (a), acier inox (b), titane platiné (c) et graphite (c) (Samaranayake and Sastry, 2005)
Figure 3 : Images TEM de bactéries E.coli non traitées (A et B), traitées à 60°C pendant 30s en chauffage conventionnel (C et D) et en chauffage ohmique (E et F) (Park and Kang,2013)
Figure 4 : Cinétiques d'extraction des anthocyanes de pomme de terre violette dans l'eau après traitement en chauffage conventionnel 10 min à 90°C, ohmique 10 min à 90°C et 1s à 100 °C (Pereira et al., 2016)
Figure 5 : Spectre électromagnétique (www.esa.int)
Figure 6: Mécanisme de formation de dimères de pyrimidine sous l'action du rayonnement UV-C44
Figure 7 : Formation des lésions ADN de type dimère cyclobutylique de pyrimidine (CPD) et des photoproduits 6,4 (Li et al., 2006)45
Figure 8 : Effet germicide en fonction de la longueur d'onde (Bintsis et al., 2000)45
Figure 9 : Schéma du mécanisme de réparation de l'ADN par excision de nucléotide46
Figure 10 : Taux de survie de la levure S.cerevisiae BY4743 à une dose de 200 J/m^2 suite à la réintroduction (barres blanches) des gènes supprimés (barres noires)47
Figure 11 : Interactions d'une onde électromagnétique avec la matière48
Figure 12 : Dose UV-C requise pour la réduction décimale (D) d'E.coli en fonction du coefficient d'absorption (Müller et al., 2015)
Figure 13 : Représentation graphique de la variation de la profondeur de pénétration d_p en fonction du coefficient d'absorption à 254 nm
Figure 14 : Effet de l'absorbance et de la turbidité sur l'inactivation de E.coli dans un réacteur UV-C hélicoïdal (Müller et al., 2015)

Figure 15 : Photoexcitation de la riboflavine vers son état excité singulet puis triplet (Grant-Preece et al., 2017)
Figure 16: Schéma du mécanisme d'oxydation de la méthionine par la riboflavine sous exposition à la lumière (Maujean and Sequin, 1983)
Figure 17: Spectre d'émission des lampes MPM (Masschelein and Rice, 2002)60
Figure 18 : Spectre d'émission des lampes LPM (Masschelein and Rice, 2002)61
Figure 19 : Schéma du réacteur annulaire laminaire67
Figure 20 : Schéma global du pilote de traitement UV-C
Figure 21 : Schéma du principe de fonctionnement d'un module du réacteur UV-C hélicoïdal
Figure 22 : Photographie du réacteur UV-C hélicoïdal disposant de trois modules agencés en série
Figure 23 : Schéma de principe du montage pour la mesure expérimentale de la dose UV-C délivrée par actinométrie70
Figure 24 : Schéma du pilote de chauffage ohmique discontinu71
Figure 25 : Schéma du pilote de chauffage ohmique continu
Figure 26 : Photographie du pilote de chauffage ohmique continu C-tech innovation73
Figure 27 : Evolution des températures et des gradients de voltage en fonction du temps lors de la stabilisation microbiologique du moût par chauffage ohmique et chauffage conventionnel
Figure 28 : Evolution de la conductivité d'un moût de raisin (aglianico / barbera à 1 /1 massique) en fonction de la température
Figure 29 : Stabilisation microbiologique (levures et moisissures totales) lors des traitements en chauffage ohmique et conventionnels
Figure 30 : Cinétiques des masses volumiques lors de la fermentation alcoolique90
Figure 31 : Cinétiques de l'IPT lors de la fermentation alcoolique

Figure 32 : Analyse sensorielle descriptive des vins issus des moûts traités par chauffage ohmique en réacteur batch, basée sur les réponses de 11 dégustateurs, 5 mois après la fin de la fermentation alcoolique......95

Figure 33 : Dénombrements en levures totales après traitement de la vendange cabernet sauvignon par chauffage ohmique à 60 et 72 °C......97

Figure 37 : Evolution de la concentration en anthocyanes sur les modalités de contrôle et de chauffage ohmique lors de la vinification, en fin de fermentation alcoolique, fin de fermentation malolactique et avant mise en bouteille......100

Figure 40 : Dénombrements en levures totales immédiatement, 8 et 60 jours après les traitements en chauffage ohmique du merlot rouge en élevage......109

Figure 44 : Représentation schématique des vortex de Dean dans une conduite hélicoïdale (de diamètre interne d_i , diamètre de l'hélice d_c et distance entre les spires b)

Figure 45 : Influence du nombre de Reynolds et de la concentration initiale sur le taux d'inactivation de S.cerevisiae dans un sauvignon blanc en réacteur UV-C hélicoïdal119
Figure 46: Spectre d'émission des lampes à basse pression de mercure à amalgame122
Figure 47: Dose UV-C théorique et expérimentale par actinométrie en fonction du Re dans le réacteur UV-C hélicoïdal124
Figure 48: Stabilisation microbiologique par réacteur UV-C hélicoïdal de 4 vins différents inoculés en S.cerevisiae FX10 à 1.10^6 UFC/mL
Figure 49 : Coefficients d'absorption des vins blancs, rosé, liquoreux et rouge, représentés en fonction des facteurs de réduction décimaaux associés, pour S.cerevisiae, calculés suivant le modèle de Weibull
Figure 50 : Stabilisation microbiologique par réacteur UV-C hélicoïdal de 3 vins inoculés en S.cerevisiae FX10 à 5.10^3 UFC/mL en fonction de la dose UV-C
Figure 51 : Inactivation de S.cerevisiae, B.bruxellensis et A.aceti dans une matrice vin blanc en fonction de la dose UV-C
Figure 52 : Evolution de la population de S.cerevisiae après traitements UV-C de 145 et 290 J/L sur une durée de 30 jours
Figure 53 : Evolution de la population de B.bruxellensis après traitements UV-C de 145 et 290 J/L sur une durée de 23 jours
Figure 54 : Evolution de la population de A.aceti après traitements UV-C de 72 et 145 J/L sur une durée de 16 jours
Figure 55: Pertes de charge expérimentales et théoriques dans une conduite hélicoïdale et droite de mêmes longueurs
Figure 56 : Pertes de charge expérimentales et théoriques dans une conduite hélicoïdale et droite de mêmes longueurs
Figure 57 : Perte de charge relative dans une conduite hélicoïdale de diamètre interne (d _i) variable, à nombre de Reynolds et nombre de Dean constant

Figure 58 : Dénombrement levures totales dans le vin sauvignon blanc après traitement UV-C et 8 jours après.....145 Figure 59 : Résultats des analyses sensorielles descriptives 3 mois après traitement UV-C du sauvignon blanc.....147 Figure 60 : Dénombrements en levures totales sur Bordeaux rouge suite aux traitements UV-C, immédiatement, 8 et 60 jours après.....151 Figure 61 : Dénombrements en bactéries totales sur le Bordeaux rouge suite aux traitements UV-C, immédiatement (sans sulfitage), 8 et 60 jours après (sulfités).152 Figure 62 : Dépendance de la concentration en phages répliqués par E.coli en fonction de la dose UV-C appliquée après incubation de 18 h à 37 °C. P' étant la concentration en phages après incubation et Po la concentration initiale de phages inoculés avant Figure 63 : Dosage des esters par chromatographie (GC-MS) sur le Bordeaux rouge 6 mois après traitements UV-C155 Figure 64 : Résultats des analyses sensorielles descriptives 6 mois après traitement UV-Figure 65 : Cinétiques de consommation de l'oxygène dans un vin rouge préalablement traité par UV-C à 4800 J/L et non traité159 Figure 66 : Cinétique de consommation de l'oxygène dans un vin blanc préalablement traité par UV-C à 600 J/L et non traité.....159 Figure 67 : Dénombrements en levures totales après traitement UV-C pour mutage du blanc liquoreux Monbazillac immédiatement, 1 et 8 jours après traitement......162 Figure 68 : Cinétiques du titre alcoométrique en fonction du temps des échantillons non sulfités de moût liquoreux monbazillac mutés par UV-C......163 Figure 69 : Résultats des analyses sensorielles descriptives des blancs liquoreux AOP Monbazillac mutés par UV-C et non traités166 Figure 70 : Dénombrements levures totales sur les moûts AOP Pacherenc-du-Vic-Bilh immédiatement après traitements UV-C, 10 et 20 jours après sulfitage......169

Figure 71 : Dénombrements en levures totales sur les moûts blancs liquoreux AOP Pacherenc-du-vic-bilh traités par UV-C et non sulfités immédiatement, 5 et 12 jours après traitement, conservés à 16 et 25 °C170

Figure 72 : Cinétiques du titre alcoométrique en fonction du temps des échantillons non sulfités de moût liquoreux AOP Pacherenc-du-vic-bilh mutés par UV-C......170

Figure 75 : Résultats des analyses sensorielles descriptives 18 mois après traitement UV-C du blanc liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh muté par UV-C......174

Index des tableaux

Tableau 1 : Contaminations microbiologiques possibles des vins et défauts associés24
Tableau 2 : Conductivités électriques de certains liquides alimentaires
Tableau 3 : Réflectance à 254 nm de différents matériaux
Tableau 4 : Coefficients d'absorption à 254 nm de différents liquides alimentaires50
Tableau 5 : Coefficients des relations linéaire et non linéaire entre la conductivité et latempérature pour le chauffage ohmique du moût
Tableau 6 : bilan énergétique du chauffage ohmique en mode batch sur moût de raisin rouge
Tableau 7 : Dosage des composés phénoliques sur vins finis issus des moûts traités par chauffage ohmique
Tableau 8 : Analyses colorimétriques des vins finis issus des moûts traités par chauffage ohmique
Tableau 9 : Dosage des esters sur vins finis suite au traitement par chauffage ohmique ou conventionnel
Tableau 10 : Résultats des tests triangulaires de comparaison des vins finis issus desmoûts traités en chauffage ohmique, conventionnel et non traités
Tableau 11 : Analyses physico-chimiques des vins finis issus des moûts traités parchauffage ohmique avant mise en bouteille
Tableau 12 : Dosage des esters sur fin fini issu de moût cabernet sauvignon traité en chauffage ohmique
Tableau 13 : Résultats des tests triangulaires de comparaison des modalités de chauffage ohmique par rapport à la modalité « contrôle 2 »
Tableau 14 : Analyses physico-chimiques après mutage du moût blanc liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh par chauffage ohmique à 60 (OH2) et 72 °C (OH1)106

Tableau 15 : Résultats des tests triangulaires de comparaison des vins blancs liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh issus des modalités de mutage par chauffage ohmique (OH1 et OH2) par rapport à la modalité « contrôle 2 »
Tableau 16 : Analyses physico-chimiques au cours du temps suite aux traitements parchauffage ohmique d'un merlot rouge en élevage
Tableau 17 : Résultats des tests triangulaires de comparaison des vins rouges Merlot traités par chauffage ohmique (OH1 et OH2) par rapport à la modalité « contrôle 2 »
Tableau 18 : Données techniques de construction relatives au développement des modules UV-C 121
Tableau 19 : Liste des vins sélectionné pour l'étude et leurs caractéristiques optiques à254 nm126
Tableau 20: Paramètres du modèle d'inactivation Weibull pour S.cerevisiae dans des vins blanc, rosé, liquoreux et rouge
Tableau 21 : Stabilisation microbiologique de trois souches inoculées séparément dans de l'eau physiologique
Tableau 22 : Bilan énergétique comparatif des méthodes de stabilisation microbiologique (en kWh/L)
Tableau 23 : Liste des modalités de traitement UV-C et élévation de la température et de la concentration en oxygène dissous lors des traitements sur sauvignon blanc144
Tableau 24 : Analyses physico-chimiques du sauvignon blanc 1 et 90 jours après les traitements UV-C 146
Tableau 25 : Résultats des tests triangulaires 20 mois après traitement UV-C du sauvignon blanc 148
Tableau 26 : Dosage des thiols 3SH, E2SA et 4MSP par chromatographie gazeuse (GC-MS) sur sauvignon blanc 36 mois après traitements UV-C
Tableau 27 : Modalités de traitement en réacteur UV-C hélicoïdal du merlot AOP Bordeaux rouge
Tableau 28 : Analyses physico-chimiques sur bordeaux rouge suite aux traitements UV- C, 8, 60 et 210 jours après traitements

Tableau 29 : résultats des tests triangulaires 20 mois après traitement UV-C du
Bordeaux rouge
Tableau 30 : Liste des modalités de traitement UV-C et élévation de la température et de la concentration en oxygène dissous lors des traitements sur moût AOP Monbazillac
Tableau 31 : Analyses physico-chimiques suite aux traitements UV-C du moût AOP Monbazillac à J+1, J+8 et J+90165
Tableau 32 : Résultats des tests triangulaires 20 mois après traitement UV-C du blancliquoreux Monbazillac muté par UV-C
Tableau 33 : Liste des modalités de traitement UV-C et élévation de la température et de la concentration en oxygène dissous lors des traitements sur moût AOP Pacherenc- du-Vic-Bilh
Tableau 34 : Analyses physico-chimiques suite aux traitements UV-C et sulfitages du moût AOP Pacherenc-du-Vic-Bilh à J+11 et J+90171
Tableau 35 : Résultats des tests triangulaires 20 mois après traitement UV-C du blanc liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh muté par UV-C174

Nomenclature

Désignation latine

b	Distance entre les spires (pitch)	m
Ср	Capacité calorifique	J.kg ⁻¹ .K ⁻¹
$d_{\rm c}$	Diamètre de l'hélice	m
De	Nombre de Dean	-
$\mathrm{D}_{\mathrm{exp}}$	Dose UV-C expérimentale	$J.L^{-1}$
d_i	Diamètre interne de la conduite	m
d_p	Profondeur de pénétration du rayonnement	m
$D_{\rm th}$	Dose UV-C théorique	$J.L^{-1}$
f	Fréquence	Hz
$f_{\rm c}$	Facteur de friction dans une conduire courbe	-
f_{st}	Facteur de friction dans une conduite droite	-
Ι	Courant	А
$\mathrm{Q}_{\mathrm{exp}}$	Energie expérimentale	J
Q_{th}	Energie théorique	J
Re	Nombre de Reynolds	-
U	Tension	V

Désignation grecque

α	Coefficient d'absorption	cm^{-1}
μ	Viscosité dynamique	$kg.m^{-1}.s^{-1}$
ρ	Masse volumique	kg.m ⁻³
σ	Conductivité	$\mathrm{S.m}^{-1}$

Abréviations

AT	Acidité totale	$mg.L^{-1}$		
AV	Acidité volatile	mg.L ⁻¹		
FA	Fermentation alcoolique -			
FEP	Fluoro Ethylène Propylène -			
FML	Fermentation malolactique -			
ICM	Intensité colorante modifiée -			
IFC	Indice de Folin Ciocalteu -			
IPT	Indice polyphénols totaux -			
MEB	Mise en bouteille -			
PTFE	Polytétrafluoroéthylène	-		
TAV	Titre alcoométrique volumique	% vol		

Introduction générale

L'utilisation générale du dioxyde de soufre pour la conservation des produits alimentaires remonte à la fin du XVII^{ème} siècle. De nos jours, il est utilisé dans de multiples domaines et notamment dans les jus de fruits et boissons fermentescibles à faible pH. C'est l'additif chimique le plus polyvalent et le plus utilisé dans la vinification, principalement en raison de ses propriétés antiseptiques et antioxydantes. Cette molécule inhibe en effet le développement des microorganismes d'altération, tels que les levures B.bruxellensis ou les bactéries A.aceti, qui sont à l'origine de la formation de composés pouvant altérer la qualité du produit. Cependant, le réchauffement climatique entraine une augmentation du pH des vins de manière générale, ce qui inhibe drastiquement la forme active du dioxyde de soufre, le rendant alors moins efficace pour l'inhibition des microorganismes. Le SO₂ joue aussi un rôle majeur concernant la protection contre l'oxydation en se combinant directement avec l'oxygène, en réagissant avec les peroxydes d'hydrogène et les quinones oxydantes. De plus, il réagit aussi avec les aldéhydes responsables des arômes d'oxydation. Cet intrant détient aussi un rôle antioxydasique en inhibant totalement les enzymes de type polyphénoloxydase et tyrosinase, responsables du brunissement des vins. Le dioxyde de soufre réagit aussi avec les pigments et permet de stabiliser la couleur du vin au cours du vieillissement. Il est donc utilisé tout au long de la vinification, de la réception de la vendange jusqu'à la mise en bouteille. Malgré tous ces avantages, les sulfites sont considérés comme des allergènes et la demande des consommateurs de produits exempts ou pauvres en intrants chimiques est croissante. Pour ces raisons, les concentrations maximales de SO₂ total utilisées dans les vins sont progressivement réduites au fil du temps par l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV). Ainsi, le développement de procédés physiques innovants permettant de stabiliser les vins d'un point de vue microbiologique permettrait de réduire sensiblement les concentrations de SO_2 nécessaires à l'obtention d'un vin de qualité.

Le projet REASON, REcherches Alternatives en StabilisatiON, financé par le Conseil Interprofessionnel des Vins de Bordeaux (CIVB) se propose de développer des procédés physiques innovants de stabilisation microbiologique des moûts et des vins. Le cahier des charges est exigent car le vin est une matrice complexe et sensible à tous points de vue. Dans cette étude, les procédés seront évalués sur leur capacité d'inhibition des différents microorganismes à une échelle laboratoire dans un premier temps puis une échelle semi-industrielle. L'impact sur les qualités organoleptiques et physico-chimiques des moûts et des vins traités sera aussi étudié. Enfin, ces procédés devront justifier un bilan énergétique optimisé par rapport aux procédés physiques actuellement utilisés en œnologie. A partir de ces considérations, une recherche bibliographique a été menée et deux procédés ont été retenus : la stabilisation par rayonnement ultraviolet et par chauffage ohmique.

Le chauffage ohmique est un procédé thermique basé sur l'échauffement d'un liquide conducteur traversé par un courant électrique. Cet effet est aussi connu sous le nom d'effet Joule. Cette technologie permet une montée en température rapide et homogène dans le produit à traiter. De plus, l'absence d'effets de parois chaudes pouvant nuire à la qualité des produits alimentaires pourrait être un plus en œnologie. Ce procédé combine deux aspects pouvant mener à la stabilisation microbiologique : un effet thermique et un effet électrique. Des recherches antérieures ont en effet montré qu'en plus de la sensibilité bien connue des microorganismes à la chaleur, le courant électrique peut perméabiliser les membranes des microorganismes et accélérer leur inactivation. L'effet électrique est aussi connu pour perméabiliser les membranes des cellules végétales et donc améliorer sensiblement l'extraction de composés phénoliques d'intérêt lorsqu'il est appliqué par exemple sur les baies de raisin avant la fermentation alcoolique. Le chauffage ohmique n'ayant à ce jour jamais été utilisé en œnologie, ce travail se propose d'étudier ses effets non seulement en alternative à la flash pasteurisation sur les vins en élevage et lors du mutage des vins blancs liquoreux, mais aussi comme procédé de stabilisation et d'extraction des moûts avant la fermentation alcoolique. Pour ce faire, des collaborations ont été menées. Tout d'abord avec le département du Génie Industriel de l'université de Salerne en Italie, avec lequel il a été possible de mener une première campagne d'expériences de chauffage ohmique à échelle laboratoire sur des moûts de raisin rouge. Des analyses physico-chimiques et sensorielles sur les vins issus de ces moûts ont ensuite confirmé l'applicabilité et l'intérêt du procédé en œnologie. Suite à ces premiers résultats, des essais à échelle semi-industrielle ont été mené en collaboration avec l'Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV) de Blanquefort en France. Ainsi, le procédé a été étudié lors du traitement continu de stabilisation et d'extraction des moûts pour la vinification en rouge, puis en traitement continu de mutage des vins blancs liquoreux et enfin en traitement continu de stabilisation des vins rouges en élevage. Tous les vins ont été analysés d'un point de vue physico-chimique et sensoriel immédiatement et plusieurs mois après les traitements afin d'évaluer les effets des traitements durant la conservation des vins.

La stabilisation par rayonnement ultraviolet est un procédé athermique basé sur la capacité des rayonnements UV-C à induire des mutations dans l'ADN des

microorganismes, entrainant par conséquent leur inactivation. Afin que ce procédé soit efficace, le rayonnement provenant des lampes UV-C doit être en mesure d'atteindre chaque microorganisme. Ainsi, ce procédé était limité depuis de nombreuses années au traitement des surfaces et des liquides peu absorbants tels que l'eau. Dans les liquides absorbants tels que les jus de fruits et les vins, la profondeur de pénétration du rayonnement était trop faible pour permettre un traitement homogène et efficace. Les avancées en matière de conception des réacteurs et la disponibilité de nouveaux matériaux ont permis à plusieurs équipes de mener de nouvelles recherches concernant le traitement des liquides absorbants. Ainsi, des essais ont été menés par des équipes en Afrique du Sud et en Europe pour étudier les performances d'un réacteur annulaire à turbulence sur différents vins. Cependant, les performances de ce type de réacteur restent limitées en termes de stabilisation microbiologique des vins les plus absorbants. Dans ce cadre, l'objectif de cette étude est la conception d'un réacteur dont les paramètres hydrodynamiques optimisés assurent une mise en contact optimale entre tous les types de vins et la lampe. Une étude approfondie de la littérature a permis de mettre en évidence un type de réacteur jusqu'ici peu utilisé : le réacteur UV-C hélicoïdal. Les qualités hydrodynamiques de ce réacteur, grâce notamment à la formation de vortex de Dean, ont été pressenties comme une solution efficace pour le traitement des vins. Une installation pilote capable de traiter en continu des moûts et des vins a donc été construite. Ses performances ont été évaluées et optimisées à l'échelle laboratoire. Des paramètres de fonctionnement spécifiques à plusieurs types de vins et de microorganismes ont aussi été déterminés. Des essais à échelle semi industrielle en collaboration avec l'IFV ont ensuite été réalisés dans le but de valider ces différents paramètres lors du traitement de vins blancs et rouges en élevage mais aussi en alternative au mutage traditionnel des vins blancs liquoreux. Tous les vins ont été analysés d'un point de vue physico-chimique et sensoriel immédiatement et plusieurs mois après les traitements afin d'évaluer les effets des traitements durant la conservation des vins.

Un schéma récapitulatif de l'étude et des collaborations est disponible en page suivante. Ces travaux sont le fruit d'une collaboration étroite avec les équipes de microbiologie et de chimie de l'ISVV et impliquent aussi de nombreux stagiaires issus de la filière œnologie de l'université de Bordeaux.



Chapitre 1 : Etude bibliographique

1 La microbiologie en œnologie

La fermentation alcoolique a été expliquée pour la première fois en 1855, lorsque Louis Pasteur a observé la conversion du sucre contenu dans les raisins en éthanol par l'action des levures. Il a également observé que certains microorganismes peuvent induire une détérioration de la qualité des vins. Le processus de vinification est une niche écologique complexe où les levures, bactéries, champignons et virus jouent un rôle central dans le produit final.

Selon Du Toit and Pretorius, (2000), en plus de l'état sanitaire de la vendange, les contaminations microbiennes peuvent intervenir à plusieurs étapes de la vinification. La première source est la contamination de la matière première, autrement dit du raisin, qui entre en contact avec un nombre importants d'équipements viticoles (caisses, tapis de transport, érafloirs, fouloirs ...).

La seconde source probable intervient lors de la fermentation alcoolique. Le moût obtenu une fois les baies foulées est très sensible. La prolifération en début de fermentation de levures non désirées telles que *Candida, Hanseniaspora, Kloeckera* ou *Metschnikowia* peut altérer les qualités du vin produit, notamment par formation de sous-produits. Cependant, ces levures ne sont pas tolérantes à l'éthanol que produisent *S.cerevisiae* et sont donc inhibées avec l'accroissement du taux d'éthanol lors de la fermentation. L'addition de dioxyde de souffre (SO₂) avant la fermentation accompagnée de bonnes pratiques sanitaires aide à réduire ces développements précoces.

La troisième source potentielle est la dérive microbiologique pendant l'élevage. L'état sanitaire des cuves et des barriques est la principale cause des contaminations. L'addition et le maintien de concentrations adaptées de dioxyde de soufre est actuellement le meilleur moyen de contrôler les populations de microorganismes dans les vins.

Les principales espèces et leurs défauts associés sont listés dans le Tableau 1 (Du Toit and Pretorius, (2000).

Tableau .	1:	C	ontaminations	microbia	ologiques	possibles	des vins	et	défauts	associés
-----------	----	---	---------------	----------	-----------	-----------	----------	----	---------	----------

Espèce	Défaut associé				
Brettanomyces	Production de phénols volatils associés aux arômes de cuir ou de cheval				
$Candida \\ Metschnikowia$	Production d'acétaldéhyde (toxique, arôme pomme verte) et d'esters volatils				
Hansenias pora	Production d'acide acétique (arome vinaigre)				
Pichia	Production d'acétaldéhyde				
Saccharomyces Zygosaccharomyces Schizosaccharomyces	Refermentations				
Lactobacillus	Production d'acide acétique, de diacétyle (arômes de fromage, beurre)				
Pediococcus	Formations de polysaccharides (vins visqueux), d'acroléine				

Ainsi, il est possible de constater que les défauts associés aux contaminations sont associés majoritairement à la production de composés aromatiques non désirés.

2 Procédés de stabilisation microbiologique

2.1 Procédés chimiques

L'utilisation du dioxyde de soufre (SO₂) pour la conservation remonte à la fin du $18^{\text{ème}}$ siècle. Il est utilisé aujourd'hui dans de nombreuses industries alimentaires, en particulier dans les aliments à faible pH, comme les jus de fruits et boissons fermentables. Le SO₂ a principalement trois rôles dans le processus d'élaboration du vin (Guerrero and Cantos-Villar, 2015; Ribéreau-Gayon et al., 2006) :

- Antioxydant : protection contre l'oxygène dissous
- Antioxydasique : inactivations d'enzymes oxydantes
- Antimicrobien : inactivation des levures, bactéries et moisissures

Il est généralement ajouté aux raisins fraichement récoltés et après la fermentation malolactique en vinification rouge (Ribereau-Gayon et al., 2006). Il n'est pas facile de calculer les quantités précises de SO_2 requis en raison de l'équilibre chimique complexe de cette molécule dans le vin. Il existe sous forme combinée avec un autre composé ou

sous forme libre. La somme des deux formes représente le SO₂ total. En solution aqueuse, il s'établit un équilibre acidobasique et le SO₂ libre est présent sous trois formes : la forme moléculaire (H_2SO_3), l'anion bisulfite (HSO_3^{-}) et l'ion sulfite (SO_3^{2-}). La forme ayant un effet antiseptique est la forme moléculaire, qui dépend fortement du pH des vins, en diminuant lorsque le pH augmente (entre 3 et 4). Cette forme moléculaire est aussi appelée « SO₂ actif », et la concentration requise pour une efficacité antiseptique est généralement de 0,3 et 0,6 mg/L mais peut atteindre 2 à 4 mg/L pour certaines bactéries lactiques. Ainsi, certains microorganismes tolèrent le SO₂ et les doses classiques de SO₂ actif peuvent ne pas suffire pour endiguer leur prolifération. Le SO₂ est aussi associé à des risques sanitaires, notamment des réactions allergiques, des douleurs abdominales ou des problèmes respiratoires (Guerrero and Cantos-Villar, 2015; Qin and Meng, 2009; Vally and Thompson, 2001). Les concentrations limites en SO_2 total dans les vins sont fixées à 150 mg/L pour les rouges (< 5 g/L de sucre), 200 mg/L pour les blancs ou rosés (< 5 g/L de sucre) et 250 mg/L pour les blancs ou rosés (> 5 g/L de sucre) tandis qu'elles sont réduites de 50 mg/L pour les vins biologiques.

Des recherches sont menées sur l'utilisation de nouveaux intrants pouvant réduire l'utilisation ou remplacer le dioxyde de soufre (Guerrero and Cantos-Villar, 2015). L'acide sorbique est connu pour avoir une action fongicide (Plumridge et al., 2004) mais cependant n'affecte pas les bactéries qui le dégradent en 2-éthoxy-3,5-hexandiene, molécule associée à l'odeur de géranium. Le dicarbonate de diméthyle (DMDC) agit sur les levures en inhibant certaines enzymes mais au-dessous de la concentration maximale autorisée, il n'est pas efficace contre les bactéries lactiques et acétiques (Costa et al., 2008). D'autres produits, répertoriés comme plus « naturels », ont été introduits comme le chitosan ou le lysozyme, une enzyme qui dégrade les parois de bactéries lactiques, ou encore les bactérios (Navarro et al., 2000). La nisine est un peptide antibactérien inhibant les bactéries gram positives mais dont l'activité doit être couplée avec un autre intrant tel que l'éthanol ou le SO₂ (Rojo-Bezares et al., 2007). Cependant tous ces produits alternatifs n'assurent ni un contrôle total des populations microbiennes ni la prévention de l'oxydation comme peut le faire le SO₂.

2.2 Procédés physiques

Les procédés de stabilisation physiques pour la filière vinicole se doivent de respecter des critères stricts. Ils doivent être adaptés aux traitements de grands volumes, présenter un bilan énergétique et un cout d'investissement les plus faibles possible, et respecter les qualités organoleptiques des vins.

La filtration est le procédé physique le plus utilisé actuellement en œnologie pour la stabilisation microbiologique. C'est un procédé de séparation permettant de séparer les constituants d'un mélange qui possède une phase liquide et une phase solide au travers d'un milieu poreux. Ainsi il est possible de retenir levures et bactéries présentes dans les vins en utilisant des filtres dont la dimension de pores est inférieure à $0.4 \ \mu m$. Plusieurs mises en œuvre sont possibles, mais la filtration stérile est généralement obtenue par filtration frontale ou filtration tangentielle. Le principal problème de cette technologie est le colmatage de la membrane par les solides suspendus, polysaccharides, polyphénols et protéines contenus dans les vins. Ce phénomène entraine une baisse de la perméabilité des membranes et donc des baisses de productivité et des couts de maintenance supplémentaires (El Rayess et al., 2011). Par conséquent, ce procédé est employé avant la mise en bouteilles, lorsque le vin contient peu de particules en suspension suites aux soutirages.

La température est un des paramètres les plus influents sur la croissance des microorganismes. Une augmentation de la température entraine une accélération de la croissance cellulaire. Au-delà d'une certaine valeur, la température devient létale. Une température excessive inhibe toute activité intracellulaire et dégrade ou détruit les membranes plasmiques, ce qui conduit à la mort de la cellule. Chaque espèce présente une tolérance différente à la chaleur en fonction de ses propriété physiques et chimiques mais aussi en fonction de l'environnement et de l'adaptation dont peuvent faire preuve les microorganismes (Milani et al., 2015). La stabilisation thermique consiste donc à porter le moût ou le vin à température suffisante pour éliminer tous les microorganismes qu'il contient. La vitesse de chauffe et la durée pendant laquelle la température consigne est maintenue sont les deux principaux paramètres qui vont déterminer l'efficacité du traitement. Généralement, les vins sont portés à 72 °C pendant 15 à 30 s et refroidis rapidement par la suite : c'est la flash pasteurisation, appelée aussi thermoflash.

Le traitement par champs électriques pulsés (CEP) est basé sur l'application de courtes impulsions électriques de haute tension sur un produit alimentaire placé entre deux électrodes. Selon les paramètres opératoires et les caractéristiques des cellules à traiter, des pores temporaires ou permanents sont créés au niveau des membranes cellulaires : c'est l'électroporation. La perméabilité des membranes étant modifiée il est alors possible d'introduire ou d'extraire du matériel cellulaire, de favoriser la production de métabolites secondaire ou encore de détruire les cellules. L'efficacité de cette technologie dans le vin a été démontrée par Delsart et al., (2016) suite à l'inactivation dans un vin rouge de *O.Oeni*, *B.bruxellensis* and *P.parvulus* sous 20 kV/cm et 320 kJ/L. Les auteurs montrent que les paramètres physicochimiques du vin traité par CEP à 320 kJ/L n'ont pas été modifiés suite au traitement. Cependant ce type d'installation nécessite un investissement conséquent, ce qui la rend difficilement transposable à l'échelle industrielle.

D'autres procédés physiques existent mais présentent des inconvénients tels qu'il est difficile de concevoir leur application à la filière vinicole. La stabilisation par haute pression qui consiste à soumettre les liquides alimentaires à des pressions de 100 à 1000 MPa, ne fonctionne qu'en mode discontinu ou semi-continu, et n'est efficace que sur les levures ou les moisissures tandis que les spores de bactéries sont résistants (Cheftel, 1995). L'ultrasonication des liquides alimentaires est un procédé qui emploie les fréquences ultrasoniques (10 à 1000 kHz) pour générer des bulles de cavitation capables d'inactiver les microorganismes. En mode batch, il est possible d'inactiver levures et bactéries après quelques dizaines de minutes de traitement (volumes de 5 - 250 mL) (Gao et al., 2014; Salleh-Mack and Roberts, 2007) tandis que les spores sont relativement résistants (Piyasena et al., 2003). Cependant le procédé ne peut actuellement pas fonctionner en mode continu et doit être combiné avec une autre technologie, généralement thermique (Mason et al., 2003).

Au regard des consommations énergétiques, des possibilités de traitement continu et des études déjà réalisées, deux procédés seront étudiés : le rayonnement UV-C et le chauffage ohmique. Ces deux procédés seront plus amplement détaillés dans les parties suivantes.
3 Extraction et stabilisation microbiologique par chauffage ohmique

Le chauffage ohmique est une technique de chauffe basée sur le passage d'un courant dans un produit alimentaire présentant une résistance électrique. Le procédé tire son nom de la loi d'Ohm (U=RI), qui lie le courant (I), la tension (U) et la résistance (R), jouée ici par le liquide à chauffer. Par effet Joule, le courant est converti en chaleur. Il en résulte une distribution homogène des températures. L'avantage principal de ce procédé est l'absence d'effet de paroi (et donc de produits « brulés » au contact des résistances classiques) et l'homogénéité du traitement. Il en découle alors une meilleure qualité des produits traités, un temps de traitement diminué et un meilleur rendement énergétique (Castro et al., 2004; Yildiz et al., 2009). C'est un procédé adapté au traitement des fluides du fait de leur parfaite mise en contact avec les électrodes. Les premières technologies remontent au début du XX^{ème} siècle avec la pasteurisation du lait mais n'ont pas été développées du fait du coût de l'électricité et des limitations techniques. Avec le développement technologique, la mise au point de sources de courant alternatifs à haute tension, la régulation automatisé des installations, l'amélioration des matériaux, le chauffage ohmique est de nouveau étudié (Sastry and Palaniappan, 1992).

Comme tout procédé thermique, le chauffage ohmique appliqué en œnologie combine deux aspects : un effet de stabilisation microbiologique et un effet d'extraction de composés d'intérêt lorsqu'il est appliqué sur les baies de raisin. Il peut donc être envisagé à la réception de la vendange (stabilisation et extraction) mais aussi pendant la vinification (flash pasteurisation).

3.1 Paramètres de contrôle

3.1.1 Energies, tensions et courants

La gestion de la tension (U) aux bornes du produit et du courant qui le traverse (I) est un élément clef du procédé. En effet, la résistance étant imposée par le produit à chauffer, l'augmentation de la tension et par conséquent du courant entraîne une augmentation de la puissance instantanée fournie (P=UI en W). L'énergie totale délivrée (Q_{exp}) au système peut être calculée en intégrant la puissance instantanée sur la durée (t) du traitement, ainsi (Équation 1) :

$$Q_{exp} = \int_{0}^{t} U \cdot I \cdot dt \qquad (\acute{E}quation \ 1)$$

L'énergie théorique (Q_{th}) pour chauffer une masse m de matière à la température T_f et initialement à température T_i est

$$Q_{th} = m \cdot C_p \cdot (T_f - T_i) \qquad (Equation \ 2)$$

Cp (J.kg⁻¹.K⁻¹) étant la capacité calorifique massique du produit à chauffer. Une relation entre cette capacité et la concentration en sucre d'un moût est donnée par Colombié et al., (2007). Ainsi pour un moût non fermenté dont la concentration en sucre est S_0 (g/L), Cp = $S_0.10^{-1}$ + 866.

Le rendement d'un tel système (r) peut être exprimé par le ratio $Q_{th}/Q_{exp.}$ Une valeur proche de 1 signifie alors qu'il n'y a pas de pertes d'énergie et que toute l'énergie fournie est consacrée à la chauffe du produit.

La tension est souvent exprimée en gradient dont les valeurs sont comprises entre 10 et 100 V/cm. La vitesse de chauffe est donc directement liée à ces valeurs. Ainsi un jus de grenade sera chauffé à 85°C en 48 s sous un gradient de 30 V/cm contre 14 s sous 55 V/cm (Darvishi et al., 2013). Les mêmes auteurs rapportent cependant que l'augmentation de ce voltage se fait au détriment du rendement énergétique. A 30 V/cm les auteurs rapportent un rendement de 0.94 lors de la chauffe du jus de grenade contre 0.76 à 55 V/cm. Contrairement aux pertes d'énergie à fort gradient de tension, ces pertes à faible gradient peuvent être expliquées par la dissipation de chaleur au niveau des parois. Les changements physiques, réactions chimiques et électrochimiques pourraient être des phénomènes expliquant ces pertes importantes à fort gradient de tension de tension selon les auteurs. Un compromis entre vitesse de chauffe et rendement doit donc être appliqué.

La fréquence et la forme du signal sont des paramètres souvent négligés et beaucoup de systèmes sont basés sur la fréquence du courant secteur (50-60 Hz) (Lee et al., 2013). Cependant, cette fréquence est connue pour générer des réactions électrochimiques, notamment une électrolyse de l'eau (Samaranayake and Sastry, 2005), et augmenter la corrosion des électrodes. Les images en microscopie SEM d'électrodes en titane (Figure 1) après chauffage ohmique de sauce montrent clairement la corrosion engendrée à 60 et 100 Hz. Le dosage des ions titane dans la sauce après chauffage confirme le phénomène avec 4.91 et 0.16 mg/kg retrouvés à 60 et 100 Hz respectivement.



Figure 1 : Images SEM d'électrode de titane avec électrode témoin (A), après chauffage ohmique à 60 Hz (B), 100 Hz (C) et 1kHz (D) (Lee et al., 2013)

Selon les mêmes auteurs, la vitesse de chauffe est dépendante de la fréquence jusqu'à 500 Hz. Une augmentation de la fréquence jusqu'à cette valeur entraine une réduction des temps de chauffe de l'échantillon de sauce de 85 s à 100 Hz à 50 s au-delà de 500 Hz.

La forme du signal, carrée, sinusoïdale ou dent-de-scie, toujours selon Lee et al., (2013) influe sur la vitesse de chauffe pour les fréquences inférieures à 500 Hz. Ainsi, un échantillon de sauce est chauffé à 90°C en 95 s sous 60 Hz en signal carré contre 82 et 75 s en signal sinusoïdal et dent-de-scie respectivement. Au-delà de 500 Hz aucune différence dans le temps de chauffe n'est observée. Il est donc préférable d'utiliser une fréquence élevée afin de limiter les effets de corrosion et d'augmenter les vitesses de chauffe.

3.1.2 Conductivité électrique

La conductivité électrique (σ) est l'aptitude d'un matériau à laisser passer le courant. Son unité est le Siemens par mètre (S/m). La loi de Nernst permet de calculer la conductivité des matériaux solides tandis que la loi de Kohlrausch permet de déterminer la conductivité d'un ion i en fonction de sa concentration, lorsqu'il est faiblement concentré. La conductivité est donc à l'origine de la résistance (R) au passage du courant dans le matériau. Elle est liée (Équation 3) à la résistance par le biais de la longueur entre les électrodes (L en m) et l'aire de celles-ci (A en m²) :

$$\sigma = \frac{L}{A \cdot R} = \frac{U}{I} \cdot \frac{L}{R}$$
 (Équation 3)

Cette conductivité est habituellement mesurée par un conductimètre ou déduite des mesures de courant et de tension dans une cellule de chauffage ohmique de dimensions connues.

Sa variabilité d'un produit à un autre est due à la composition ionique du produit (Palaniappan and Sastry, 1991). Les auteurs ont montré que certains composés non ioniques comme le sucre ou l'huile peuvent abaisser la conductivité d'un liquide tandis que le pH tend à l'augmenter. Les solides en suspension diminuent la conductivité mais il est difficile de prévoir la variation (C) et le comportement de la courbe (B) qui lie l'augmentation de la conductivité avec celle de la température. Des valeurs classiques de conductivité de liquides ou semi-liquides trouvées dans la littérature sont répertoriées dans le Tableau 2 (Icier and Ilicali, 2005a, 2005b; Palaniappan and Sastry, 1991).

Produit	Conductivité (S/m)
Bière	0.14
Café	0.18
Jus de pomme	0.3 - 1
Jus de tomate	0.7 - 1.7
Jus de raisin	0.4 - 0.8
Jus d'orange	0.5 - 1.25
Purée d'abricot	0.6 - 1.25
Lait	0.3 - 1

Tableau 2 : Conductivités électriques de certains liquides alimentaires

La forme et la fréquence du signal auraient aussi un impact sur la conductivité. Selon Lima et al., (1999b), un signal sinusoïdal ou dent-de-scie à faible fréquences (4 à 60 Hz) permet une conductivité supérieure par rapport à un signal carré. La vitesse de chauffe qui en découle est donc supérieure pour ces deux formes de signaux comparativement au signal carré. Ainsi, ils observent à 10 Hz que le temps de chauffe à 100 °C du centre d'un navet est de 120 s en signal dent de scie et sinusoïdal contre 360 s en signal carré (sous 30.8 V/cm). Cependant, cet effet semble limité aux faibles fréquences selon Lee et

al., (2013). Ces auteurs observent en effet que le temps de chauffe d'une sauce à 90 °C est 5 % plus long à 60 Hz en signal carré par rapport au signal sinusoïdal et 25 % plus long par rapport au signal dent-de-scie tandis qu'à 20 kHz, le même temps de chauffe est observé lors de l'utilisation des trois types de signaux. Les mêmes auteurs montrent que l'augmentation de la conductivité en fonction du temps de traitement (et donc de la température de la sauce) est moins rapide sous des fréquences inférieures à 500 Hz tandis qu'elle est comparable pour des fréquences entre 1 et 20 kHz. Castro et al., (2004) mentionnent que le gradient de tension a aussi un impact et relèvent une augmentation de la conductivité (+ 20 %) lors de l'utilisation d'un gradient plus élevé sur de la pulpe de fraise. Cependant cet effet n'est pas observé sur le coulis de fraise. L'effet est expliqué par la libération plus importante de contenu ionique lors de l'application de gradients de tension élevés qui endommagent plus amplement les membranes des cellules présentes dans la pulpe. Les membranes dans les coulis et autres produits déjà transformés ayant déjà été partiellement ou totalement détruites, aucune variation de conductivité n'est observée lors de l'application d'un gradient de tension élevé (70 V/cm)

3.1.3 Electrodes et réactions électrochimiques

Les principaux problèmes lors de l'application d'une tension aux bornes d'électrodes séparées par un produit alimentaire conducteur sont la contamination de ces produits par des ions métalliques largués par les électrodes et par les sous-produits de réactions électrochimiques. La migration des ions métalliques peut être minimisée par l'utilisation d'électrodes à faible corrosion en combinaison avec des hautes fréquences. En effet, à faible fréquence (50 Hz) l'électrolyse de l'eau libère du dihydrogène et du dioxygène selon la réaction suivante (Équation 4) (Samaranayake and Sastry, 2005) :

$$2H_2O_{(1)} + 2e \leftrightarrow 2H_{2(g)} + O_{2(g)} \qquad (\acute{E}quation \ 4)$$

La capacité électrique d'un matériau est la faculté de pouvoir accumuler des charges électriques pour un potentiel donné. Proportionnelle à l'aire de surface, une électrode avec une surface spécifique importante possède alors une capacité électrique plus élevée, ce qui contribue à réduire les réactions électrochimique en surface. Cependant la présence de rugosité en surface contribue à l'encrassement des électrodes. L'analyse d'images de surface de différents matériaux (titane, acier, titane platiné et graphite) montre clairement la différence de surface spécifique entre les matériaux (Figure 2).



Figure 2 : Images SEM d'électrodes en titane (a), acier inox (b), titane platiné (c) et graphite (c) (Samaranayake and Sastry, 2005)

Ces auteurs ont ensuite analysé les taux de corrosion en fonction des différents matériaux et du pH. Il apparait clairement qu'un pH faible augmente le taux de corrosion. Le titane et le titane platiné présentent des taux de corrosion sensiblement plus faibles (0.26 et 0.25 ppb.kJ⁻¹) en comparaison avec l'acier inox et le graphite (14.2 et 26.6 ppb.kJ⁻¹) à pH 3.5. Les électrodes en titane platiné combinent donc une surface spécifique plus élevée que le titane et une aussi bonne tenue à la corrosion. Ces électrodes, moins chères que du platine pur, sont donc d'après les auteurs le meilleur choix pour le chauffage ohmique de produits alimentaires.

3.2 Mécanisme d'inactivation microbiologique

L'inactivation des microorganismes lors du chauffage ohmique est principalement due à un effet thermique. Afin de vérifier si un effet électrique supplémentaire existe, il est nécessaire que les profils thermiques entre les modalités de chauffage ohmique et conventionnel soient rigoureusement identiques. Somavat et al., (2012) ont étudié ces effets grâce à une cellule capillaire de chauffage ohmique qui permet de contrôler précisément les cinétiques de chauffe. Les auteurs observent que les temps de réduction décimaux (D-value) à 121°C pour un chauffage ohmique à 60 Hz et 10 kHz et pour un chauffage conventionnel sont de 1,17, 0,88, et 2,53 min respectivement. L'écart entre ces valeurs se réduit en augmentant la température et devient nul à 130°C. Il apparait donc clairement qu'un effet électrique existe et accélère l'inactivation lors du chauffage ohmique, notamment lorsque la fréquence est élevée (10 kHz). Park and Kang,(2013) ont étudié l'effet électrique induit par un chauffage ohmique de 30 et 60 V/cm à 20 kHz sur des microorganismes. Des réductions log de 5,30, 6,85, et 3,06 sont observées pour E. coli O157:H7, S. Typhimurium, et L. monocytogenes, respectivement, après chauffage ohmique à 55 °C pendant 30 s. En chauffage conventionnel, des réductions log de 3,43, 4,70, et 1,20 sont observées respectivement après le même temps de chauffe à la même température. Afin d'expliquer les meilleurs taux d'inactivation obtenus grâce au chauffage ohmique, les auteurs mentionnent que l'application d'un champ électrique sur une membrane induit un phénomène d'électroporation, qui est le réarrangement de la bicouche lipidique des membranes cellulaires qui forment alors un pore sous l'action d'un champ électrique, ce qui induit une perméabilisation de celles-ci. Des images des microorganismes traités en chauffage ohmique sont alors réalisées et montrent des ruptures membranaires et une dissipation du contenu cellulaire (Figure 3 E et F) significativement plus importantes que celles observées lors du chauffage conventionnel (Figure 3 C et D).



Figure 3 : Images TEM de bactéries E.coli non traitées (A et B), traitées à $60^{\circ}C$ pendant 30s en chauffage conventionnel (C et D) et en chauffage ohmique (E et F) (Park and Kang,2013).

Le chauffage ohmique combine donc deux effets létaux pour les microorganismes contaminants : un effet thermique et un effet électrique. Cette combinaison permet une inactivation plus rapide, ce qui pourrait autoriser des temps de traitement plus courts et donc une économie d'énergie et une amélioration potentielle de la qualité des produits traités. Cependant, aucune étude n'a à ce jour été menée sur des microorganismes spécifiques observés en œnologie.

3.3 Procédés d'extraction thermique utilisés en œnologie

D'un point de vue œnologique, il existe un fort intérêt à extraire les polyphénols situés dans la pellicule pour améliorer la qualité des vins rouges (structure, couleur et arômes). A ce titre, le vinificateur effectue des remontages pendant la phase de fermentation pour moduler l'extraction et orienter son vin (Setford et al., 2017). De nombreuses variantes traditionnelles (pigeage, délestage...) ou plus technologiques (thermovinification, traitement enzymatique...) existent et ont pour objectifs de créer des perturbations sur les cellules des baies plus ou moins importantes qui vont permettre d'extraire les composés phénoliques. Les choix techniques (procédés d'extraction, précocité, intensité et rythme des extractions) sont donc prépondérants pour la couleur du vin comme pour les sensations aromatiques et gustatives (Petropulos et al., 2014). Par exemple, la pratique de la saignée (modification du rapport liquide/solide en début de fermentation alcoolique) engendre généralement une augmentation de l'extraction des polyphénols. Singleton, (1987) l'a étudiée pour neuf variétés de raisins et a rapporté que les concentrations en flavonoïdes et en anthocyanes étaient supérieures (entre 6 et 22 %) pour les vins traités (saignée de 10 %) par rapport aux vins témoins.

L'utilisation de températures élevées (60 - 70 °C) endommage les membranes cellulaires hypodermiques et épidermiques de la pellicule des raisins et permet de libérer essentiellement les anthocyanes (et non les tannins car absence d'éthanol) et dénature la polyphénol oxydase (PPO), limitant le brunissement enzymatique (Cottereau et Desseigne, 2007). La thermovinification consiste à chauffer la vendange à 70 - 75 °C pendant un temps compris entre 30 et 40 minutes. A la suite de cette étape, se déroule une étape de pressurage, puis de refroidissement. Le moût est vinifié en phase liquide après clarification, ce qui simplifie la vinification d'un point de vue pratique. Elle donne généralement des vins moins riches en polyphénols (tanins, anthocyanes) qu'une vinification classique avec une couleur en général peu stable (Spranger et al., 2004). Ce traitement permet cependant de diminuer les goûts végétaux d'une vendange en manque de maturité (dénaturation de l'IBMP ou 3-isobutyl-2-méthoxypyrazine responsable de l'arôme herbacé) (Geffroy et al, 2015).

La technique de macération préfermentaire à chaud consiste à maintenir les baies à une température de 60-70°C pendant une durée de 2 à 15 heures. Ce traitement est très couteux énergétiquement et nécessite une cuverie adaptée. De plus, des molécules thermosensibles telles que les arômes variétaux peuvent être volatilisés et le risque de développement de micro-organismes d'altération est plus important (Geffroy et al, 2015).

La macération préfermentaire à froid consiste à réaliser une macération de 2 à 6 jours des moûts et des baies à une température inférieure à 15 °C. Ce procédé permet de favoriser l'extraction des anthocyanes mais pas des tannins, or la stabilité de la couleur du vin est en lien avec la combinaison des anthocyanes et des tannins, ces derniers étant nécessaires pour favoriser la formation de pigments polymérisés (Okubo et al., 2003). Un autre procédé thermique d'extraction à froid est la congélation des moûts et des raisins qui selon la littérature semble conditionner de manière sensible la composition phénolique des vins. Le phénomène de congélation et de décongélation entraîne l'éclatement des cellules de la baie (formation de cristaux de glace et variation du volume lors du passage de l'état congelé à l'état non congelé), les membranes cellulaires se brisent et les polyphénols sont libérés dans le jus (Ortega-Heras et al., 2012).

Afin d'optimiser les traitements thermiques à chaud, des techniques ont été développées couplant l'effet de la température et de la pression : flash-détente et thermo-détente. Grâce à ce couplage, l'extraction des polyphénols totaux est généralement augmentée de 10 à 15 % par comparaison aux vins vinifiés classiquement (Morel-Salmi et al., 2006). De manière générale, les procédés thermiques sont couteux, tant en investissement qu'en cout énergétique et des alternatives sont donc recherchées.

3.4 Procédés d'extraction par champs électriques utilisés en œnologie

La technologie des champs électriques pulsés (CEP) est une technologie émergente non thermale destinée à l'amélioration de la qualité de certains produits alimentaires. Dans le cas de l'extraction, les champs électriques induisent une différence de potentiel transmembranaire au niveau de la membrane cellulaire végétale. Lorsque la différence de potentiel atteint une valeur critique, la rupture de la membrane se produit et la perméabilité cellulaire augmente (Zimmermann et al., 1974). Ainsi, la perméabilisation de la membrane cellulaire végétale améliore le transfert de masse dans des processus ultérieurs tels que l'extraction de métabolites végétaux (Toepfl et al., 2006). En œnologie, ce traitement se positionne en alternative aux traitements thermiques d'extraction réalisés avant la fermentation alcoolique, dans le but d'extraire des composés phénoliques d'intérêt issus des baies de raisin (Delsart et al., 2016, 2014). Les effets de ce type de traitement ont été évalués par López et al., (2008) sur des raisins de cépage Tempranillo. Les auteurs ont observé une augmentation de 18 % du contenu phénolique total sous 5 kV/cm et de 24 % sous 10 kV/cm dans les vins issus des moûts traités par CEP. L'augmentation du contenu phénolique totale est étroitement liée avec l'augmentation de la concentration en anthocyanes tandis que la concentration en tanins n'est pas significativement impactée par ce type de traitement. De même, El Darra et al., (2016) observent une augmentation de 20 % du contenu phénolique total dans un vin cabernet sauvignon issu d'un moût traité par CEP à 5 kV/cm tandis que l'augmentation de la concentration en anthocyanes est de 17 % suite à ce traitement. De plus, ces auteurs mentionnent que ce procédé est intéressant d'un point de vue énergétique par rapport à une thermovinification classique puisque sa consommation est évaluée à 48 kJ/kg contre 418 kJ/kg pour la thermovinification.

Il est à noter que les paramètres opératoires choisis (intensité et durée des impulsions électriques) ont une incidence sur les caractéristiques organoleptiques des vins finis issus des moûts traités par CEP. Ainsi, Delsart et al., (2012) ont réalisé sur des vins de cépage merlot, des traitements en CEP avant fermentation alcoolique. Les analyses sensorielles menées sur ces vins montrent que les dégustateurs préfèrent les vins issus des traitements les plus doux (700 V/cm, impulsions de 40 ms) en comparaison avec ceux issus des traitements plus intenses (500 et 700 V/cm, impulsions de 100 ms). Les auteurs montrent que les traitements les plus dus intenses extraient plus de polyphénols mais les tanins extraits sont plus petits et donc plus astringents et plus amers. L'objectif de ces traitements étant l'amélioration qualitative des vins, un compromis est donc indispensable entre taux d'extraction et qualité du produit finis.

3.5 Extraction par chauffage ohmique

Dans le cadre de l'extraction par chauffage ohmique, les deux composantes thermiques et électriques, pourraient donc agir en même temps afin d'améliorer l'extraction de composés phénoliques. Kulshrestha and Sastry, (2003) ont étudié la diffusion du colorant de betterave sous différents gradients de tension (0 à 23.9 V/cm) et fréquences (0 à 5 kHz). Il en résulte que la diffusion augmente avec l'augmentation du gradient de tension et diminue avec l'augmentation de la fréquence. Pereira et al., (2016) ont étudié l'extraction de composés phénoliques de pommes de terre par chauffage ohmique. Le rendement d'extraction après chauffage ohmique à 15 V/cm pendant 10 min à 90°C et 200 V/cm pendant 1 s à 100°C est de 85 et 90 % respectivement, soit une amélioration de 25 à 30 % par rapport au chauffage conventionnel de 90°C pendant 10 min (Figure 4).



Figure 4 : Cinétiques d'extraction des anthocyanes de pomme de terre violette dans l'eau après traitement en chauffage conventionnel 10 min à 90°C, ohmique 10 min à 90°C et 1s à 100 °C (Pereira et al., 2016).

Les auteurs ont constaté un effet sur l'extraction des polyphénols totaux comparable à celui observé sur les anthocyanes. L'électroporation est le phénomène mis en avant pour expliquer les performances supérieures observées en chauffage ohmique.

L'extraction d'anthocyanes du son de riz par chauffage ohmique est étudiée par Loypimai et al., (2015). Les auteurs comparent une extraction classique à la vapeur assistée par solvant avec l'extraction en chauffage ohmique de 50 à 200 V/cm assistée par solvant. La montée en température (105 °C) est réalisée en moyenne en 30 s pour les modalités chauffage ohmique contre 250 s pour la modalité vapeur. Malgré cette chauffe plus rapide les concentrations de cyanidine-3-O-glucoside, cyanidine-3-Orutinoside, delphinidine et malvidine sont en moyenne 60, 12, 17 et 7 % supérieures respectivement lors des extractions par chauffage ohmique. La concentration en polyphénols totaux augmente quant à elle de 36 % en moyenne. Aucune augmentation significative n'est observée sur la cyanidine et la pélargonidine. Une nouvelle fois, le relargage des polyphénols est attribué au phénomène d'électroporation. Ce résultat révèle donc un intérêt pour le traitement de la vendange.

Guida et al., (2013) ont étudié l'efficacité du chauffage ohmique pour le blanchiment des têtes d'artichauts en comparaison avec un blanchiment classique à l'eau. Un blanchiment en chauffage ohmique à 24 V/cm à 80 °C est comparé à un blanchiment à l'eau à 100 °C. L'inactivation des enzymes peroxydase et polyphénol-oxydase (PPO) (responsables du brunissement) est significativement plus rapide en chauffage ohmique qu'en chauffage conventionnel malgré une température plus élevée de 20 °C lors du blanchiment conventionnel (360 et 480 s respectivement). Les auteurs expliquent que cet effet pourrait être dû à l'uniformité du traitement, sensiblement meilleure par la méthode ohmique. Le capteur de température inséré dans le cœur d'un artichaut montre en effet que la température à l'intérieur de celui-ci est uniforme avec celle du milieu de blanchiment lors du blanchiment ohmique (80 °C en 120 s). Lors du blanchiment conventionnel, les feuilles d'artichaut chauffent plus vite que le cœur, qui atteint 80 °C en seulement 360 s. Les auteurs évaluent l'évolution de la concentration en protéines et polyphénols totaux dans les artichauts après les traitements basés sur les temps nécessaire à l'inactivation totale des enzymes (ohmique 360 s et conventionnel 480 s). Il en résulte que la concentration en protéines est plus élevée après traitement en chauffe ohmique et diminue moins vite dans le temps (3 g/100 g de)produit à t = 0 puis 1,82 g/ 100 g à t = 90 jours en ohmique contre 2,76 g/100 g à t = 0 et 0.8 g/100 g à t = 90 jours en conventionnel). La concentration en polyphénols évolue de la même manière avec 2117 mg / 100 g à t = 0 et 482 mg / 100 g à t = 90 jours en ohmique contre 1191 mg /100 g à t = 0 et 314 mg / 100 g à t = 90 jours en conventionnel.

Cet effet électrique, en plus d'augmenter l'efficacité d'inactivation microbiologique, permettrait donc d'extraire sensiblement plus de composés d'intérêt issus des cellules végétales malgré une tension sensiblement plus faible entre les électrodes que celle appliquée dans la technologie des CEP. L'application du chauffage ohmique sur un moût contenant du matériel végétal, par exemple avant une fermentation alcoolique lors de la vinification en rouge, pourrait donc être envisagé afin de décontaminer ce moût des microorganismes indigènes qu'il contient et de favoriser l'extraction, en comparaison à une macération pré fermentaire à chaud.

3.6 Impact du chauffage ohmique sur les propriétés des liquides alimentaires

Les traitements thermiques des liquides peuvent avoir un effet négatif sur les aromes des liquides alimentaires. Leizerson and Shimoni, (2005) ont analysé l'impact sur un jus d'orange d'un traitement thermique conventionnel et par chauffage ohmique. Les auteurs montrent que la dégradation de l'acide ascorbique est indépendante du type de méthode utilisée. Lima et al., (1999a) ont aussi montré que le mode de pasteurisation n'avait pas d'effet significatif et que la dégradation était de l'ordre de 22 % pour une chauffe de 30 min à 90 °C. Leizerson and Shimoni, (2005) ont ensuite étudié la dégradation de composé aromatiques du jus d'orange : le limonène, pinène, myrcène, l'octanal, et le décanal, suite à des traitements par chauffage ohmique à 90, 120 et 150 °C pendant 1,13, 0,85 et 0,68 s respectivement, et par pasteurisation classique à 90 °C pendant 50 s. Aucune dégradation n'est observée pour les traitements à 90 et 120 °C en chauffage ohmique contrairement à la pasteurisation classique (- 40 % en moyenne excepté pour le pinène). A 150 °C, une dégradation est observée mais toujours inférieure à celle observée lors de la pasteurisation classique. Des analyses sensorielles sont menées sur deux jus traités en pasteurisation classique et ohmique en comparaison à un jus frais non traité. Lors d'un test triangulaire, le panel de dégustateurs est capable d'identifier une différence entre les modalités frais / pasteurisation classique (14 / 25 bonnes réponses) et entre les modalités pasteurisation classique / chauffage ohmique (16 / 25 bonnes réponses) alors qu'il n'est pas capable d'identifier de différence entre les modalités frais / chauffage ohmique (9 / 25 bonnes réponses). La dégradation de l'acide ascorbique est souvent associée à un brunissement des liquides alimentaires. Leizerson and Shimoni, (2005) indiquent que pour une même valeur de pasteurisation, il n'y a pas de différence de brunissement du jus d'orange traité. Cependant, cette étude est basée sur des valeurs de pasteurisation (F-value) et compare des temps de traitement différents entre les deux modes de chauffe. Il est donc difficile de juger si les bonnes performances du chauffage ohmique sont uniquement liées au mode de chauffe ou à la durée de traitement.

L'impact d'un traitement par chauffage ohmique sur du jus de grenade a été étudié par Yildiz et al., (2009). Le profil thermique des traitements par chauffage ohmique à 90 °C (10-40 V/cm à 50 Hz) pendant 3 à 12 min a été calqué sur celui obtenu par un chauffage conventionnel. Les auteurs n'ont pas observé de différence significative sur la composition phénolique, la couleur et les propriétés rhéologiques entre les deux méthodes de chauffe. Ils en concluent qu'il n'y a pas d'effet électrique supplémentaire lors du chauffage ohmique du jus de grenade par rapport au chauffage conventionnel. Icier, (2010) ont montré que la préservation du contenu phénolique total était la même lors du blanchiment d'artichauts en chauffage ohmique à 25 V/cm qu'en chauffage conventionnel à l'eau pour la même température (65 %). A 40 V/cm, 85 % du contenu phénolique est préservé et une plus grande partie de la vitamine C est conservée par rapport au blanchiment classique. Ils notent aussi une plus rapide inactivation de l'enzyme peroxydase.

La dégradation de la PPO par chauffage ohmique du raisin a été étudiée par Icier et al., (2008). Ces auteurs rapportent que la température d'inactivation de la PPO est de 60 °C ou moins (par manque de données) à 40 V/cm contre 70 °C à 20 et 30 V/cm. Les auteurs indiquent que cet effet est probablement dû à l'augmentation plus rapide de la conductivité lors du chauffage à un gradient de tension plus élevé.

3.7 Conclusion

Toutes ces études indiquent que le chauffage ohmique peut être appliqué pour la pasteurisation des produits alimentaires avec au moins autant de succès que les traitements classiques. En effet, en plus de l'effet thermique sur l'inactivation des microorganismes, un effet électrique, associé à une électroporation des membranes cytoplasmiques, est observé. De plus, les auteurs indiquent globalement une amélioration des temps de traitements et donc du bilan énergétique ainsi que de la préservation des qualités organoleptiques des produits traités. De plus, l'extraction de composés d'intérêt peut sensiblement être améliorée par effet d'électroporation. Il est cependant difficile de comparer qualitativement les données car les conditions de traitement varient d'une étude à l'autre étant donné des différences dans les tensions, les fréquences et les formes de signaux utilisées ainsi que dans les matériaux des électrodes et dans la mise en place des dispositifs. Aucune étude n'a été menée sur l'utilisation de cette technologie concernant la stabilisation microbiologique ou la capacité d'extraction sur les moûts et les vins.

4 Stabilisation microbiologique par rayonnement UV-C

4.1 Introduction

Le soleil est la principale source de lumière ultraviolette sur terre avec un large spectre d'émission allant de 250 à 1200 nm. Une partie de son rayonnement est absorbée ou déviée par l'atmosphère terrestre et spécialement les longueurs inférieures à 700 nm. Au niveau de la mer, 9 % des radiations sont du domaine ultraviolet, 42 % du domaine visible et 49 % du domaine infrarouge. Les ultraviolets sont des rayons électromagnétiques et sont classés en trois catégories en fonction de leur longueur d'onde. Les UV-A, dont la longueur d'onde est comprise entre 315 et 400 nm, sont les plus abondants dans l'atmosphère terrestre (95%), les UV-B, de 280 à 315 nm et les UV-C de 100 à 280nm. Ces derniers sont les plus énergétiques (Figure 5).



Figure 5 : Spectre électromagnétique (www.esa.int)

La première application de traitement des liquides à grande échelle par lumière UV a été conduite en 1906 à Marseille pour la désinfection de l'eau potable (Masschelein and Rice, 2002). L'intérêt de la stabilisation microbiologique par lumière UV-C est aujourd'hui étendu à de multiples liquides alimentaires tels que le cidre (Koutchma et al., 2004), le lait (Bandla, 2010; Bandla et al., 2012), les jus de fruits (Baysal et al., 2013; Franz et al., 2009; Guerrero-Beltran et al., 2009; Keyser et al., 2008; Müller et al., 2011; Murakami et al., 2006) ou encore les œufs liquides (de Souza et al., 2014). Le

traitement par UV-C est de plus intéressant car il ne requiert pas de produits chimiques et ne produit pas d'effluents.

A cause de la faible capacité de pénétration du rayonnement UV-C dans certains liquides alimentaires, le rôle de ce procédé a souvent été limité à la désinfection des surfaces et des emballages (Koutchma, 2009). Le développement de nouveaux réacteurs avec des paramètres hydrodynamiques optimisés permet aujourd'hui le traitement de liquides présentant une absorbance élevée de la lumière ultraviolette. En effet, la condition sine qua non pour que le procédé soit efficace est l'exposition des microorganismes aux photons UV-C (Bintsis et al., 2000). Les microorganismes situés loin de la source de lumière dans un liquide absorbant peuvent être protégés de celle-ci par l'épaisseur de liquide entre eux. L'optimisation des paramètres hydrodynamiques permet de forcer le passage de chaque microorganisme dans une zone proche de la source de lumière et ainsi augmenter considérablement l'efficacité du traitement.

4.2 Mécanisme d'inactivation des microorganismes

Le principal effet létal causé par le rayonnement UV-C sur les microorganismes est imputable à des altérations de l'ADN telles que la formation de dimères de pyrimidine (Figure 6).



Figure 6: Mécanisme de formation de dimères de pyrimidine sous l'action du rayonnement UV-C

Un dimère de pyrimidine est une lésion moléculaire de l'ADN résultant d'une réaction photochimique entre des résidus de thymine ou de cytosine adjacents. La lumière ultraviolette induit la formation de liaisons covalentes par des réactions impliquant les doubles liaisons C=C. Dans l'ARN bicaténaire, des dimères d'uracile peuvent également s'accumuler sous l'effet d'un rayonnement ultraviolet. Deux produits fréquents d'une exposition aux ultraviolets sont les dimères cyclobutyliques de pyrimidine (CPD) et les photoproduits 6,4. Ces lésions prémutagènes altèrent la structure de l'ADN, ce qui a pour effet d'inhiber les polymérases et de bloquer la réplication de l'ADN (Bintsis et al., 2000; Li et al., 2006; Sinha and Häder, 2002) (Figure 7).



Figure 7 : Formation des lésions ADN de type dimère cyclobutylique de pyrimidine (CPD) et des photoproduits 6,4 (Li et al., 2006)

La formation de ces dimères est observée notamment lors de l'exposition de l'ADN à un rayonnement dont la longueur d'onde est proche de son maximum d'absorbance, soit 260 nm (Bintsis et al., 2000). Il est possible de constater que l'effet germicide qui en résulte est donc maximal à cette longueur d'onde (Figure 8).



Figure 8 : Effet germicide en fonction de la longueur d'onde (Bintsis et al., 2000)

Cependant, il existe deux mécanismes de réparation de l'ADN (Sinha and Häder, 2002), la photoréactivation, qui nécessite de la lumière, et le « dark repair » qui n'en nécessite pas. La photoréactivation est un mécanisme qui clive le dimère formé par l'exposition aux UV et qui restaure l'ADN grâce à une enzyme photolyase et de l'énergie puisée dans les longueurs d'ondes proche de l'UV de la lumière ambiante (Cleaver, 1978). Le mécanisme de réparation par excision de nucléotide (NER) permet une réparation des lésions UV-C en l'absence de lumière (Sinha and Häder, 2002). Contrairement à la photoréactivation qui reforme l'ADN dans son état d'origine en présence de lumière, ce mécanisme entraine une excision de l'ADN endommagé, notamment des dimères de pyrimidines, et le remplacement de l'ADN avec des nucléotides non endommagés (Figure 9).



Figure 9 : Schéma du mécanisme de réparation de l'ADN par excision de nucléotide

D'autres mécanismes de réparation sans présence de lumière existent, comme la réparation par excision de base (BER). L'efficacité de ces mécanismes est variable suivant les espèces et suivant les souches. En effet, la présence de certains gènes influence fortement la sensibilité aux UV-C tel que l'ont montré Birrell et al., (2001). Les auteurs ont testé la survivabilité d'une levure *S.cerevisiae* dont ils ont modifié l'ADN par excision ou réintégration de certains gènes impliqués dans les mécanismes de

réparation de l'ADN. La Figure 10 représente le taux de survie de la levure *S.cerevisiae* BY4743 à une dose de 200 J/m² suite à la réintroduction de gènes supprimés.



Figure 10 : Taux de survie de la levure S.cerevisiae BY4743 à une dose de 200 J/m² suite à la réintroduction (barres blanches) des gènes supprimés (barres noires).

Les auteurs précisent la fonction des gènes :

- Thr1 : impliqué dans la biosynthèse de la thréonine
- Lsm1 : impliqué dans la dégénérescence de l'ARN
- Yaf9 : impliqué dans l'activation de la transcription de l'ADN
- Rad18 : impliqué dans la réparation de l'ADN

Ainsi, chacun de ces gènes lorsqu'il est supprimé, diminue de façon drastique (de 50 à 10 %) le taux de survie de cette levure lors de l'exposition à la dose UV-C. Ces résultats démontrent donc la variabilité de sensibilité au rayonnement UV-C suivant le génome, qui diffère suivant les espèces, mais qui diffère en plus suivant les souches d'une même espèce.

4.3 Pénétration et absorption de la lumière UV

La lumière UV produite par le gaz excité interagit avec la matière qu'elle rencontre. Ainsi elle peut être absorbée, réfléchie, réfractée ou diffractée (Figure 11). Dans un réacteur UV, cette lumière va typiquement rencontrer, en plus de liquide à traiter, des éléments du réacteur lui-même tels que les parois de la lampe, les gaines quartz entourant la lampe et les parois du réacteur. Chacun de ces éléments rencontrés par le rayonnement lumineux va influencer son trajet et son intensité lorsqu'il atteindra un microorganisme dans le liquide.



Figure 11 : Interactions d'une onde électromagnétique avec la matière

L'absorption est la transformation de l'énergie des photons dans une autre forme d'énergie lors du passage au travers d'un matériau.

La réfraction est le phénomène de changement de direction du trajet lumineux lorsqu'il passe d'une matière à une autre, comme par exemple de l'air à l'eau. La loi de Snell-Descartes décrit ce comportement et s'écrit (Equation 1) :

$$\mathbf{n}_1 \cdot \sin \theta_1 = \mathbf{n}_2 \cdot \sin \theta_2 \tag{Equation 1}$$

Où n_1 et n_2 sont les indices de réfraction de chacun des milieux traversés et sont les angles d'incidence et de réfraction respectivement.

La diffraction peut être vue comme la diffusion de l'onde électromagnétique lorsqu'elle rencontre une ouverture ou un obstacle dont la dimension est proche de celle de la longueur d'onde du rayonnement. Le facteur de réflectance est la part de la lumière qui n'est ni transmise par le matériau qu'elle rencontre ni absorbée par celui-ci. Elle est alors réfléchie suivant son angle d'incidence. Elle peut être définie suivant le rapport entre le flux lumineux réfléchi et le flux lumineux incident. Des valeurs de réflectance (%) de matériaux communs sont données dans le Tableau 3.

Matériau	Réflectance $(\%)$	
Aluminium poli	88	
Aluminium mat	75-80	
Feuille d'aluminium	73	
Chrome	45	
Nickel	38	
Papier blanc	25	
Inox (IASI 304 et AISI 316)	25	
Verre	4	
Eau	4	
PVC	1	
Peinture optique noire	1	

Tableau 3 : Réflectance à 254 nm de différents matériaux

Le phénomène de réflectance peut être utilisé dans la conception d'un réacteur UV-C afin de rediriger une partie du rayonnement vers la zone d'intérêt. Il est aussi à prendre en compte dans le choix des matériaux que le rayonnement devra traverser avant d'atteindre le liquide à traiter. Plus le matériau à traverser aura une réflectance élevée, plus il contribuera à la diminution des performances.

L'absorbance du rayonnement UV des liquides à traiter est le paramètre qui influence le plus la performance d'un réacteur UV-C. La loi de Beer-Lambert peut être exprimée ainsi : $A = \alpha l$. A est l'absorbance mesurée dans un liquide lors d'un trajet optique l (cm). Le coefficient d'absorption α (cm⁻¹) est spécifique à chaque liquide et défini pour chaque longueur d'onde. La profondeur de pénétration pour laquelle l'intensité lumineuse initiale chute de 90%, notée d_p, est calculée suivant (Equation 2):

$$d_p = 1/\alpha$$
 (Equation 2)

Ce paramètre spécifique à chaque longueur d'onde est déterminant dans la conception d'un réacteur UV-C. Des exemples de coefficients d'absorption à 254 nm mesurés pour des liquides alimentaires sont donnés dans le

Tableau 4 (Gómez-López et al., 2012).

	Coefficient d'absorption (cm^{-1})
Eau	0,001
Jus de pomme	7-39
Cidre de pomme	40
Jus d'orange	> 60
Blanc d'œuf	100
Lait	300
Bière	10-20

Tableau 4 : Coefficients d'absorption à 254 nm de différents liquides alimentaires

Afin que les microorganismes soient inactivés, il est nécessaire qu'ils soient atteints par le rayonnement UV-C. Or, dans des liquides absorbants comme le lait ou les jus d'orange, la profondeur de pénétration, et donc la chance d'atteindre un microorganisme, est nettement réduite par rapport à un liquide peu absorbant tel que l'eau.

Müller et al., (2015) ont déterminé qu'une relation entre efficacité d'inactivation et absorbance de la solution existait jusqu'à certaines valeurs d'absorbance. En effet, une relation linéaire a été observée entre la dose UV-C requise pour inactiver une population d'*E.coli* en fonction du coefficient d'absorption entre 0 et 40 cm⁻¹. Au-delà de cette valeur, l'absorbance ne semble plus avoir d'impact (Figure 12).



Figure 12 : Dose UV-C requise pour la réduction décimale (D) d'E.coli en fonction du coefficient d'absorption (Müller et al., 2015)

Il est possible d'expliquer ce comportement par la profondeur de pénétration du rayonnement qui, à des coefficients supérieurs à 40 cm⁻¹, atteint des valeurs très faibles et proches de 0 cm. De par la relation qui lie la profondeur de pénétration à l'absorbance (f(x)=1/x) plus ce coefficient est élevé, moins la profondeur de pénétration varie (Figure 13). Une augmentation de ce coefficient ne se traduit alors plus par une diminution significative des performances du réacteur.



Figure 13 : Représentation graphique de la variation de la profondeur de pénétration d_p en fonction du coefficient d'absorption à 254 nm

Fan and Geveke, (2007) se sont intéressés à l'absorbance de solutions de sucres, d'acide ascorbique et malique. Les sucres n'absorbent que peu sur la plage 240 – 360 nm alors qu'ils absorbent fortement vers 200 nm. L'acide malique absorbe fortement en dessous de 240 nm et l'acide ascorbique absorbe quant à lui entre 220 et 300 nm même à des concentrations très faibles (0.001 %). Ainsi, la concentration en sucres n'aura que peu d'impact sur la pénétration des rayons germicides à 254 nm tandis que l'acide ascorbique, souvent retrouvé dans les jus de fruit, absorbera fortement ces mêmes rayons, réduisant par conséquent les performances d'inactivation des réacteurs UV-C.

Müller et al., (2015) ont étudié les effets de la turbidité sur les performances d'inactivation d'un réacteur UV-C hélicoïdal (Figure 14).



Figure 14 : Effet de l'absorbance et de la turbidité sur l'inactivation de E.coli dans un réacteur UV-C hélicoïdal (Müller et al., 2015)

Les auteurs montrent que la cinétique d'inactivation d'une solution dont le coefficient d'absorbance est de 9 cm⁻¹ et la turbidité de 0 NTU, est égale à celle de cette même solution avec en plus une turbidité de 10000 NTU. Ce qui signifie que la turbidité a peu d'impact sur les performances d'inactivation d'un tel réacteur dans ces conditions.

4.4 Application au vin et « gouts de lumière »

4.4.1 Stabilisation microbiologique

Très peu d'études sont disponibles sur la stabilisation microbiologique des vins par rayonnement UV-C. Fredericks et al., (2011) ont traité dans un réacteur annulaire turbulent de type *SurePure* des moûts de Chenin blanc et de Shiraz ainsi que des vins Chardonnay et Pinotage. Dans le Chardonnay, la résistance UV-C de plusieurs souches de microorganismes est évaluée et les résultats montrent que : A.aceti DSM 3509T <P.acidilactici < O.oeni 48 < B.bruxellensis ISA1649 < L.plantarum 130 < S.cerevisiae VIN13. Les auteurs expliquent que les bactéries sont plus sensibles que les levures car elles contiennent plus de thymines et sont donc plus sujettes à la formation de dimères. La résistance de ces mêmes microorganismes est cependant différente dans le vin rouge Pinotage : L.plantarum 130 < B. bruxellensis ISA1649T < S.cerevisiae VIN13 < A.aceti DSM 3509T < P.acidilactici < O.oeni 48. Les auteurs remarquent aussi que la dose UV-C nécessaire pour inactiver ces populations de 4 à 5 log UFC/mL est supérieure dans le vin rouge (3672 J/L) par rapport au vin blanc (459 J/L). Des coefficients d'absorbance de 10 et 30 cm⁻¹ ont été reportés par Guerrero-Beltran and Barbosa-Canovas, (2004) dans des vins blanc et rouge respectivement, ce qui explique la différence d'énergie UV-C à fournir pour atteindre les mêmes taux d'inactivation dans les deux vins. Les polyphénols sont en partie responsables de cette différence avec le vin blanc, notamment les anthocyanes qui sont connus pour leur grande absorbance dans l'UV (Ma et al., 2012). La concentration en microorganismes est aussi un facteur affectant le taux d'inactivation, toujours selon Fredericks et al., (2011). L'inoculation simultanée des différents microorganismes réduit significativement les performances d'inactivation en comparaison avec une inoculation séparée. Les auteurs expliquent que la concentration en microorganismes affecte l'absorbance du vin et que les agglomérats de ces microorganismes peuvent jouer un rôle de bouclier, en protégeant ainsi certains du rayonnement. Ils concluent qu'en l'état actuel, le traitement par UV-C doit se conjuguer avec des doses réduites de SO₂ pour être efficace.

Rizzotti et al., (2015) ont étudié l'inactivation des levures, bactéries acétiques et lactiques dans des vins rouges et blancs grâce à un réacteur annulaire turbulent de type *SurePure*. Ils observent eux aussi une plus grande efficacité de réduction dans les vins blancs (1 à 5 log UFC/mL) que dans les vins rouges (1 à 2 log UFC/mL). Les auteurs ont aussi reporté des cas de bactéries viables mais non cultivables (VNC) après traitement par UV-C.

Toujours dans le même type de réacteur *SurePure*, Lorenzini et al., (2010) ont démontré l'efficacité du traitement sur plusieurs vins blancs et rouges. Des réductions totales de multiples microorganismes sont obtenues dans les vins blancs suite à une dose de 1000 J/L contre 2000 J/L dans les vins rouges. Les auteurs mentionnent que les analyses physico-chimiques (pH, acidité totale et concentration en sucres) et colorimétriques n'ont pas montré de changements après traitement par UV-C cependant sans donner de valeurs.

4.4.2 Gouts de lumière

Aucune des études précédentes ne s'est penchée réellement sur l'impact que peut avoir le traitement sur la qualité des vins traités. En effet, il est établi que la lumière peut avoir un impact négatif sur le vin de par la formation de « gouts de lumière », dont les arômes rappellent ceux du chou ou encore de la serpillère mouillée (Dozon and Noble, 1989; Fracassetti et al.). Les vins blancs semblent plus prédisposés à ce phénomène. (Mattivi et al., 2000) ont étudié l'apparition de ce défaut suite à l'exposition de vins blancs pendant 48 heures à une lumière artificielle. Les résultats montrent que 31% des vins présentent un défaut intense, 40% un défaut perceptible et 29% ne présentent pas de défaut après cette exposition. La formation de composés responsables ce défaut tels que le sulfure d'hydrogène, le méthanethiol ou le diméthyldisulfure (DMDS) a été associée à l'exposition à la lumière (Maujean et al., 1978). Des arômes d'acétaldéhyde ont aussi été relevés par (Dias et al., 2013) dans un Chardonnay exposé à la lumière. Une perte d'intensité des arômes désirables associée aux acétates d'esters, acides gras et éthyl esters a été observée (Benítez et al., 2003). Cependant ces études concernent l'exposition à la lumière lors d'un stockage prolongé et les cinétiques semblent lentes avec des expositions allant jusqu'à 45 jours.

La couleur des vins peut aussi être influencée par l'exposition à la lumière. Le brunissement en fonction de la durée d'exposition a été étudié par Dias et al., (2013). Il relève de la photodégradation ou de la formation de pigments. L'exposition à la lumière peut aussi entrainer une accélération de la consommation d'oxygène (Singleton, 1987) et une diminution des concentrations de dioxyde de soufre (Blake et al., 2010).

D'un point de vue chimique, l'absorption des photons lumineux par des molécules pouvant être excitées est la source de ces transformations. L'énergie absorbée est égale à hv où h est la constante de Planck et v la fréquence de la longueur d'onde. La réactivité d'une molécule excitée est plus élevée car la distribution des électrons en fait une molécule moins stable et plus apte à donner ou recevoir des électrons. Les longueurs d'onde les plus aptes à engendrer ces états sont celles avec la plus grande énergie, donc plus proche des ultraviolets (Figure 5).

Ces défauts sont associés principalement à la présence de riboflavine dans les vins. Mattivi et al., (2000) ont montré une corrélation positive entre la concentration en riboflavine et l'intensité du « gout de lumière » observé suite à une exposition prolongée à la lumière. De plus, l'addition artificielle de cette molécule à raison de 1 mg/L a augmenté le taux de vins ayant développé un défaut intense de 71 à 98 %. Maujean et Seguin (1983) ont montré que l'addition de riboflavine, de méthionine et de cystéine au Champagne a augmenté la production de méthanethiol et de DMDS après une exposition à la lumière et que la riboflavine était indispensable à ces transformations. La riboflavine dans son état fondamental absorbe la lumière UV, notamment à 222 et 266 nm (Orlowska et al., 2013), la riboflavine transite alors vers un état excité singulet avant de basculer via la conversion intersystème vers un état excité triplet (Figure 15).



Figure 15 : Photoexcitation de la riboflavine vers son état excité singulet puis triplet (Grant-Preece et al., 2017)

Il existe ensuite deux voies d'oxydation possibles. Dans la voie de type 1, la riboflavine triplet réagit directement avec certaines molécules pour former sous-produits, comme par exemple du méthanethiol à partir de méthionine (Figure 16).



Figure 16: Schéma du mécanisme d'oxydation de la méthionine par la riboflavine sous exposition à la lumière (Maujean and Sequin, 1983)

Dans la voie de type 2, la riboflavine triplet en présence d'oxygène transfère son énergie pour former de l'oxygène singulet. Cet oxygène singulet est réactif et peut à son tour réagir avec des alcènes, amines et sulfures (Min and Boff, 2002; Singleton, 1987). La réaction de l'oxygène singulet avec la méthionine pour former du DMDS a aussi été montrée (Grant-Preece et al., 2017). En l'absence d'oxygène dissous, seul le type 1 peut donc exister. La riboflavine étant majoritairement produite par les levures lors de la fermentation alcoolique, il est possible d'abaisser sa concentration dans les vins en utilisant des souches sélectionnées pour le faible taux de production. En effet, la concentration en riboflavine peut varier de 20 à plus de 150 μ g/L en fonction de la souche de levure choisie. Le restant peut être absorbé par des matériaux poreux tels que le charbon actif ou les zéolites (Fracassetti et al.).

Davaux et al., (2011) observent que le traitement par UV-C d'un vin sauvignon blanc riche en oxygène (3,3 mg/L) entraine une consommation de l'oxygène dissous lors du traitement tout en augmentant les phénomènes d'oxydations (augmentation du ratio A420/A520 de 0,8 à 2,5 après 8000 J/L). Aussi les auteurs montrent que le profil aromatique du sauvignon blanc traité à forte dose UV-C (11000 J/L) présente un défaut notable de « réduction » tandis que ce défaut n'apparait pas lors des traitements de faible intensité (< 2000 J/L). Ces observations décrivent bien les phénomènes imputables aux réactions photochimiques détaillées précédemment, à savoir la photo-oxydation et l'oxydation via formation de radicaux libres. D'un point de vue phénolique, l'impact du rayonnement UV-C a été peu étudié. Cependant, une étude de Volf et al., (2014) sur la stabilité de certains polyphénols lors de traitements thermiques et UV-C à 254 nm montre que les UV-C ont peu d'impact sur ceux-ci. Des solutions d'acide gallique, acide vanillique et catéchine sont irradiées dans un réacteur annulaire en mode batch par une lampe LPM de 15 W. Après une irradiation de 480 min, 100 % de la catéchine est dégradée contre 85 % de l'acide gallique et 50 % de l'acide vanillique. Il a été aussi remarqué qu'en présence de certains composés, la sensibilité au rayonnement diminuait. Par exemple, après 90 min de traitement, 30 % de l'acide vanillique est éliminé en solution aqueuse pure contre seulement 10 % en solution aqueuse contenant 0,5 g/L de NaCl. Les solutions de polyphénols pures sont aussi plus sensibles que ces mêmes polyphénols issus d'extrait végétaux. Ainsi, 90 % de la catéchine pure est éliminée après 3 h d'irradiation tandis que seulement 40 % est éliminée dans l'extrait végétal. Les auteurs expliquent ces résultats par la complexité des matrices naturelles, dont certains co-pigments peuvent inhiber la dégradation de ces polyphénols par les rayons UV-C. Bkowska et al., (2003) ont montré que la copigmentation avait un effet inhibiteur sur la dégradation des polyphénols et que l'effet de cette copigmentation était plus importante à pH = 3.5. Les dégradations de polyphénols observées concernent les expositions à des doses UV-C correspondant à plusieurs heures de mise en contact avec la source en réacteur batch. Lors de traitements de stabilisation microbiologique, les traitements sont effectués en mode continu et les temps de contact sont de l'ordre de 5 à 30 s, ce qui laisse penser que l'impact de tels traitements sur les polyphénols sera négligeable.

Durner et al., (2017) ont également étudié l'impact d'un traitement de stabilisation microbiologique par UV-C sur des moûts de Riesling et des vins. Les auteurs montrent que le traitement par UV-C ne modifie pas les concentrations d'alcools en C6 glycosilés, de monoterpènes et de C13-norisoprénoides. Les auteurs précisent qu'outre le pouvoir d'inactivation, les traitements par UV-C sont connus pour leur capacité à former de puissants arômes, tels que le méthional ou le méthanethiol (gout de lumière). Dans leur étude, l'analyse sensorielle a révélé que l'application d'UV-C à des doses < 2 kJ / L dans le moût n'est pas critique.

Alothman et al., (2009) ont étudié l'effet du traitement ultraviolet sur les phénols totaux, les flavonoïdes et la teneur en vitamine C de l'ananas frais, du bananier «pisang mas» et de la goyave. Ces auteurs considèrent également la capacité antioxydante du fruit en mesurant son pouvoir antioxydant (FRAP). Dans cette étude, les fruits frais ont été exposés aux UV-C pendant 0, 10, 20 et 30 minutes. Leurs résultats montrent que la teneur totale en phénol et en flavonoïdes de la goyave et de la banane a augmenté de manière significative avec l'augmentation du temps de traitement. Sur l'ananas, l'augmentation de la teneur totale en phénol était insignifiante tandis que la teneur en flavonoïdes augmentait significativement après 10 min de traitement. Le traitement UV-C a diminué la teneur en vitamine C des trois fruits.

Islam et al., (2016) ont étudié les effets du traitement UV-C sur certains polyphénols et vitamines du jus de pomme et du cidre. Ils observent que la concentration en épicatéchine diminue linéairement en fonction de la dose UV-C. A la dose maximimale délivrée de 120 mJ.cm⁻², les concentrations en épicatéchine et acide chlorogénique étaient significativement réduites de 22,12 et 25,94 %. Les résultats suggèrent que l'épicatéchine est relativement sensible au rayonnement UV-C par rapport à l'acide chlorogénique. En revanche, aucun changement significatif dans les concentrations de la phloridzine et de la catéchine n'est observé. Bien que ces résultats ne soient pas généralisables à tous les jus, ils fournissent un aperçu des effets du traitement UV-C et montre qu'il est nécessaire d'étudier ceci de manière plus approfondie afin d'appréhender un changement en matière de réactivité des polyphénols.

4.5 Sources de lumière UV-C

Le choix de la source UV-C est primordial pour la désinfection des liquides alimentaires. Ceux-ci peuvent présenter des absorbances variables qui vont conditionner le choix de la source en fonction de sa puissance et de sa forme, adaptable ou non au type de réacteur mis en œuvre. Le spectre lumineux sera aussi pris en compte afin d'éviter la formation de sous-produits, comme par exemple la formation d'ozone, particulièrement oxydante, lorsque le dioxygène est exposé à des radiations de haute énergie (< 200 nm) (Voronov, 2008).

4.5.1 Les lampes au mercure

Les lampes à vapeur de mercure sont les principales sources de lumière ultraviolette. Utilisées depuis plus de 50 ans, elles sont fiables et peu onéreuses. Elles contiennent un gaz inerte, généralement de l'argon, et du mercure sous forme liquide ou solide. L'ionisation des atomes de mercure par les décharges électriques entre deux électrodes engendre une émission de photons lors du retour de ces atomes dans leur état fondamental. Les réactions d'ionisation et de retour à l'état fondamental sont (Masschelein and Rice, 2002) :

$$Hg + e \to Hg^*$$
$$Hg^* \to Hg + hv$$

Les lampes à moyenne pression de mercure (Medium Pressure Mercury – MPM) opèrent à une pression de 10^6 à 10^7 Pa. La puissance utile est de l'ordre de 5 à 30 W/cm. Ces lampes sont polychromatiques et émettent sur une large plage de 200 à 600 nm (Figure 17). Elles sont préférées pour le traitement des eaux ou les applications de photodégradation et ne sont pas considérées comme des choix pertinents pour la désinfection des liquides alimentaires malgré leur puissance et donc leur pénétration élevée car le spectre contient trop de longueurs d'onde « parasites » pouvant former des sous-produits et leur température de fonctionnement proche de 800 °C oblige un système de refroidissement supplémentaire.



Figure 17: Spectre d'émission des lampes MPM (Masschelein and Rice, 2002)

Les lampes à basse pression de mercure (Low Pressure Mercury – LPM) opèrent à une pression de 10^2 - 10^3 Pa. La puissance utile est de l'ordre de 0,2 à 0,3 W/cm (Koutchma, 2009). Contrairement aux MPM, le spectre d'émission est essentiellement concentré sur la raie à 253,7 nm (Figure 18). Une raie secondaire à 185 nm, génératrice d'ozone, est aussi retrouvée. L'emploi d'une paroi de quartz dopée au dioxyde de titane permet de

bloquer cette dernière. La température de fonctionnement est relativement faible, de l'ordre de 50°C.



Figure 18 : Spectre d'émission des lampes LPM (Masschelein and Rice, 2002)

Les lampes à basse pression de mercure avec amalgame fonctionnent comme les LMP mais contiennent un amalgame de mercure solide (Low Pressure Mercury High Output – LPMHO). Ces lampes fournissent une puissance de 1 à 5 W/cm, soit 10 fois la puissance des LPM classiques et opèrent à une température de 100 °C. Leur sensibilité à la température ambiante est faible et leur durée de vie excellente (10000 h). Ces dernières sont par conséquent adaptées pour le traitement de liquides absorbants.

4.5.2 Les lampes alternatives

Les lampes de type excimère (dimère excité) sont basées sur la faculté des dimères de gaz rare (R_g^*) à émettre un photon lors de leur retour à l'état fondamental suivant la réaction suivante :

$$R_g^* \to R_g + R_g + h\nu$$

Suivant l'excimère utilisé, des lumières monochromatiques allant de 120 à 350 nm peuvent être produites. Les avantages principaux de ces lampes sont leur faible émission de chaleur, leur allumage instantané, l'absence de mercure et leur rendement en termes de puissance UV fournie. De par leur apparition plus récente sur le marché, leur utilisation pour la décontamination microbiologique est peu développée actuellement, quelques exemples sont récapitulés dans les travaux de Matafonova and Batoev, (2012). Les lampes à lumière pulsée fonctionnent sur le principe de décharges par impulsions $(100 \text{ }\mu\text{s})$ d'un condensateur. Les études menées jusqu'à présent concernent essentiellement la désinfection des surfaces de produits alimentaires et non les liquides alimentaires (Oms-Oliu et al., 2010). Ce type de lampe fourni une très haute intensité UV (30000 W/cm²) mais présente des désavantages certains, tel que la rapide montée en température des produits traités (Hillegas and Demirci, 2003) ainsi qu'un spectre lumineux polychromatique apparenté au spectre solaire. L'utilisation de ces lampes n'est donc pas adaptée pour le traitement des matrices sensibles comme le vin étant donné leur spectre lumineux, pouvant générer des sous-produits.

4.6 Les réacteurs UV-C continus

De nombreuses études ont été menées sur la stabilisation microbiologique des liquides alimentaires et notamment des jus de fruit (Koutchma, 2009). Cependant elles sont parfois difficilement comparables du fait des différentes méthodes de quantification des intensités UV-C utilisées, des propriétés des liquides traités, des types de réacteurs utilisés et des différents microorganismes présents. Les réacteurs décrits dans cette partie sont uniquement des réacteurs continus capables d'être adaptés à une échelle industrielle.

4.6.1 Réacteur annulaire

Dans les réacteurs annulaires, le liquide circule dans l'espace créé entre deux tubes concentriques. Le tube interne étant typiquement la gaine quartz de la lampe et le tube externe étant le carter métallique. Ces réacteurs sont utilisés dans le traitement de l'eau et de certains jus. L'espacement entre les deux tubes varie en fonction des contraintes de débit de traitement et d'absorbance du liquide. Pour le traitement des liquides absorbants il existe des réacteurs capables de former de fines épaisseurs de liquide (< 1 mm) afin de favoriser la pénétration des rayons UV-C dans le liquide. Ces réacteurs en flux laminaire présentent un profil de vitesse parabolique. Dans le jus d'orange, Tran and Farid, (2004) ont étudié l'inactivation des bactéries ainsi que des levures et moisissures à l'aide d'un réacteur annulaire. Les intensités UV-C mesurée pour la réduction des bactéries aérobies sont de 87 mJ/cm² contre 119 mJ/cm² pour les levures et moisissures. Des unités commerciales de ces réacteurs sont produites sous le nom *CiderSure*. Dans le jus de pomme, Guerrero-Beltran and Barbosa-Canovas, (2005), ont étudié l'inactivation de la levure *S.cerevisiae* et des bactéries *E.coli* et *L.innocua*.

Après 30 minutes de traitement dans un réacteur annulaire, des réductions de 1,34, 4,29 et 5,10 log UFC/mL sont obtenues respectivement. Les levures sont jugées plus résistantes que les bactéries dans les conditions de l'étude, sans en préciser la raison.

Un autre type de réacteur annulaire a été développé par *SurePure*. Le liquide circule alors en film mince entre la gaine quartz de la lampe et une paroi externe ondulée ou spiralé qui, combiné à un débit élevé, créée de la turbulence. Ce réacteur a notamment été étudié dans le traitement des jus de fruit (Keyser et al., 2008) pour l'inactivation des bactéries et levures sur des jus de pomme, d'ananas, de mangue, de fraise, d'orange et sur des jus tropicaux. Les doses appliquées sont comprises entre 0 et 2000 J/L. Les auteurs mentionnent l'importance du choix des paramètres de traitement en fonction du liquide à traiter. Fredericks et al., (2011) ont aussi traité des moûts et vins grâce à ce type de réacteur. Bactéries et levures ont été inoculées dans des moûts de Chenin blanc et Shiraz ainsi que dans des vins Chardonnay et Pinotage puis ces derniers ont été traité avec des doses UV-C comprises entre 0 et 3200 J/L. Les résultats montrent que l'inactivation n'est pas totale et surtout dépendante du type de microorganismes à éliminer.

4.6.2 Réacteur hélicoïdal

Les réacteurs à tube hélicoïdal utilisent le principe de l'effet de Dean (Dean and Hurst, 1959) pour améliorer la mise en contact du liquide avec le rayonnement de la lampe. Le liquide est envoyé dans un tube Teflon enroulé autour de la lampe avec un débit suffisant pour assurer la formation d'une paire de vortex suivant l'axe radial du tube. Müller et al., (2014) ont validé les performances de ce type de réacteur. Singh and Ghaly, (2007) ont utilisé ce réacteur pour le traitement de fromage, et observé qu'il était plus efficace que le réacteur annulaire équivalent, quand le choix des paramètres est optimisé. Dans un jus de pomme naturellement trouble, Franz et al., (2009) démontrent l'efficacité d'un réacteur hélicoïdal pour l'inactivation de *E.coli, L.brevis* et *S.cerevisiae.* La plus grande sensibilité des bactéries est une nouvelle fois pointée dans cette étude.

4.7 Actinométrie

L'irradiance ou éclairement énergétique est un terme radiométrique qui quantifie la puissance d'un rayonnement électromagnétique frappant par unité de surface perpendiculaire à sa direction. Exprimée en watts par unité de surface (W/m^2) cette grandeur caractérise les lampes UV-C. Dans un réacteur continu, le facteur temps entre
en jeu et il est possible d'exprimer une dérivée de cette grandeur appelée fluence énergétique ou dose UV-C, en J/m^2 .

La dose UV-C délivrée au liquide à traiter peut aussi être exprimée par une énergie par unité de volume (en J/L). Il est possible de calculer cette dose de manière théorique (D_{th} en J/L) en se basant sur la puissance UV-C fournie par la lampe (P_{lamp} en W) et en la rapportant au débit de liquide (Q en L/s) irradié par la lampe. Ce résultat n'est valide que pour une distribution parfaitement homogène du rayonnement UV-C dans le liquide. Un coefficient de transmittance (T en %) correspondant au facteur de transmission des différents matériaux présents entre la lampe et le liquide (gaines quartz, tubes ...) ainsi qu'aux pertes dues à la réflexion par ces matériaux, il est possible d'écrire :

$$D_{th} = \frac{P_{lamp}}{Q} * T \tag{Équation 5}$$

De manière expérimentale, il est possible de mesurer ces grandeurs avec un actinomètre, appelé aussi radiomètre. Cet appareil produit un courant proportionnel à l'irradiance par le biais d'un collecteur de lumière (Bolton James R. and Linden Karl G., 2003). Le principal défaut de cette méthode est la difficulté de mise en œuvre dans des réacteurs de géométrie complexe où le flux lumineux doit être mesuré dans des espaces confinés et où il est variable suivant le point d'acquisition. Il est donc préférable de mesurer directement la dose UV-C reçue du point de vue du liquide luimême. Les actinomètres chimiques liquides permettent cette mesure et sont basés sur le lien de proportionnalité entre le nombre de photon absorbés par un ou des composés chimiques et le taux d'avancement d'une réaction chimique associée. L'utilisation de l'iodure de potassium comme actinomètre chimique est décrite par Rahn, (1997). La solution actinométrique est optiquement opaque à la lumière au-dessous de 290 nm et est optiquement transparente à des longueurs d'ondes supérieures à 330 nm. Par conséquent, la solution absorbe toutes les longueurs d'onde germicides mais peu ou pas de la lumière ambiante normalement présente dans le laboratoire. La formation de triiodure, suivie par spectrophotométrie à 352 nm, est linéaire avec le nombre de photons absorbés par la solution. La réaction est (Équation 6) :

$$8KI + KIO_3 + 3H_2O + hv \rightarrow 3I_3^- + 6HO^- + 9K^+$$
 (Équation 6)

Il est alors possible d'écrire que la dose mesurée $(D_m \text{ en } J/L)$ est :

$$D_m = \frac{A_{352 nm} * P_{254 nm}}{pl * \phi * \varepsilon_{352 nm}}$$
(Équation 7)

Avec :

- A_{352 nm} l'absorbance mesurée par spectrophotométrie UV
- $P_{254 nm}$ le nombre de joules par Einsteins des photos à 254 nm (4,716 x 10⁵ J.einst⁻¹)
- ε_{352 nm} le coefficient d'absorption molaire du triiodure (27600 L.mol⁻¹.cm⁻¹)
- pl la longueur du trajet optique (1 cm)
- φ le rendement quantique (Équation 8)

$$\varphi = 0.73 * [1 + 0.23(c_i - 0.577)] * [1 + 0.02(T_i - 20.7)]$$
 (Équation 8)

Avec :

- c_i la concentration initiale en iodure, mesurée par spectrophotométrie à 300 nm $(A_{300 \text{ nm}} \ge 1.061^{-1})$
- Ti la température en °C

D'autres actinomètres liquides existent et sont adaptés à la dosimétrie du rayonnement UV-C. Une liste exhaustive est fournie par J. Kuhn et al., (1989).

4.8 Conclusion

La principale limitation à l'utilisation du rayonnement UV-C comme moyen de stabilisation microbiologique des liquides alimentaires est la faible pénétration du rayonnement dans les liquides absorbants. Aujourd'hui, la littérature montre clairement des progrès concernant le traitement de ces liquides à faible transmittance UV grâce à l'amélioration des matériaux et des paramètres hydrodynamiques des réacteurs. Cependant, le rayonnement UV-C appliqué à hautes doses (généralement plusieurs dizaines de minutes d'exposition) est capable de dégrader des composés phénoliques, de générer des sous-produits et d'oxyder des molécules. Une attention particulière sera donc portée à la minimisation des temps de traitement et à son homogénéité. En effet, un traitement non homogène d'un liquide absorbant tel que le vin pourrait donc engendrer des défauts organoleptiques suite à la surexposition de certains volumes, tout en limitant la stabilisation microbiologique suite à la sous exposition d'autres volumes.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1 Traitement par rayonnement UV-C

1.1 Réacteur annulaire

Le premier dispositif utilisé est réacteur annulaire de marque Abiotec, modèle A125, doté d'une lampe LMPHO amalgame de type GPHVA843T6L de 45 W en puissance UV-C (Figure 19).



Figure 19 : Schéma du réacteur annulaire laminaire

Il est alimenté par une pompe volumique à un débit de 1000 L/h. Le carter tubulaire en acier inoxydable mesure 100 cm de longueur pour 7,6 cm de diamètre. La distance entre la gaine quartz entourant la lampe et le carter est de 2,5 cm. Le réacteur est conçu pour fonctionner en mode batch, et l'énergie UV-C délivrée au liquide est variée en fonction du temps de recirculation dans le réacteur. Un réservoir de 20 L assure l'alimentation du réacteur.

1.2 Réacteur hélicoïdal

1.2.1 Pilote expérimental développé

Le dispositif (Figure 20) est constitué d'une pompe haute pression à membranes Axflow G03 pouvant alimenter plusieurs modules en série avec un débit compris entre 50 et 300 L/h. Un module (Figure 21) est constitué de 11 m de tube fluoro-éthylène-propylène (FEP) de diamètre 4/6 mm enroulé autour d'une gaine quartz de diamètre 28 mm, le pitch (b) est de 6 mm. Une lampe UV-C LMPHO de type Light-Sources GPHVA843T6L est insérée dans la gaine quartz. Ces lampes fournissent une puissance UV-C de 400 μ W/cm², soit 43 W. La puissance absorbée par chaque lampe est de 127 W.



Figure 20 : Schéma global du pilote de traitement UV-C



Figure 21 : Schéma du principe de fonctionnement d'un module du réacteur UV-C hélicoïdal

Jusqu'à trois modules peuvent être placés en série afin de faire varier la dose UV-C délivrée au liquide (Figure 22).



Figure 22 : Photographie du réacteur UV-C hélicoïdal disposant de trois modules agencés en série

Lors des essais, le pompage est assuré dans une cuve inertée au CO_2 et le liquide traité est renvoyé dans une seconde cuve inertée de la même manière. Pour les traitements de très faible intensité, une gaine opaque en aluminium est insérée entre la lampe et la gaine quartz de manière à réguler spécifiquement l'intensité du rayonnement. Pour les traitements de très haute intensité, le liquide est repassé dans le dispositif autant de fois que nécessaire pour atteindre la dose UV-C souhaitée. Il est alors possible de faire varier la dose de lumière UV-C délivrée au liquide d'un facteur de 1 à 80 (ordre de grandeur).

1.2.2 Evaluation de la dose UV-C délivrée

Afin de mesurer de manière expérimentale la dose délivrée une méthode actinométrique chimique décrite par Rahn, (1997) est utilisée. Le principe est basé sur la relation de proportionnalité entre la dose UV-C reçue par le liquide et l'avancement de la réaction photochimique de transformation de l'iodure de potassium en triiodure (Équation 6).

Sa solution aqueuse est composée de 0,6 M d'iodure de potassium, 0,1 M d'iodate de potassium et 0,001 M de tampon borate. La concentration exacte d'iodure de potassium initiale est déterminée par mesure de l'absorbance à 300 nm. La formation de triiodure est suivie par mesure de l'absorbance à 352 nm, avec un spectrophotomètre Perkin Elmer Lambda 25 muni de cuvettes quartz de 1 cm.



Figure 23 : Schéma de principe du montage pour la mesure expérimentale de la dose UV-C délivrée par actinométrie

La quantité de lumière UV-C nécessaire à l'avancement complet de la réaction étant très faible, 93 % de la lampe est couverte par une gaine d'aluminium pour permettre d'obtenir des valeurs sur toute la gamme de débits de travail du pilote (Figure 23). Le résultat final est obtenu par proportionnalité entre la portion d'hélice éclairée et la longueur réelle de la lampe.

1.2.3 Analyse du spectre de lampes

Afin de caractériser le spectre d'émission des lampes UV-C utilisées et confirmer que les lampes émettent effectivement à 254 nm sans autres longueurs d'ondes indésirables, deux radio-spectromètres Ocean Optics HR2000+ ont été utilisés, l'un permettant d'analyser le spectre sur une plage de 195 à 340 nm et l'autre de 290 à 390 nm. Ce spectromètre dispose d'une fréquence d'acquisition pouvant aller jusqu'à 500 Hz et d'une résolution spectrale d'approximativement 0,9 nm. Il utilise un réseau (de pas µm) pour décomposer les longueurs d'onde d'un faisceau de lumière prélevé. Le faisceau diffracté est analysé par une barrette de 2 048 capteurs CCD (Charged-Coupled Device) de 14 µm x 200 µm. Les spectres obtenus peuvent être acquis avec un temps d'intégration minimal de 1 ms. Un collecteur de lumière placé à 2 cm de la lampe UV-C dans une pièce noire a été utilisé comme moyen d'acquisition. Un traitement du bruit de fond par soustraction d'un spectre blanc a été réalisé. Les pics obtenus ont ensuite été relativisés (en %) par rapport au pic de plus grande intensité. Ces expériences ont été menées au Centre des Lasers Intenses et Applications (CELIA) de Bordeaux.

2 Traitement par chauffage ohmique

2.1 Pilote de chauffage ohmique discontinu

La cellule de chauffage ohmique est constituée d'un tube de polycarbonate fermé aux extrémités par deux électrodes en acier inoxydable (Figure 24).



Figure 24 : Schéma du pilote de chauffage ohmique discontinu

Le diamètre des électrodes est de 8,5 cm et la distance entre elles de 20 cm soit un volume utile de 1 L. Les électrodes sont alimentées par une tension de 0 à 1500 Vrms à une fréquence de 25 kHz par un transformer variable intégrant un PID (GR1520, Micropi, Italie). Le signal délivré est un signal bipolaire carré dont il est possible de faire varier le cycle afin de conserver un voltage crête à crête constant (Vpp) tout en variant le voltage efficace (Vrms). La puissance maximale fournie est de 15 kW. La température de consigne est réglée sur 72 °C et le moût est refroidi en sortie dans un bain marie glacé.

2.2 Pilote de chauffage ohmique continu

Le pilote de chauffage ohmique continu est un pilote de laboratoire produit par *C-Tech innovation* (Figure 25). Deux électrodes rectangulaires (4 x 20 cm) en titane espacées de 8 cm sont alimentées avec une tension maximale de 240 V à 50 Hz. Le système est équipé d'un microcontrôleur PID (proportionnel, intégrateur, dérivateur) qui gère la puissance fournie selon la température de consigne programmée. Un thermocouple placé en sortie de cellule permet de renseigner le PID sur la température du produit en sortie.



Figure 25 : Schéma du pilote de chauffage ohmique continu

Une pompe à vis excentrée de type Moineau $^{\text{TM}}$ assure l'alimentation en continu. Ce type de pompe est capable de transporter des liquides et des mélanges liquides / particules solides. L'alimentation est assurée par le bas du réacteur afin que la cellule ohmique se remplisse de manière homogène. Le liquide est refroidi en sortie par circulation d'eau froide dans un bain marie.



Figure 26 : Photographie du pilote de chauffage ohmique continu C-tech innovation

Le système est utilisé en mode semi-automatique, c'est-à-dire qu'une température de consigne est réglée (60 ou 72 °C) et le microcontrôleur ajuste en temps réel la tension aux bornes des électrodes afin de maintenir le produit à la température de consigne en sortie. Lors des expériences, l'objectif est de maintenir le gradient de tension à 17 V/cm quelle que soit la température de consigne programmée afin de ne pas induire de biais entre les modalités. Ainsi, pour éviter que le microcontrôleur ne modifie le gradient de tension lors du changement de température consigne, la température de sortie est conditionnée par le débit de traitement. Plus le temps de résidence est court, plus la température en sortie sera élevée. Le débit de la pompe est ajusté de manière manuelle afin d'obtenir un traitement stable en termes de gradient de tension tout en maintenant une température de sortie très proche de la valeur consigne.

2.3 Chauffage conventionnel

Les expériences de chauffage conventionnel (i.e. effet thermique uniquement) des moûts sont réalisées par chauffage en bain-marie. Pour cela, le moût préalablement foulé est inséré dans un contenant de 250 mL en plastique alimentaire et plongé dans un bain thermo-régulé à 95°C. Un thermocouple est placé au centre du contenant afin de suivre l'évolution de la température.

2.4 Refroidissement

Le vin et le moût chauffés sont envoyés en sortie dans une cuve en inox ou en verre, refroidie par circulation d'eau froide (10°C). La vitesse de refroidissement n'est pas mesurée.

3 Matière première

Dans ces travaux, les expériences sont menées à de multiples étapes de la vinification, ce qui implique une matière première variée.

Liste des vins finis utilisés :

- Sauvignon blanc AOP Bordeaux blanc
- Merlot rouge AOP Bordeaux rouge
- Cabernet sauvignon rosé AOP Bordeaux rosé
- Gros manseng blanc liquoreux IGP Côtes de Gascogne

Au besoin les vins sont désulfités par ajout de quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène puis le SO₂ libre est contrôlé après 12 h. L'opération est répétée si besoin jusqu'à obtention d'une concentration en SO₂ libre inférieure à 5 mg/L.

Liste des moûts blancs liquoreux en fin de fermentation alcoolique:

- Sémillon blanc liquoreux AOC Monbzaillac, Château La Brie
- Gros manseng blanc liquoreux AOC Pacherenc-du-vic-Bilh, Cave de Crouseilles

Liste des raisins utilisés pour la vinification en rouge :

- Mélange Aglianico et Barbera, région de Salerne, Italie
- Cabernet sauvignon, Château Dillon, Blanquefort, France

4 Etude microbiologique

4.1 Culture des microorganismes en milieu liquide

Les souches de *Brettanomyces bruxellensis* CBS 2499 et AWRI 1608 proviennent de la collection de notre laboratoire. La souche de *Saccharomyces cerevisiae* FX10 provient de levures sèches actives produites par la société Laffort. Ces trois souches de levures sont cultivées en milieu liquide YPD (Yeast Peptone Dextrose) dont la composition est la suivante :

- Extrait de levures à 10 g/L (BD bacto yeast extract)
- Peptone à 10 g/L (BD bacto peptone)
- D-glucose à 20 g/L
- Eau distillée

La souche de bactérie acétique *Acetobacter aceti* 8ba01 provient de la collection du laboratoire. La souche est cultivée sur milieu « jus de raisin » liquide dont la composition est la suivante :

- 250 mL/L de jus de raisin rouge
- 1 mL/L de tween 80 (Acros Organics)
- 5 g/L d'extrait de levures (BD bacto yeast extract)
- Eau distillée

Les milieux sont autoclavés à 120 °C pendant 15 minutes. Sous une hotte à flux laminaire, les milieux sont inoculés puis incubés dans une étuve à 28 °C sous agitation légère, durant 4 jours pour *S.cerevisiae* et jusqu'à 10 jours pour *B.bruxellensis* et *A.aceti*.

En inoculation directe la biomasse est récupérée par centrifugation de la culture dans son milieu de croissance (1000 rpm pendant 1 min). Le jour de l'expérience, le milieu surnageant est éliminé et les microorganismes sont re-suspendus dans le vin préalablement désulfité par ajout de quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène. Les dénombrements sont réalisés immédiatement après l'expérience.

Afin de vérifier l'impact des traitements UV-C sur la survie des microorganismes dans le temps, une solution modèle ayant une absorbance comparable à celle d'un vin blanc ($\alpha = 5 \text{ cm}^{-1}$) est préparée. Elle est composée de 0,2 g/L de tanins Galalcool, 3,5 g/L d'acide tartrique, 20 g/L de glucose, 0,2 g/L de Thiazote. Le pH est ajusté à 3,5. Les souches de levures et bactérie sont inoculées dans cette solution et la croissance est suivie par mesure de l'absorbance à 600 nm. Les traitements UV-C sont réalisés lorsque les microorganismes sont en phase de croissance, puis des prélèvements (50 mL en flacon stérile) sont stockés à température contrôlée de 4 et 20 °C. Les dénombrements au cours du temps sont réalisés à partir de ces prélèvements.

4.2 Dénombrement des microorganismes sur milieux solides

4.2.1 Préparation des milieux

Les levures sont dénombrées sur milieu YPD auquel 20 g/L d'agar bactériologique ont été préalablement ajouté. Afin de prévenir les contaminations en bactéries et moisissures, 0,15 mg/mL de chloramphénicol (Acros Organic) et 0,15 mg/mL de biphényl (Acros Organic) sont ajoutés au milieu autoclavé et refroidi à 45 °C.

Les bactéries sont cultivées sur milieu jus de raisin auquel 20 g/L d'agar bactériologique ont été préalablement ajouté. Afin de prévenir les contaminations en levures et moisissures 0,1 mg/mL de pimaricine sont ajoutés au milieu autoclavé et refroidi à 45 °C.

Immédiatement après, les milieux sont utilisés pour remplir des boites de pétri (diamètre 90 mm) à raison de 15 à 20 mL par boite, sous une hotte à flux laminaire. Les boites sont ensuite emballées face vers le bas et conservées à 4 °C jusqu'à utilisation dans une limite de 3 semaines.

4.2.2 Protocole de comptage

Lors des traitements, 25 mL de vin sont prélevés dans des contenants stériles. Sous hotte à flux laminaire, une série de dilutions par dix est réalisée à partir de ces prélèvements. 100 μ L de chaque dilution est étalé sur une boite de milieu solide correspondant à l'aide de billes de verre stériles. Ainsi, les levures et bactéries sont incubées à 28 °C pendant 5 jours pour *S.cerevisiae* et 10 jours pour *B.bruxellensis* et *A.Aceti*. La concentration est calculée en « unités formant colonies par mL» (UFC/mL) suivant la formule :

$$N(UFC/mL) = \frac{\sum colonies}{Fd * Vd}$$
(Équation 9)

Où Fd est le facteur de dilution et Vd le volume de dilution (0.1 mL). Le résultat final est exprimé en échelle logarithmique pour plus de lisibilité : log N (UFC/mL).

5 Analyses des moûts et des vins

5.1 Composés phénoliques

5.1.1 Composés phénoliques totaux

Deux méthodes de dosage des composés phénoliques totaux sont utilisées. L'indice de Folin Ciocalteu (IFC) et l'indice de polyphénols totaux (IPT).

L'ensemble des composés phénoliques du vin est oxydé par le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques. Dans une fiole jaugée de 100 mL sont introduits : 5 mL de réactif de Folin Ciocalteu, 1 mL de vin dilué 10 fois, 20 mL de solution de Na₂CO₃ anhydre à 20 %. La solution est complétée avec de l'eau distillée, homogénéisée et laissée au repos 30 minutes. La densité optique mesurée au spectrophotomètre à 760 nm sous 1 cm de parcours optique permet alors de déduire l'IFC suivant la relation IFC = DO x dilution x 20.

La mesure de la densité optique à 280 nm d'un vin dilué 100 fois permet de mesurer directement son IPT. Les mesures d'IFC et d'IPT donnent des valeurs comparables.

5.1.2 Dosage des anthocyanes

Le dosage des anthocyanes du vin s'effectue en utilisant deux propriétés dues à leurs structures : la modification de leurs couleurs en fonction du pH ; la transformation en dérivés incolores sous l'action de certains réactifs comme les ions bisulfite. Ainsi, la variation de l'absorbance lue à 520 nm après addition d'ions bisulfite en excès, est proportionnelle à la teneur en anthocyanes. Une solution contenant 1 mL de vin, 1 mL d'éthanol à 0.1 % HCl et 20 mL d'HCl à 2 % est préparée. Dans deux tubes à essais, sont ajoutés : 10 mL de cette solution ainsi que 4 mL d'eau distillée dans le premier tube ou 4 mL de solution de bisulfite de sodium à 15 % dans le second. La mesure de la densité optique de chaque tube est faite à 520 nm sous 1 cm de parcours optique. La concentration est exprimée en mg/L suivant la formule (Ribéreau-Gayon and Stonestreet, 1965) : C (mg/L) = 875 x Δd .

La méthode est basée sur la transformation des proanthocyanidines en anthocyanidines par chauffage en milieu acide. Dans deux tubes à essais, sont ajoutés : 4 mL de vin dilué 50 fois, 2 mL d'eau distillée et 6 mL d'HCl concentré. Un tube est placé dans la glace et le second est porté à 100°C au bain marie pendant 30 min. Apres refroidissement 1 mL d'éthanol est ajouté dans chaque tube. La densité optique est mesurée pour chaque tube à 550 nm sous 1 cm de parcours optique. La concentration en g/L est donnée suivant la formule (Ribéreau-Gayon and Stonestreet, 1966): C (g/L) = 19.33 x Δd .

5.2 Analyses chromatographiques

5.2.1 Dosage des thiols volatils

La méthode utilisée pour extraire sélectivement les thiols volatils en petit volume est celle décrite par Tominaga and Dubourdieu, (2006). 7,5 mL d'une solution d'acide p-hydroxymercuribenzoate de sodium (p-HMB) (2 mM), préparée dans un tampon Trizma® base [2-amino-2-(hydroxyméthyl)-1,3-propanediol] sont ajoutés à un volume de 50 mL de vin préalablement centrifugé et contenant 1,2 nmol d'étalons internes [1-méthoxy-3-méthyl-3-butanethiol (1,3,3MMB)] et [6-sulfanylhexanol] (0,1 M ; pH 10). Le pH est ajusté à pH 7 avec une solution de soude (NaOH, 10N) et la complexation des thiols volatils avec le p-HMB se réalise sous agitation magnétique à 300 rpm pendant 10 minutes. Les adduits p-HMB/thiols sont fixés sur résine échangeuse d'anions (Dowex 1X2 ; 50- 100 mesh ; 1,5 x 3 cm, Fisher Scientific) réactivée préalablement à l'acide chlorhydrique (0,1M). La colonne est lavée par 50 mL d'une solution tampon d'acétate de sodium (0,1 M ; pH7). Les thiols volatils sont libérés par percolation de 60 mL d'une solution de cystéine (pH 7 ; 35 mM).

500 μL d'acétate d'éthyle (CHROMASOLV®, Sigma-Aldrich) sont additionnés dans l'éluat ainsi récupéré. Puis celui-ci est extrait par du dichlorométhane (4 puis 3 mL) pendant 10 minutes à 900 rpm. Les deux phases organiques sont rassemblées et séchées au sulfate de sodium anhydre, puis concentrées sous flux d'azote jusqu'à 50 μL.

L'analyse des échantillons est réalisée par un chromatographe en phase gazeuse (6890 Agilent technologie), équipé d'une colonne capillaire DB-WAXETR (60m x 0,25mm, 0,25 μ m) (Agilent). La pression du gaz vecteur (Hélium) est de 20 psi et le programme est le suivant : départ à 45°C, puis 15°C par min jusqu'à 75°C, puis 6°C/min jusqu'à

160°C, puis 9°C/min jusqu'à 205°C, puis 40°C/min jusqu'à 260°C. L'injection se fait en mode splitless (temps de fermeture de 30 sec, température de l'injecteur : 230°C). La détection s'effectue en mode SIM, sur un spectromètre de masse quadripolaire (MSD 5975, Agilent technologies) travaillant en impact électronique (énergie d'ionisation de 70eV, source à 250°C).

5.2.2 Dosage des esters

La préparation des échantillons en vue du dosage de 32 esters volatils est réalisée par microextraction sur phase solide (SPME), comme décrit par Antalick et al., (2010). Dans un flacon vial de 20 mL sont introduits 10 mL de vin, puis 3,5 g de chlorure de sodium. L'échantillon est placé sur le passeur automatique qui l'agite pendant 2 min à 500 rpm à 40 °C avant d'insérer la fibre dans l'espace de tête pendant 30 min à 40 °C toujours sous agitation. La fibre (Supelco, Bellefonte, PA, USA) est couverte par une phase stationnaire de 100 µm en polydimethylsiloxane (PDMS-100).

La chromatographie en phase gazeuse est réalisée sur un HP 5890 GC couplé à un spectromètre de masse quadripolaire HP 5972. La fibre est ensuite transférée dans l'injecteur pour désorption à 250 °C pendant 15 min. Une colonne capillaire BP21 (50 m x 0.32 mm, 0.25 µm d'épaisseur, SGE, Courtaboeuf, France) est utilisée et le gaz porteur est de l'hélium N55 sous une pression de 8 psi. La température du four est programmée à 40 °C pendant 5 min puis augmentée à 220 °C à la vitesse de 3 °C/min, puis maintenue à cette température pendant 30 min. Le spectromètre opère en électron ionisation à 70 eV en mode selected-ion-monitoring (SIM).

Lors de la présentation des résultats, les dosages des esters sont présentés individuellement ou par groupes.

Ainsi le groupe des esters d'éthyle comprend : propanoate d'éthyle, butyrate d'éthyle, hexanoate d'éthyle, octanoate d'éthyle, décanoate d'éthyle, dodécanoate d'éthyle.

Le groupe des esters d'alcool supérieur comprend : acétate de propyle, acétate d'isobutyle, acétate d'isobutyle, acétate d'hexyle, acétate d'octyle

Le groupe des esters d'acide aliphatiques comprend : isobutyrate d'éthyle, 2méthylbutyrate d'éthyle, isovalérate d'éthyle

Le groupe des esters aromatiques comprend : phénylacétate d'éthyle, phényléthyle d'acétate, dihydrocinnamate d'éthyle, cinnamate d'éthyle

5.3 Analyses physico-chimiques générales

Les analyses chimiques classiques des vins sont réalisés grâce à un appareil OenoFoss qui est une unité d'analyse du vin basée sur la spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier (IRTF). Ainsi il est possible d'analyser : sucre, pH, acidité totale, glucose/fructose, acide malique, éthanol, acidité volatile, couleur, acide tartrique, acide gluconique, azote assimilable par les levures, densité.

En complément, certaines analyses sont réalisées grâce à un appareillage dédié. La densité lors des fermentations est suivie grâce à un densimètre électronique Anton Paar modèle DMA 35 EX.

Le SO_2 libre et total est dosé par titrage polaro-ampérométrique via un titrateur automatique Oeno-Bio modèle Oeno 20.

Le pH est mesuré grâce à un pH-mètre de marque Weilheim, modèle 538.

Les dosages d'acide malique lors de la fermentation malolactique sont effectués par réaction enzymatique dans un spectrophotomètre Randox RX Monza.

5.4 Analyses spectrophotométriques

Les analyses spectrophotométriques sont réalisées sur un spectrophotomètre UV-visible de marque Perkin Elmer, modèle Lambda 25. Des cuves quartz de 10 mm de trajet optique sont utilisées.

Ainsi la teinte est définie comme le rapport des densités optiques mesurées à 420 nm et 520 nm. La teinte représente la proportion de couleur jaune par rapport à la couleur rouge.

L'intensité colorante modifiée (ICM) est la somme des densités optiques mesurées à 420, 520 et 620 nm. Cette mesure est une indication de la quantité des pigments colorants (anthocyanes ou flavones) contenus dans un vin traversé par la lumière et de la densité de celui-ci. Cela permet de déterminer la couleur d'un vin.

5.5 Analyse sensorielle

Afin de déceler une différence du point de vue sensoriel entre deux modalités, des tests triangulaires sont réalisés. Les tests se déroulent suivant les conditions décrites par Martin and de Revel, (1999) suivant la norme NF EN ISO 8589:2007. Trois verres noirs ISO sont présentés aux panélistes (entre 20 et 25), majoritairement techniciens, ingénieurs et chercheurs en œnologie issus l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin et de l'Institut Français de la Vigne et du vin. Chaque verre est codé par un nombre à 3 chiffres de manière anonyme. Sur les trois verres, deux contiennent le même vin et un troisième continent le vin différent. Il y a donc 6 combinaisons possibles qui sont proposées aléatoirement à chaque nouveau panéliste. Ces derniers indiquent alors le vin qu'ils pensent différent des deux autres (réponse obligatoire).

Des dégustations descriptives sont réalisées dans les mêmes conditions. Les dégustateurs sont priés de noter les différents vins sur une échelle de 0 à 10 en fonction de descripteurs préalablement choisis en fonction du vin et de la différence recherchée.

5.6 Analyse statistique

Les résultats des tests triangulaires sont analysés suivant la loi binomiale avec un seuil de risque de 5 %. Les résultats des analyses descriptives sont analysés par un test statistique ANOVA (seuil de 5 %) avec le logiciel XLSTAT (Addinsoft).

De manière générale, les expériences sont triplées et des analyses ANOVA (seuil de 5 %) sont réalisées de la même manière pour mettre en évidence la significativité des résultats obtenus. Un test de Tukey (seuil de 5 %) est utilisé pour discriminer les groupes différents lorsque l'ANOVA était significative.

Chapitre 3 : Stabilisation microbiologique et extraction par chauffage ohmique

Dans le souci de réduction des teneurs en SO_2 , développer un procédé innovant de stabilisation permettant d'inhiber les levures indigènes dans le raisin foulé serait un atout pour les vinificateurs. Les doses généralement apportées au cours de cette étape sont comprises entre 5 et 10 g/hL en fonction de l'état sanitaire de la vendange. De plus, des procédés sont aussi utilisés à ce moment pour favoriser l'extraction des polyphénols de la pellicule. Dans ce chapitre, les performances de stabilisation microbiologique du chauffage ohmique, ainsi que ses capacités d'extraction de contenus phénoliques et son impact sur les propriétés chimiques et sensorielles des vins finis issus de la vinification des moûts traités sont analysés. Par la suite, la pasteurisation des vins finis par chauffage ohmique sera aussi expérimentée.

1 Chauffage ohmique d'un moût rouge en conditions de laboratoire

Le chauffage ohmique est ici étudié dans une optique d'extraction de composés d'intérêt, notamment phénoliques. En effet, pendant la vinification traditionnelle, environ 40 % des anthocyanes et 20 % des tanins des pellicules de raisin sont transférés au vin (Boulton, 2003). Cette extraction limitée est principalement due à la perméabilité insuffisante des parois cellulaires et des membranes cytoplasmiques (Pinelo et al., 2006). Le procédé est aussi étudié dans une optique de stabilisation microbiologique des moûts avant inoculation par des levures sélectionnées pour leurs qualités lors de la fermentation alcoolique (élimination des levures indigènes). Cette expérience est une étape préliminaire, réalisée sur des volumes réduits en traitement discontinu afin de conduire par la suite des micro-vinifications (3 kg). De plus, une référence de chauffage conventionnel (sans présence de champs électriques) est ajoutée à l'étude afin d'évaluer les effets éventuels de l'électroporation. L'impact du traitement sur les propriétés physico-chimiques et sensorielles des vins finis issus de la vinification de ces moûts est ensuite discuté.

1.1 Traitement du moût, étude de l'extraction

Des raisins de cépages Aglianico et Barbera (rapport 1/1 massique) sont éraflés puis foulés manuellement. Immédiatement après foulage, le moût est chauffé par chauffage ohmique ou chauffage conventionnel (bain marie) à 72 °C pendant 15 s. Deux traitements sont réalisés en chauffage ohmique, 72 °C en 60 s (OH2) ou 90 s (OH3). La cellule ayant une contenance de 1 kg, il est nécessaire de procéder en trois étapes afin d'obtenir les 3 kg de moût stabilisé nécessaires à la micro vinification d'une modalité. Chaque modalité est triplée soit un total de 18 batch traités.

La température et les temps de consignes sont réglés via le logiciel de pilotage du microcontrôleur. Ce dernier, en relation avec le thermocouple, se charge de réguler la tension aux bornes des électrodes afin d'obtenir le profil thermique souhaité. Le logiciel de pilotage collecte en même temps toutes les données de fonctionnement (tension, intensité, température). Le microcontrôleur est configuré pour délivrer un gradient de tension maximal de 55 V/cm à une fréquence de 25 kHz. Cette fréquence est choisie afin de limiter les effets de corrosion des électrodes et s'affranchir des réactions électrochimiques, notamment de l'électrolyse de l'eau.

Le chauffage conventionnel (CH) est simulé par bain marie à 95°C en mode batch afin d'obtenir le même profil thermique que la modalité OH3, à savoir : 72 °C en 90s. Les profils de température et de gradient de voltage sont présentés Figure 27.



Figure 27 : Evolution des températures et des gradients de voltage en fonction du temps lors de la stabilisation microbiologique du moût par chauffage ohmique et chauffage conventionnel

Il apparait que le profil thermique associé au chauffage conventionnel n'est pas comparable à celui de la modalité OH3 pendant des 60 premières secondes. Pour les modalités chauffage ohmique, la montée en température est plus lente que pour la modalité chauffage conventionnel. Ceci est imputable au dispositif expérimental et n'a pas pu être modifié. Cependant, le temps de chauffe pour atteindre la consigne de 72 °C est comparable.

1.1.1 Conductivité électrique

La connaissance du comportement de la conductivité en fonction de la température est essentielle dans l'optique d'une industrialisation du procédé afin de prévoir avec exactitude les paramètres de dimensionnement de l'installation tels que la taille et la distance entre les électrodes ainsi que la puissance du générateur de tension. Pour ce faire, la conductivité électrique est ici calculée suivant les données enregistrées pendant les expériences (I et U) et la variation de conductivité en fonction de la température est représentée graphiquement en Figure 28.



Figure 28 : Evolution de la conductivité d'un moût de raisin (aglianico / barbera à 1/1 massique) en fonction de la température

Elle varie de 0,12 S/m à 25°C à 0,35 S/m à $69 ^{\circ}\text{C}$. Ces valeurs sont totalement dans la gamme attendue pour le bon fonctionnement de ce procédé, à savoir de 0,01 à 10 S/m. Deux modèles peuvent être utilisés pour décrire cette variation : un premier modèle linéaire (Équation 10) et un second non linéaire suivant une relation polynomiale d'ordre 2 (Équation 11). Les coefficients de ces deux relations ainsi que le coefficient de détermination \mathbb{R}^2 sont calculés et donnés dans le Tableau 5.

$$\sigma = B_1 T + C_1 \qquad (Équation 10)$$

$$\sigma = A_2 T^2 + B_2 T + C_2 \qquad (Équation 11)$$

Tableau 5 : Coefficients des relations linéaire et non linéaire entre la conductivité et la température pour le chauffage ohmique du moût

Modèle	\mathbf{A}	В	\mathbf{C}	\mathbb{R}^2
Linéaire	-	$5,\!40E-03$	-2,82E-02	0,995
Non linéaire	3,00E-05	2,20E-03	3,80E-02	0,999

Les deux modèles présentent des coefficients de détermination élevés, cependant le modèle non linéaire semble plus adapté de par son \mathbb{R}^2 plus élevé. Afin de tirer des conclusions définitives, il serait nécessaire de répéter cette démarche sur de multiples cépages et de multiples terroirs. Chaque combinaison de cépage et de terroirs produit en effet un raisin pouvant contenir plus ou moins de composés susceptibles de modifier le comportement et les valeurs de conductivité étant donné les différents ratios pulpe / pellicule ou les teneurs en composés ioniques. Ainsi, les modèles ainsi décrits sont d'importance pour le dimensionnement des futures unités de traitement des moûts par chauffage ohmique.

1.1.1 Rendement énergétique

Afin d'évaluer les performances du système, un bilan énergétique est réalisé. L'énergie fournie au système Q_{OH} (Équation 12) est l'intégrale de la puissance sur le temps total de chauffe. L'énergie théorique pour chauffer une masse m de moût est Q_{th} (Équation 13) et dépend de sa capacité calorifique Cp. Pour un moût contenant 200 g/l de sucre elle est estimée à 3,6 kJ.kg⁻¹.K⁻¹ (Colombie et al., 2007). L'énergie fournie au système est donc la somme de l'énergie théorique et des énergies dissipées. Le ratio r (Équation 14) de l'énergie fournie sur l'énergie théorique donne alors le rendement énergétique du procédé. Une valeur de 1 signifie qu'il n'y a pas d'énergie perdue et plus la valeur est proche de zéro plus le rendement est faible.

$$Q_{OH} = \int_{0}^{t} U(t) * I(t) dt \qquad (Équation 12)$$

$$Q_{th} = m. Cp. \Delta T \qquad (Équation \ 13)$$

$$r = Q_{th}/Q_{OH} \qquad (Équation 14)$$

Le Tableau 6 liste les performances énergétiques calculées pour les deux modalités OH2 et OH3 par rapport à l'énergie théorique requise.

Tableau 6 : bilan énergétique du chauffage ohmique en mode batch sur moût de raisin rouge

	kJ/kg	$\rm kWh/kg$	r
$\mathbf{Q}_{ ext{th}}$	192	0,053	1
$\mathbf{Q}_{\mathrm{OH2}}$	228	0,063	$0,\!84$
$\mathbf{Q}_{\mathrm{OH3}}$	241	0,067	0,80

Le rendement observé pour la modalité OH2 est supérieur de 5 % par rapport à la modalité OH3. Cet écart peut provenir des énergies dissipées lors d'une chauffe plus longue. Sur le dispositif utilisé dans cette expérience, les parois du réacteur n'étant pas isolées, plus le temps de chauffe est grand, plus les pertes thermiques sont importantes. Toutefois les rendements observés ici sont conformes à ceux observés dans la littérature (Darvishi et al., 2013). En effet, ces auteurs ont observés des rendements de 0,76 à 55V/cm jusqu'à 0,94 à 30 V/cm lors du chauffage ohmique d'un jus de grenade.

1.1.2 Stabilisation microbiologique

Dans un premier temps, les performances d'inactivation microbiologique du procédé sont étudiées. Des dénombrements en levures et moisissures sont réalisés immédiatement après traitements. Les résultats sont présentés en Figure 29.



Figure 29 : Stabilisation microbiologique (levures et moisissures totales) lors des traitements en chauffage ohmique et conventionnels

L'inactivation est quasi-totale pour les modalités de moûts traités en chauffage ohmique (< 10 UFC/mL soit – 6,4 log UFC/mL) contrairement à la modalité chauffage conventionnel qui ne présente qu'une faible réduction microbiologique (- 1,8 log UFC/mL). De plus, l'écart type associé aux dénombrements de la modalité chauffage conventionnel est nettement plus élevé que celui des autres modalités. Ces informations permettent alors de penser que le chauffage conventionnel réalisé lors de l'expérience n'est pas homogène. La chaleur étant transférée depuis les parois du contenant, il est très probable que le transfert de chaleur soit irrégulier, notamment dans les parties solides du moût.

Un effet d'électroporation aurait pu être la source d'une différence entre les performances d'inactivations des deux procédés mais l'effet thermique étant prépondérant, aucun des microorganismes en présence n'aurait pu survivre lors d'un traitement homogène à 72 °C. Afin de mettre en évidence les effets de l'électroporation sur les capacités d'inactivation du chauffage ohmique, des expériences supplémentaires de chauffe homogène (et à des températures plus faibles) d'un liquide inoculé seraient souhaitables.

La stabilisation microbiologique obtenue par chauffage ohmique est supérieure à celle obtenue par chauffage conventionnel pour le même temps de chauffe dans les conditions de l'expérience. L'homogénéité de chauffe et l'absence d'effets de parois sont des aspects du chauffage ohmique qui rendent ce procédé particulièrement intéressant.

1.2 Vinification des moûts

Les moûts précédemment traités en chauffage ohmique, conventionnel et non traités sont ensuite vinifiés afin d'observer d'éventuelles modifications physico-chimiques ou sensorielles dans les vins issus de ces traitements.

Ainsi, les moûts de la modalité contrôle sont sulfités à 3 g/hL tandis que ceux traités par chauffage ohmique et conventionnels ne sont pas sulfités. Après 24 h des levures sèches actives *S.cerevisiae* FX10 sont réhydratées et inoculées à raison de 20 g/hL. Afin de suivre l'évolution de la fermentation alcoolique, la masse volumique est suivie au cours du temps et reportée dans la Figure 30. Aucune différence dans la cinétique n'est observée entre les modalités et les fermentations sont achevées entre le 13 et le 14^{eme} jour.



Figure 30 : Cinétiques des masses volumiques lors de la fermentation alcoolique

Un suivi cinétique est réalisé sur l'indice polyphénols totaux et reporté graphiquement en Figure 31. Les moûts traités en chauffage ohmique montrent clairement une concentration supérieure tout au long de la fermentation par rapport au moût non traité. Cet écart tend à diminuer au cours du temps avec + 675 mg/L au premier jour contre + 470 mg/L au dernier. Le moût traité en chauffage conventionnel montre un faible écart avec le contrôle au début de la fermentation (+ 188 mg/L) qui tend à s'accroire jusqu'à atteindre les mêmes valeurs que celles des modalités de chauffage ohmique (+ 470 mg/L) en fin de fermentation.



Figure 31 : Cinétiques de l'IPT lors de la fermentation alcoolique

Cette observation peut être expliquée par l'homogénéité du traitement et l'effet d'électroporation lors du chauffage ohmique qui entraine une libération immédiate d'une grande partie du contenu phénolique par rupture des membranes cellulaires. En chauffage conventionnel, la chauffe est moins homogène, certaines parties du moût seraient donc plus faiblement chauffées entrainant un endommagement partiel des membranes cellulaires. Au cours de la fermentation, les membranes endommagées libèrent alors plus progressivement leur contenu phénolique jusqu'à atteindre des valeurs comparables à celles des moûts traités en chauffage ohmique (+ 470 mg/L par rapport au contrôle).

Après la fin de la fermentation alcoolique, les vins sont soutirés et faiblement pressés (0,5 bar). Une fermentation malolactique est réalisée par inoculation de bactéries lactiques *O.oeni* SB3. Cette fermentation est considérée comme achevée lorsque la concentration en acide malique est inférieure à 0,2 g/L. Des analyses chimiques et sensorielles sont ensuite menées afin de conclure sur l'impact du traitement.

1.3 Analyses des vins finis

Les vins finis issus des moûts traités par chauffage ohmique, conventionnel, et non traités sont analysés d'un point de vue physico-chimique et sensoriel suite à une phase d'élevage de 5 mois. Dans un premier temps, les concentrations en anthocyanes, tanins et polyphénols totaux sont déterminées afin de vérifier leur stabilité dans le temps. Les résultats (Tableau 7) montrent une augmentation significative de la concentration en polyphénols totaux sur les deux modalités de chauffage ohmique par rapport au contrôle (+ 400 mg/L H_2SO_4) tandis que le chauffage conventionnel présente une augmentation plus faible mais toute de même notable (+ 280 mg/L H_2SO_4).

Tableau 7 : Dosage des composés phénoliques sur vins finis issus des moûts traités par chauffage ohmique

	$\begin{array}{l} \textbf{Tanins totaux} \\ (\text{mg/L }\text{H}_2\text{SO}_4) \end{array}$	Anthocyanes totaux (mg/L)	Index de Folin Ciocalteu
Contrôle	3421 ± 164 $^{\rm b}$	903 \pm 81 $^{\rm a}$	2191 \pm 11 $^{\rm b}$
СН	4591 \pm 342 $^{\rm a}$	1087 ± 41 $^{\rm a}$	2470 ± 0 $^{\rm ab}$
OH2	4349 ± 369 $^{\rm a}$	1023 ± 99 $^{\rm a}$	2574 ± 179 $^{\rm a}$
OH3	4233 ± 102 ab	1016 ± 50 $^{\mathrm{a}}$	2606 ± 68 $^{\rm a}$

Bien que non significativement différentes, les concentrations en anthocyanes totaux des modalités de chauffage ohmique et conventionnel sont en moyenne 15 % supérieures au contrôle. Les tanins totaux des modalités chauffées montrent une augmentation de 20 % par rapport au contrôle. Le contenu phénolique est donc supérieur dans les vins chauffés mais aucune différence significative n'est observable entre les deux procédés de chauffe. Les différences de couleur avec la modalité de contrôle sont analysées et reportées dans le Tableau 8. Les résultats montrent une tendance au brunissement (ΣL^* , Σa^* , Σb^*) légèrement plus prononcée pour les modalités de chauffage ohmique que pour la modalité chauffage conventionnel.

Tableau 8 : Analyses colorimétriques des vins finis issus des moûts traités par chauffage ohmique

Modalité	ΔL^*	∆a*	Δb^*	∆E*ab	△E2000
OH2	-1.20 ± 0.18	$-3,19 \pm 0.40$	$-2,02 \pm 0.28$	$5{,}09\pm0.52$	$1,\!68 \pm 0.23$
OH3	-1.45 ± 0.19	$-3,75 \pm 0.52$	$-2,42 \pm 0.33$	$4{,}36\pm0.65$	$2{,}00\pm0.28$
СН	-0.46 ± 0.00	$-1,28 \pm 0.00$	-0.73 ± 0.00	$3,\!97\ {\pm}0.00$	$0{,}63\pm0.00$

Toutefois les trois modalités présentent une différence globale de couleur négligeable avec la modalité de contrôle. En effet, cette différence globale, exprimée par $\Delta E2000$, est considérée comme inférieure au seuil de perception humain lorsque sa valeur est inférieure à 2. Un dosage des concentrations de 9 esters communément retrouvés dans le vin rouge a été effectué (Tableau 9).

 $Tableau \ 9 : Do sage \ des \ esters \ sur \ vins \ finis \ suite \ au \ traitement \ par \ chauffage \ ohmique \ ou \ conventionnel$

	Contrôle	CH	OH2	OH3
	(ug/L)	(ug/L)	(ug/L)	(ug/L)
Propanoate d'éthyle	149,0	192,2	246,4	245,1
Décanoate d'éthyle	$_{6,0}$	$10,\!6$	12,1	12,1
Dodécanoate d'éthyle	$4,\!9$	7,2	8,0	6,3
Acétate de propyle	$5,\!9$	$17,\!9$	19,4	18,7
Acétate d'isoamyle	365,2	$310,\!5$	481,1	491,7
Isobutyrate d'éthyle	88,3	86,0	140,2	151,7
Acétate de phényléthyle	41,9	41,2	65,7	62,1
Dihydrocinna-mate d'éthyle	1,4	$1,\!6$	$0,\!7$	0,9
Cinnamate d'éthyle	1,7	$1,\!9$	$0,\!7$	$0,\!8$

Les résultats montrent une augmentation significative de plusieurs d'entre eux dans les modalités de chauffage et notamment en chauffage ohmique. Ainsi les concentrations en propanoate d'éthyle, acétate d'isoamyle, isobutyrate d'éthyle et acétate de phényléthyle sont respectivement plus élevée de 30, 56, 68 et 53 % en chauffage ohmique par rapport au chauffage conventionnel. Ces esters sont produits par les levures lors de la fermentation alcoolique, deux hypothèses peuvent donc être formulées. Tout d'abord il est possible d'émettre un doute sur l'efficacité d'inactivation du SO_2 à 3 g/hL dans le contrôle, laissant alors une part de la population de levures indigène lors de la fermentation. L'inactivation n'étant pas totale non plus dans la modalité chauffage conventionnel. Malgré la compétition entre les souches indigènes et la souche inoculée, il peut donc subsister plusieurs populations, qui n'ont pas les mêmes métabolismes visà-vis de la formation d'esters, menant de fait à des concentrations en esters différentes (Lilly et al., 2000). Aucun contrôle d'implantation n'a été réalisé sur cette étude car il a été considéré que les levures inoculées se développeraient principalement dans ces conditions. Ainsi, l'hypothèse la plus probable est basée sur l'amélioration par le chauffage ohmique de la vendange de l'extraction de composés précurseurs aux esters. En effet, certains composés précurseurs tels que des acides aminés contenus dans les baies, sont à la base de la production d'alcools supérieurs et par conséquent d'esters (Quilter et al., 2003).

Par la suite, un test triangulaire est réalisé auprès de 44 dégustateurs afin de savoir s'il existe une différence perceptible entre ces vins (

Tableau 10).

Tableau 10 : Résultats des tests triangulaires de comparaison des vins finis issus des moûts traités en chauffage ohmique, conventionnel et non traités

	Réponses Réponses		Total	Simpificatif
	justes	fausses	Total	Significatii
OH2 vs contrôle	24	20	44	S
OH3 vs contrôle	24	20	44	\mathbf{S}
CH vs contrôle	19	25	44	\overline{NS}
OH2 vs CH	29	15	44	\mathbf{S}

Il apparait que les dégustateurs sont capables d'identifier avec certitude ($\alpha = 5 \%$) les vins issus de moûts traités par chauffage ohmique des vins issus de moût traités par chauffage conventionnel et non traités. Ils ne sont pas capables de percevoir de différences entre le moût non traité et celui traité par chauffage conventionnel. Les

concentrations en esters significativement supérieures dans les modalités chauffage ohmique pourraient expliquer ce résultat.

Enfin, un test descriptif est réalisé auprès de 11 dégustateurs ayant identifié avec succès des différences lors du test triangulaire (Figure 32). Ce test a pour but de caractériser les différences mises en évidence par le test triangulaire.



Figure 32 : Analyse sensorielle descriptive des vins issus des moûts traités par chauffage ohmique en réacteur batch, basée sur les réponses de 11 dégustateurs, 5 mois après la fin de la fermentation alcoolique.

L'analyse ANOVA des résultats ($\alpha = 5$ %) ne permet pas d'identifier de différences significatives entre les modalités concernant les différents descripteurs excepté sur la note globale, où les modalités OH2 et OH3 sont jugées significativement meilleures que CH et contrôle. Les tendances observées dans la réduction de l'arôme végétal et l'augmentation de l'arôme fruité pour les modalités chauffage ohmique pourraient expliquer ce résultat. Ce qui est, de plus, cohérent avec les conclusions tirées du dosage des esters, qui montrent une augmentation des arômes fruités. Cependant, des études complémentaires sur d'autres cépages doivent être menées afin de déterminer l'origine exacte de ce phénomène

2 Chauffage ohmique du moût en conditions semiindustrielles

La première étape de traitement en laboratoire a permis de confirmer l'intérêt du traitement de la vendange par chauffage ohmique. Un traitement en continu à une échelle semi-industrielle (vinifications de 30 kg) est envisagé dans cette partie. L'étude est axée sur les capacités d'extraction du procédé mais l'aspect stabilisation microbiologique est également considéré. Ainsi, un moût rouge sera traité en chauffage ohmique puis vinifié. Enfin, des analyses physico-chimiques seront menées afin de caractériser l'impact du traitement sur les vins issus de ces moûts.

2.1 Traitement du moût et étude de l'extraction

Des grappes de cabernet sauvignon, château Dillon (Haut Médoc), sont éraflés et foulés afin d'obtenir 30 kg de raisin par modalité. Deux modalités de traitement en chauffage ohmique OH1 et OH2 (60 et 72 °C respectivement) et deux modalités de contrôle sont réalisées. La température de 72 °C étant la température de flash pasteurisation traditionnellement appliquée pour les liquides alimentaires. Le gradient de voltage est de 17 V/cm sous 50 Hz. La température de 60 °C est sélectionnée en vue d'une réduction des couts énergétiques. Un premier contrôle (contrôle 1) est un moût non chauffé dont le raisin est pompé avec la pompe à vis excentrée servant à alimenter le réacteur de chauffe. Le second contrôle (contrôle 2) est un moût non chauffé dont le raisin est foulé de manière traditionnelle. En effet, une trituration supplémentaire est réalisée lors de l'opération de pompage, qui pourrait augmenter significativement l'extraction comparativement à un foulage classique. Immédiatement après les traitements, un dénombrement en levures totales est réalisé sur les moûts (Figure 33).



Figure 33 : Dénombrements en levures totales après traitement de la vendange cabernet sauvignon par chauffage ohmique à 60 et 72 °C

Les deux traitements en chauffage ohmique continu à 60 et 72 °C permettent d'inactiver la totalité des levures indigènes. Ce résultat est particulièrement intéressant et montre que le chauffage ohmique permet la stabilisation à une température plus faible d'au moins 12 °C par rapport aux traitements thermiques recommandés, ce qui pourrait réduire considérablement le cout énergétique de ces pratiques. La combinaison des effets de perméabilisation des membranes cellulaires et de l'homogénéité du traitement est probablement à l'origine de cette efficacité. Cependant, il n'a pas été possible lors de cette expérience de quantifier l'importance des effets électriques additionnels étant donné l'absence d'un témoin sans champs électriques et chauffé de manière homogène aux mêmes températures.

2.2 Vinification des moûts

Les moûts précédemment traités sont ensuite sulfités à 6 g/hL puis levurés 5 jours après les traitements à 20 g/hL de levures *S.cerevisiae* 522 Davis. Un suivi cinétique de la densité de l'IPT lors de la fermentation alcoolique est réalisé (Figure 34).

Le suivi cinétique des densités lors de la fermentation alcoolique ne fait pas apparaitre de différence significative entre les modalités en termes de vitesses de fermentation et toutes les fermentations sont achevées en 9 jours. Le suivi cinétique de l'IPT au cours de cette fermentation révèle quant à lui des informations intéressantes. En effet, le moût de la modalité « contrôle 2 » présente un IPT supérieur de 14 points en moyenne par rapport au moût de la modalité « contrôle 1 » sur la durée totale de fermentation pour terminer avec une valeur supérieure de 9 points lors du dernier relevé après 15 jours.



Figure 34 : Cinétiques de l'IPT et de la densité lors de la fermentation alcoolique des moûts contrôles et traités par chauffage ohmique à 60 et 72 °C



Figure 35 : Cinétiques de la concentration en anthocyanes lors de la fermentation alcoolique des moûts contrôles et traités par chauffage ohmique à 60 et 72 °C

La trituration supplémentaire effectuée lors du pompage des raisins foulés a donc un impact significatif sur l'extraction des composés phénoliques. Les deux modalités OH1 et OH2 présentent une cinétique d'IPT comparable au cours de la fermentation alcoolique tandis qu'elles présentent une augmentation de 11 points en moyenne par rapport à la modalité « contrôle 2 » pour terminer sur une augmentation de 6 points lors du dernier relevé après 15 jours.

En parallèle, un suivi cinétique de la concentration en anthocyanes pendant la fermentation alcoolique est aussi réalisé (Figure 35). Aucune différence significative n'est observée entre les deux modalités de contrôle, de même entre les deux modalités de chauffage. Par contre, une augmentation significative est constatée entre les modalités de contrôle et les modalités de chauffage ohmique. En effet, la concentration en anthocyanes est en moyenne supérieure de 150 mg/L dans les modalités de chauffage par rapport aux modalités de contrôle. Ces informations sont intéressantes, car outre le fait que le chauffage ohmique permette d'obtenir un vin contenant plus de polyphénols en fin de fermentation, il permet d'extraire immédiatement une grande quantité de ces polyphénols, ce qui peut être intéressant dans l'optique d'une fermentation en phase liquide.

Les vins sont ensuite inoculés en bactéries lactiques *O.oeni* vitilactic F. La fermentation malolactique dure 12 jours pour toutes les modalités. Par la suite les vins sont conservés en cuve inox avant la mise en bouteille. Des analyses d'IPT (Figure 36) sont réalisées lors des moments clés de la vinification de ces moûts.



Figure 36 : Evolution de l'IPT sur les modalités de contrôle et de chauffage ohmique lors de la vinification (fin FA), (fin FML) (avant MEB)
Ainsi, il est possible de constater que l'IPT est supérieur de 9 points en fin de fermentation malolactique dans la modalité « contrôle 1 » par rapport à la modalité « contrôle 2 » et supérieur de 7 points dans les modalités OH1 et OH2 par rapport à la modalité « contrôle 2 ». Cet écart est constant jusqu'à la mise en bouteille 120 jours après la fin de la fermentation alcoolique.

Des dosages d'anthocyanes sont aussi réalisés en parallèle (Figure 37). Aucune différence significative n'est observée dans la concentration en anthocyanes entre les deux modalités de contrôle et entre les deux modalités de chauffage. Cependant les modalités de contrôle présentent une concentration stable dans le temps et significativement plus élevée de 140 mg/L par rapport aux modalités de contrôle avant mise en bouteille.



Figure 37 : Evolution de la concentration en anthocyanes sur les modalités de contrôle et de chauffage ohmique lors de la vinification, en fin de fermentation alcoolique, fin de fermentation malolactique et avant mise en bouteille

Des analyses physico-chimiques classiques sont réalisées avant mise en bouteille est consignées dans le Tableau 11.

Tableau	11 :	Analyses	physico-chimiques	e des	vins	finis	issus	des	$mo\hat{u}ts$	$trait\acute{es}$	par	chauffage
ohmique	avan	nt mise en	bouteille									

Modalité	Contrôle 1	Contrôle 2	OH1	OH2
A.T g/L H2SO4	3,7	$3,\!7$	3,7	3,7
рН	3,36	3,33	$3,\!35$	3,34
A.V g/L H2SO4	0,18	$0,\!23$	0,19	$0,\!15$
SO2 libre mg/L	22	16	16	16
IPT	50	41	57	56
Anthocyanes (mg/L)	404	441	574	544
ICM (corrigé)	$11,\!0$	11,2	15,1	14,8
Teinte corrigée	0,483	$0,\!465$	$0,\!463$	0,463
L*	67,16	$66,\!52$	58,88	$59,\!12$
a^*	46,00	47,68	$55,\!97$	$55,\!24$
b*	-4,59	-5,54	-4,88	-4,87

L'augmentation de l'IPT et de la concentration en anthocyanes dans les modalités de chauffage entraine une augmentation logique de l'ICM (+ 35 %). Les analyses colorimétriques montrent une augmentation de la clarté (valeurs de L* 13 % plus élevées) et une augmentation de la couleur rouge (valeurs de a* 20 % plus élevées) dans les modalités de chauffage par rapport aux modalités de contrôle. Il est à noter que la trituration supplémentaire apportée par le pompage dans la modalité « contrôle 2 » par rapport à la modalité « contrôle 1 » n'impacte pas la couleur du vin. Ce qui parait cohérent, sachant que la concentration en anthocyanes n'est pas significativement différente entre ces deux modalités et que les anthocyanes sont les principaux pigments donnant la couleur d'un vin rouge.

Un dosage des 32 esters est réalisé sur les vins avant mise en bouteille. Seules 5 molécules présentent des concentrations significativement différentes entre la modalité « contrôle 2 » et les modalités de chauffage ohmique (Tableau 12).

	Contrôle 2	OH1	OH2
	$(\mu { m g}/{ m L})$	$(\mu { m g}/{ m L})$	$(\mu g/L)$
Dodecanoate d'éthyle	4,9	10,8	$15,\!5$
Acétate de propyle	11	14	15
Acétate d'isobutyle	26	34	42
Acétate d'isoamyle	301	453	670
Phényléthyle d'acétate	31	41	68

Tableau 12 : Dosage des esters sur fin fini issu de moût cabernet sauvignon traité en chauffage ohmique

Ainsi, une augmentation sensible de la concentration de ces esters est constatée pour les modalités de chauffage ohmique en comparaison avec la modalité de contrôle. Aussi, une augmentation significative des concentrations est observée dans la modalité OH2 par rapport à la modalité OH1. L'extraction de composés précurseurs à la formation de ces esters lors de la fermentation alcoolique semble donc liée soit à la température de chauffe appliquée soit au temps de chauffe. En effet, le gradient de tension étant constant à 17 V/cm, le débit de traitement (et donc le temps de résidence dans la chambre de chauffage) est diminué dans la modalité OH1. De plus, un contrôle en chauffage conventionnel aurait été souhaitable afin d'identifier la présence d'un éventuel effet d'électroporation. Cependant, l'expérience précédente de traitement discontinu des moûts en chauffage ohmique a permis de montrer que l'extraction engendrée par chauffage ohmique augmentait significativement les concentrations en esters dans les vins issus des moûts traités en comparaison avec un chauffage conventionnel. Malgré l'absence de ce contrôle, l'augmentation des concentrations tend à confirmer les hypothèses formulées précédemment.

Enfin, un test triangulaire est réalisé afin de savoir si les dégustateurs perçoivent une différence entre les modalités de chauffage ohmique et la modalité de contrôle. Les résultats issus d'un panel de 21 dégustateurs sont présentés en Tableau 13.

 $Tableau \ 13: Résultats \ des \ tests \ triangulaires \ de \ comparaison \ des \ modalités \ de \ chauffage \ ohmique \ par \ rapport \ à \ la \ modalité \ « \ contrôle \ 2 \ »$

	Réponses	Réponses	Total	Significatif
	justes	fausses	Total	Significatii
OH2 vs contrôle 2	11	10	21	NS
OH1 vs contrôle 2	11	10	21	\mathbf{NS}

Malgré les différences observées lors des analyses physico-chimiques, il apparait après analyse statistique ($\alpha = 5$ %) que le panel de dégustateur n'est pas en mesure de percevoir de différences entre les modalités. Cependant, la puissance de ce test est limitée étant donné le nombre de réponses justes proche du seuil de significativité. Des expériences et des dégustations supplémentaires seraient donc souhaitables afin de tirer des conclusions définitives sur l'impact du chauffage ohmique des moûts sur les qualités organoleptiques des vins issus de ces moûts.

3 Mutage de moût blanc liquoreux par chauffage ohmique en conditions semi-industrielles

Les vins blancs liquoreux sont des vins à forte teneur en sucres résiduels (< 45 g/L). Les raisins sont vendangés tardivement, souvent botrytisés, pour atteindre des concentrations en sucre élevées et donc le potentiel d'alcool nécessaire dans les vins (13 – 14 % vol) tout en gardant la teneur en sucres résiduels désirée suite à un arrêt de la fermentation. Cet arrêt de fermentation (mutage) est traditionnellement effectué par un soutirage de la biomasse levurienne et un passage au froid combiné avec un ajout de SO₂ (10 à 30 g/hL). La règlementation impose que la concentration en SO₂ total soit inférieure à 200 mg/L. Traditionnellement, le SO₂ libre est maintenu à 40 mg/L environ pendant l'élevage. Ces vins sont donc connus pour leur forte concentration en dioxyde de soufre. L'objectif de cette partie est de réaliser un mutage par chauffage ohmique afin de permettre une réduction significative des concentrations en SO₂ total dans les vins finis. L'impact du traitement sera analysé au cours du temps sur les propriétés physico-chimiques et sensorielles.

Un moût blanc gros manseng Pacherenc-du-vic-bilh est muté en fin de fermentation alcoolique par traitement continu en chauffage ohmique. Deux modalités de contrôle et deux modalités de mutage par chauffage ohmique sont comparées. Le premier contrôle (contrôle 1) est muté par ajout de 12 g/hL de SO₂, concentration traditionnellement utilisée par la propriété Un second contrôle (contrôle 2) est muté par ajout de 6 g/hL de SO₂, concentration réduite. Les deux modalités de mutages par chauffage ohmique OH1 (72 °C pendant 20 s) et OH2 (60 °C pendant 20 s) sont aussi sulfitées à 6 g/hL suite aux traitements. Le débit de traitement est de 20 L/h pour la modalité OH et 26 L/h pour la modalité OH2. Des dénombrements en levures totales sur milieu solide sont réalisés après traitement et avant sulfitage (J+1), puis 8 et 60 jours après traitements et sulfitages (Figure 38).



Figure 38 : Dénombrements en levures totales sur moût blanc Pacherenc-du-vic-bilh immédiatement, 8 et 60 jours après mutage en chauffage ohmique continu à 60 (OH2) et 72 °C (OH1)

Dans les contrôles, une partie de la population est inactivée après 8 jours suite à l'ajout de SO_2 puis totalement inactivée après 60 jours. Les deux concentrations de SO_2 permettent donc de muter à elles seules ce vin liquoreux. Dans les deux modalités chauffage ohmique OH1 et OH2, la population est immédiatement inactivée après traitement. Après sulfitage la croissance ne reprend pas dans la modalité OH1 alors qu'une faible concentration de levures est détectée 8 et 60 jours après sulfitage dans la modalité OH2. Cette présence de levures semble correspondre à une contamination postérieure car le sulfitage est de 6 g/hL dans cette modalité, suffisant pour que la croissance ne reprenne pas comme le témoigne le contrôle 2. De plus, les analyses du TAV au cours du temps dans cette modalité (Tableau 14) ne montrent pas d'évolution du titre alcoométrique, indiquant que la fermentation n'a pas repris.

	Date	Contrôle 1	Contrôle 2	OH1	OH2
	J+1	11,69	11,64	11,58	11,61
T.A.V % vol	J+8	11,58	11,58	$11,\!56$	$11,\!57$
	J+60	11,55	$11,\!59$	$11,\!53$	11,53
	J+1	4,3	4,3	4,5	4,4
Acidité totale $(g/L + SO)$	J+8	4,5	4,4	4,5	4,4
$(g/L \Pi_{2} SO_{4})$	J+60	$_{4,1}$	4,1	4,3	4,3
Sucres (g/L)	J+8	88,50	87,50	88,00	88,50
	J+1	-	-	-	-
Acidité volatile	J+8	0,43	0,42	0,41	0,43
$(g/L \Pi_2 SO_4)$	J+60	0,43	0,43	0,43	0,43
	J+1	3,60	3,60	3,60	3,60
pН	J+8	3,61	3,60	3,36	3,58
	J+60	$3,\!67$	$3,\!67$	$3,\!65$	$3,\!65$
	J+1	10	12	12	12
SO_2 libre	J+8	35	17	20	20
(mg/L)	J+60	40	23	23	22
	J+1	131	140	140	130
SO_2 Total $(m \pi I)$	J+8	208	180	180	180
(IIIg/L)	J+60	254	236	210	208
	J+1	13,9	13,8	13,2	13,6
DO 280	J+8	13,1	12,9	13,2	13,2
	J+60	14	14	13	13
	J+1	0,841	0,864	0,834	0,856
DO 320	J+8	0,82	0,81	0,86	0,86
	J+60	0,829	0,822	0,850	0,846
	J+1	0,039	0,048	0,023	0,032
DO 420	J+8	0,02	0,019	0,033	0,035
	J+60	0,0152	0,016	0,0302	0,025
	J+8	54	29	200	191
Turbidite	J+60	5	7	76	81

Tableau 14 : Analyses physico-chimiques après mutage du moût blanc liquoreux Pacherenc-duvic-bilh par chauffage ohmique à 60 (OH2) et 72 °C (OH1)

Ces analyses font apparaitre une différence significative sur la turbidité des moûts traités en chauffage ohmiques. Cette augmentation est probablement imputable à un trouble protéique. Ce trouble est en effet connu pour apparaitre suite à une chauffe de certains vins blancs. Le chauffage a pour effet, non de précipiter ou de coaguler directement les protéines du moût, mais de les transformer en une forme soluble à chaud, qui s'insolubilise et flocule lors du refroidissement. Le chauffage dénature donc les protéines par élimination de l'eau, qui floculent ensuite sous l'action d'un tanin et des cations, qui sont eux-mêmes en partie entrainés dans le dépôt (Ribéreau-Gayon et al., 2012). Cependant, des expériences supplémentaires sont souhaitables pour confirmer cette hypothèse.

En parallèle, des échantillons de moût mutés en chauffage ohmique (OH1 et OH2) sont sulfités à seulement 6 g/hL tandis que d'autres ne sont pas sulfités. Le suivi cinétique du titre alcoométrique permet de savoir si la fermentation peut se poursuivre suite aux traitements en l'absence de sulfitage. Des comparaisons sont effectuées avec les modalités de contrôle (Figure 39).



Figure 39 : Evolution du TAV au cours du temps sur les moûts blancs liquoreux mutés par chauffage ohmique (OH1 et OH2) puis sulfités (6 g/hL) ou non sulfités (NS), et non traités (contrôle 1et 2)

Aucune différence significative n'est constatée suite à ce suivi, indiquant que la fermentation n'est pas poursuivie suite aux mutages en chauffage ohmique sans sulfitages, même dans la modalité OH2 qui pourtant contient une faible concentration de levures 8 et 60 jours après le traitement.

Enfin, un test triangulaire est réalisé 3 mois après les traitements afin de savoir si les dégustateurs perçoivent une différence entre les modalités de chauffage ohmique et la modalité de contrôle. Les résultats issus d'un panel de 21 dégustateurs sont présentés en Tableau 13.

Tableau 15 : Résultats des tests triangulaires de comparaison des vins blancs liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh issus des modalités de mutage par chauffage ohmique (OH1 et OH2) par rapport à la modalité « contrôle 2 »

	Réponses	Réponses	Total	Significatif
	justes	fausses	Total	Significatii
OH2 vs contrôle 2	5	16	21	\mathbf{NS}
OH1 vs contrôle 2	6	15	21	\mathbf{NS}

Malgré le trouble protéique observée lors des analyses physico-chimiques, il apparait après analyse statistique ($\alpha = 5 \%$) que le panel de dégustateur n'est pas en mesure de percevoir de différences entre les modalités. Ce résultat indique par conséquent que le mutage par chauffage ohmique est possible sans détérioration des qualités organoleptiques des vins. Ces résultats sont d'importance pour la vinification des vins liquoreux car l'apport de SO₂ effectué lors du mutage représente une part importante du SO₂ total.

4 Stabilisation d'un vin fini par chauffage ohmique en conditions semi-industrielles

L'objectif de cette expérience est de stabiliser un vin rouge en élevage par chauffage ohmique, accompagné d'une concentration en SO_2 réduite. Les vins traités seront comparés ensuite avec les vins stabilisés traditionnellement par simple ajout de SO_2 . Le procédé se positionne ici en alternative à la flash pasteurisation qui consiste à porter le vin à 72 °C pendant 20 secondes afin d'inactiver les populations de bactéries lactiques, de bactéries acétiques, ou de levures de refermentation.

Un merlot AOP Bordeaux rouge en élevage sur lies est donc traité par chauffage ohmique en continu. Une première modalité de contrôle non traitée « contrôle 1 » est sulfitée à 5 g/hL tandis qu'une seconde modalité de contrôle non traitée « contrôle 2 » est sulfitée à 3 g/hL. Deux modalités de chauffe sont réalisées OH1 (72 °C pendant 20 s) et OH2 (60 °C pendant 20 s) puis sulfitées à 3 g/hL.

Des dénombrements en levures totales sont réalisés immédiatement après traitements (J) puis au cours du temps après sulfitages (J+8 et J+60) (Figure 40)



Figure 40 : Dénombrements en levures totales immédiatement, 8 et 60 jours après les traitements en chauffage ohmique du merlot rouge en élevage

Ce résultat montre que les levures sont totalement inactivées suite aux deux traitements en chauffage ohmique à 60 et 72 °C, et qu'aucune reprise de croissance n'est observée jusqu'à 60 jours après les traitements et sulfitages à 3 g/hL. La modalité contrôle 2, sulfitée elle aussi à 3 g/hL, montre que ce sulfitage n'est pas suffisant pour

assurer la stabilité microbiologique après 60 jours (0,76 mg/L de SO_2 actif), contrairement au sulfitage à 5 g/hL réalisé dans la modalité contrôle 1 (1 mg/L de SO_2 actif).



En parallèle, des dénombrements en bactéries totales sont réalisés (Figure 41).

Figure 41 : Dénombrements en bactéries totales immédiatement, 8 et 60 jours après les traitements en chauffage ohmique du merlot rouge en élevage

Ces résultats montrent, comme pour les levures, une inactivation totale après traitement et durable jusqu'à 60 jours après traitements dans les modalités OH1 et OH2. De plus, des échantillons issus des modalités OH1 et OH2 non sulfités après traitements, montrent que l'inactivation est totale après 60 jours. Les traitements par chauffage ohmique réalisés permettent donc une stabilisation complète et la concentration en SO₂ peut être réduite de manière significative (- 40 %).

Des analyses physico-chimiques sont aussi menées suite aux traitements (Tableau 16). Les résultats montrent que les paramètres analysés ne subissent pas de modification significatives jusqu'à 2 mois après les traitements. Un dosage des esters par chromatographie est réalisé deux mois après les traitements (Figure 42). Une tendance à la diminution (- 10 %) des esters éthyliques et des acétates d'alcools supérieurs est constatée entre les modalités OH1 et OH2 en comparaison avec le contrôle. Aucune différence n'est observée entre les deux modalités de chauffage. Ces composés étant thermosensibles, il est normal d'observer cette diminution suite aux traitements par chauffage ohmique. Cependant, aucune différence n'est constatée concernant les esters d'acide aliphatique et les esters aromatiques.

OH1 OH2 Modalité Contrôle 1 Contrôle 2 Date **J**+8 J+60 J+8J+60 **J**+8 J+60 **J**+8 J+60 TAV (% vol) 12,40 $12,\!45$ 12,40 12,40 12,35 $12,\!37$ 12,37 12,42A.T (g/L) $3,\!8$ $3,\!8$ $3,\!9$ $3,\!9$ _ _ _ _ H_2SO_4) A.V (g/L)0,378 0,380,38 0,38 0,36 0,370,370,38 H_2SO_4) рΗ 3,37 3,37 3,37 3,37---- SO_2 libre 4529162219161616(mg/L) SO_2 Total 1914_ 31_ -19-(mg/L)ICM 18,05 17,46 17,72 17,59 18,43 18,14 18,515,57Corrigées Anthocyanes 529553531572499 571546 561(mg/L)IPT 5655585559555856Turbidité 115124 106 111 ----23_ DO 320 24_ 24-24_ L* 54,08 54,58 53,4755,1654,87 53,5754,14 55,18 a^* 61,68 60,18 61,06 59,86 61,43 58,98 61,50 58,28 b* -3,50-2,96-3,59-3,13 -2,98-2,00-2,96-1,94

Tableau 16 : Analyses physico-chimiques au cours du temps suite aux traitements par chauffage ohmique d'un merlot rouge en élevage



Figure 42 : Dosage des esters par chromatographie deux mois après les traitements par chauffage ohmique d'un merlot rouge en élevage

Enfin, un test triangulaire est réalisé 3 mois après les traitements afin de savoir si les dégustateurs perçoivent une différence entre les modalités de chauffage ohmique et la modalité de contrôle. Les résultats issus d'un panel de 21 dégustateurs sont présentés en Tableau 17.

Tableau 17 : Résultats des tests triangulaires de comparaison des vins rouges Merlot traités par chauffage ohmique (OH1 et OH2) par rapport à la modalité « contrôle 2 »

	Réponses	Réponses	Total	Significatif
	justes	fausses	Total	Significatii
OH2 vs contrôle 2	11	10	21	\mathbf{NS}
OH1 vs contrôle 2	5	16	21	\mathbf{NS}

Il apparait après analyse statistique ($\alpha = 5 \%$) que le panel de dégustateur n'est pas en mesure de percevoir de différences entre les modalités. La baisse mineure des concentrations en esters engendrée par les traitements en chauffage ohmique n'est donc pas perçue par les dégustateurs. Ce procédé n'ayant pas engendré de modification significative des qualités organoleptique du vin traité, l'emploi de cette technologie est donc prometteuse dans le cadre de la stabilisation microbiologique des vins en élevage qui peuvent parfois présenter des dérives microbiologiques difficilement contrôlables par l'ajout de SO₂. Ce procédé est donc une alternative à la flash pasteurisation, bien que des études comparatives doivent être menées afin de confirmer ces résultats. De plus, ce traitement permet de réduire sensiblement les concentrations en SO₂ tout en prévenant efficacement la reprise de croissance des populations.

5 Conclusions

Le chauffage ohmique a été utilisé ici pour la première fois dans la double optique de stabilisation microbiologique des moûts avant la fermentation alcoolique et l'extraction de composés phénoliques. Les premières expériences en traitement discontinu ont montré que le chauffage ohmique, grâce à l'homogénéité de traitement et aux effets d'électroporation, permet d'inactiver significativement plus de microorganismes indigènes que le chauffage conventionnel lors de l'application d'un profil de chauffe similaire sur un moût de raisin rouge. Lors de l'utilisation du pilote de traitement continu, l'efficacité du procédé en matière de stabilisation microbiologique a été confirmée. Une inactivation totale a été observée à 60 et 72 °C. Des études complémentaires sont nécessaires afin de déterminer la part de l'effet électrique par rapport à l'effet thermique, et si la température de 60 °C combinée aux effets de perméabilisation serait suffisante pour inactiver tous les types de microorganismes rencontrés en œnologie. Auquel cas une réduction significative des couts énergétiques (-17 %) pourrait être réalisée.

Concernant l'extraction de composés phénoliques, la première étape en traitement discontinu a permis de montrer une augmentation de 18 % de l'IPT, de 26 % des tannins totaux et de 11 % des anthocyanes totaux dans les vins finis traités par chauffage ohmique à 55 V/cm durant 60 à 90 s par rapport au témoin non traité. Si les taux d'extraction sont identiques en comparaison avec le chauffage conventionnel sur les vins finis, le chauffage ohmique permet une extraction du contenu phénolique immédiate après traitement grâce aux effets d'électroporation. L'intérêt de ce procédé est donc accru lors des vinifications en phase liquide. La seconde étape en traitement continu a pu confirmer l'efficacité du procédé, avec une augmentation de 30 % des anthocyanes totaux et 14 % de l'IPT par rapport au témoin non traité. La variabilité des cépages entre les deux expériences explique les différents taux d'extraction observés. Ces valeurs sont comparables avec celles d'autres procédés d'extraction. En effet, Morel-Salmi et al., (2006) ont observé par exemple, des augmentations de 10 à 15 % de l'IPT dans les vins finis issus de moûts de raisin rouge traités par flash détente.

Une augmentation notable des concentrations en esters est observée dans les vins finis issus des moûts traités par chauffage ohmique discontinu et continu. Ainsi les concentrations en propanoate d'éthyle, acétate d'isoamyle, isobutyrate d'éthyle et acétate de phényléthyle sont respectivement plus élevée de 30, 56, 68 et 53 % en chauffage ohmique discontinu par rapport au témoin non traité et au chauffage conventionnel. Une extraction de composés précurseurs suite à des effets d'électroporation pourrait expliquer cette différence. Le traitement du moût en chauffage continu a confirmé les résultats précédemment observés avec une différence des concentrations de certains esters encore plus élevée. Le dodécanoate d'éthyle, l'acétate de propyle, l'acétate d'isobutyle, l'acétate d'isoamyle et le phényléthyle d'acétate ont augmenté de 216, 36, 61, 122 et 120 % respectivement dans les vins finis issus du moût traité en chauffage ohmique à 72 °C par rapport au témoin non traité. Des expériences complémentaires sont cependant nécessaires afin de confirmer les résultats obtenus et de déterminer l'origine de ce comportement.

Concernant l'utilisation du chauffage en alternative au mutage par SO₂ des moûts blancs liquoreux, le procédé a permis d'inactiver totalement et durablement les levures de fermentation à 60 et 72 °C. Malgré une casse protéique observée lors des essais, les vins issus de ces moûts n'ont pas montré de différences significatives d'un point de vue physico-chimique et sensoriel. De même lors du traitement d'un vin rouge en élevage à 60 et 72°C, le traitement par chauffage ohmique en alternative à la flash pasteurisation a permis d'inactiver la totalité des bactéries et des levures sans engendrer de modifications au niveau physico-chimique et sensoriel. Une nouvelle fois, les performances de stabilisation observées à 60 °C, grâce à la combinaison de l'homogénéité de chauffe et des effets de perméabilisation, permettraient une diminution des couts énergétiques non négligeable (- 17 %) par rapport aux traitements thermiques traditionnels réalisés à 72 °C. Chapitre 4 : Stabilisation par UV-C

Dans ce chapitre un réacteur UV-C hélicoïdal a été développé et optimisé d'un point de vue hydrodynamique afin d'augmenter les performances d'homogénéité de répartition du rayonnement dans les liquides absorbants et donc la capacité d'inactivation microbiologique.

A partir de ces optimisations, le traitement des moûts et des vins a été envisagé. L'influence de la matrice (vin blanc, rouge, rosé, liquoreux et moûts) et du type de microorganismes sur l'efficacité de traitement ont été étudié en laboratoire. Des paramètres optimums ont pu être dégagés pour chaque cas de figure. Par la suite, des essais à échelle semi-industrielle ont permis de caractériser les effets du traitement sur différentes matrices (sauvignon blanc, merlot rouge, gros manseng et sémillon liquoreux) d'un point de vue physico-chimique et sensoriel.

1 Essais préliminaires

1.1 Stabilisation par UV-C en réacteur annulaire

Afin d'évaluer les performances des réacteurs annulaires classiquement utilisés dans le traitement de l'eau, une première expérience d'inactivation microbiologique dans des liquides absorbants est réalisée.

Ainsi, un moût concentré rectifié (MCR), de coefficient d'absorption 16 cm⁻¹, est inoculé en *S.cerevisiae* FX10 à 6.10⁵ UFC/mL puis traité dans le réacteur annulaire en mode batch (20 L en recirculation pendant 20 minutes). Le débit d'alimentation est fixé à 1000 L/h. En parallèle, une solution modèle (SM) constituée d'eau sucrée et de coefficient d'absorption 1 cm⁻¹ est traitée de la même manière. Des échantillons sont prélevés à intervalles de temps espacés afin de réaliser le dénombrement des levures viables. L'évolution de la réduction microbiologique en fonction du temps de traitement est représentée en Figure 43.



Figure 43 : Réduction microbiologique d'un MCR et d'une solution modèle par réacteur UV-C annulaire

Une réduction de 3,5 log est observée après 8 min dans la solution modèle mais n'évolue pas jusqu'à 20 min de traitement. Aucune inactivation n'est constatée dans le MCR jusqu'à 20 min de traitement. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'hydrodynamique de ce réacteur n'est pas favorable à l'homogénéité du traitement étant donné la faible turbulence et la grande épaisseur de liquide entre la lampe et le carter externe. Les performances de ce type de réacteurs sont donc clairement limitées en termes de stabilisation microbiologique des liquides absorbants. En accord avec la bibliographie, un nouveau type de réacteur est alors envisagé : le réacteur UV-C hélicoïdal. Ce type de réacteur permettrait de favoriser le contact entre les microorganismes et le rayonnement issu de la lampe par amélioration des conditions hydrodynamiques.

1.2 Stabilisation par UV-C en réacteur hélicoïdal

Suite au premier essai en réacteur annulaire et après examen de la littérature, il a donc été considéré que le contact entre le liquide et les rayons germicides pouvait être optimisé par l'emploi des vortex de Dean. Ces écoulements, sous l'effet de la force centrifuge résultant de la courbure de la conduite, sont le siège d'un phénomène d'instabilité connu sous le nom d'instabilité de Dean. Dans ce cas, plusieurs cellules tourbillonnaires contrarotatives (appelées Vortex de Dean) apparaissent dans la conduite d'écoulement (Figure 44).



Figure 44 : Représentation schématique des vortex de Dean dans une conduite hélicoïdale (de diamètre interne d_i, diamètre de l'hélice d_c et distance entre les spires b)

Dans la littérature, il est constaté que les vortex de Dean augmentent d'une façon significative les taux de transfert de masse, de quantité de mouvement et de chaleur au sein des écoulements dans les conduites courbes. Ceux-ci augmentent aussi les taux de mélange au sein du fluide (Moll et al., 2007; Moulin et al., 1999, 1996). Le choix de la géométrie optimale devra être compatible avec les techniques de fabrication industrielle à bas coût et répondre aux critères de compacité, de polyvalence et de cout énergétique. Dans cette partie, l'emploi des vortex de Dean dans une configuration simple a été étudié en vue d'optimiser le processus de stabilisation microbiologique.

Ainsi, un premier réacteur UV-C hélicoïdal est construit sur une base de lampe LPMHO de puissance UV-C 45 W et d'un enroulement en tube PTFE 4/6 mm. Une longueur de 11 m est enroulée autour d'une gaine quartz de 23 mm de diamètre avec un espacement nul entre les spires (pitch b = 6 mm). Le réacteur est alimenté avec un débit entre 0 et 90 L/h correspondant à un nombre de Reynolds compris entre 0 et 8400. Pour un premier essai, un vin sauvignon blanc désulfité (α =5 cm⁻¹) est inoculé en *S.cerevisiae* FX10 à 6.10⁶ et 4.10⁴ UFC/mL. Trois traitements sont réalisés sur le vin à plus forte concentration cellulaire à trois Reynolds différents (4400, 6200 et 8400). Un traitement supplémentaire est réalisé sur le vin à plus faible concentration avec un Reynolds de 8400 (Figure 45).



Figure 45 : Influence du nombre de Reynolds et de la concentration initiale sur le taux d'inactivation de S.cerevisiae dans un sauvignon blanc en réacteur UV-C hélicoïdal

Les résultats montrent que l'augmentation du nombre de Reynolds de 4400 à 8400 lors du traitement permet de réduire la dose UV-C nécessaire à l'inactivation de la totalité de la population de 6500 à 3400 J/L. Au nombre de Reynolds le plus efficace, l'influence de la concentration initiale semble limitée puisque la même dose est requise pour inactiver la seconde population pourtant 100 fois plus faible.

Cette première expérience met donc en évidence l'importance des conditions hydrodynamiques. Une augmentation du nombre de Reynolds dans une conduite courbe signifie une augmentation du nombre de Dean, définit comme :

$$De = Re \sqrt{\frac{d_i}{d_c}}$$
 (Équation 15)

L'augmentation du nombre de Dean se traduit physiquement par une augmentation de la vitesse radiale du liquide dans la conduite et donc une amélioration de l'homogénéité du traitement suite au passage répété du liquide proche des parois externes de la conduite, et donc de la lampe.

L'efficacité de ce premier prototype est prometteuse et un nouveau réacteur plus polyvalent est alors construit pour la suite de l'étude afin de pouvoir étudier plus en profondeur les performances du réacteur sur une plage de nombres de Reynolds plus grande.

2 Le réacteur UV-C hélicoïdal

2.1 Présentation du pilote développé

Suite aux essais préliminaires prometteurs en réacteur UV-C hélicoïdal, un nouveau réacteur, plus modulable et permettant d'étudier plus amplement l'influence des paramètres hydrodynamiques, est construit.

Ainsi, trois modules pouvant être disposés en série (Figure 22) sont créés, basés sur des lampes LPMHO de 45 W en puissance UV-C, entourées de gaines quartz. Concernant le matériau du tube principal de circulation, un compromis devait être effectué entre transmittance, solidité, innocuité et disponibilité du matériel. A ce titre, l'enroulement en PTFE est remplacé par du Fluoro Ethylène Propylène (FEP) qui dispose d'une transmittance supérieure à 254 nm (Müller et al., 2014). L'alimentation en continu de 50 à 300 L/h est assurée par une pompe haute pression. Les considérations techniques sont listées dans le Tableau 18.

Désignation	Abréviation	Valeur
Longueur enroulement	L	11,7 m
Diamètre interne tube	d_i	$4 \mathrm{mm}$
Diamètre externe tube	$d_{\rm e}$	$6 \mathrm{mm}$
Diamètre enroulement	d_{c}	33 mm
Pitch	b	$6 \mathrm{mm}$

Tableau 18 : Données techniques de construction relatives au développement des modules UV-C

Le ratio d'enroulement d_i/d_c est de 0,12, ce qui est dans la plage adaptée pour la création des vortex de Dean (Dean and Hurst, 1959).

2.2 Spectre lumineux

Afin de vérifier que les lampes émettent principalement à 254 nm, le spectre lumineux des lampes à basse pression de mercure a été mesuré à l'aide d'un concentrateur de faisceau couplé à un spectromètre (Figure 46). La mesure est exprimée en intensité relative par rapport au pic le plus élevé (253,7 nm).



Figure 46: Spectre d'émission des lampes à basse pression de mercure à amalgame

Le spectre confirme que la majorité de la lumière est émise à 253,7 nm. Cependant, une émission non négligeable est constatée à 365 nm avec une intensité relative de 20 %. La mesure n'est pas exhaustive puisqu'il est possible d'observer à l'œil nu une lumière bleue, supérieure à la longueur d'onde maximale mesurable par le spectromètre. Ces lampes sont donc adaptées pour la stabilisation microbiologique. Elles émettent cependant une faible partie de leur lumière à des longueurs d'ondes indésirables, qui pourraient avoir des conséquences sur les qualités organoleptiques des vins traités. Ces conséquences seront étudiées ultérieurement lors des dégustations de vins traités grâce à ces lampes.

2.3 Actinométrie

L'énergie UV-C délivrée (en J/L) au liquide à traiter est une donnée importante puisqu'elle déterminera les conditions de traitements par la suite. Elle peut être calculée suivant le ratio entre la puissance de la lampe et le débit (Équation 5). Cette relation nécessite de connaitre précisément le coefficient de transmittance général du tube de circulation. Or, il est possible de mesurer facilement ce coefficient pour le matériau FEP sous forme de plaque mais autrement plus compliqué de le mesurer dans un tube cylindrique du fait des pertes par réflexion et des épaisseurs variables du matériau à traverser suivant la trajectoire du rayon lumineux considéré (diamétral à tangentiel).

La méthode actinométrique développée par Rahn (1997) permet de mesurer expérimentalement l'énergie UV-C délivrée à un liquide absorbant. La solution iodure / iodate forme du triiodure proportionnellement à la quantité de photons UV-C reçus. En plus de quantifier cette énergie UV-C, cette expérience permet de vérifier un paramètre important : l'homogénéité du traitement. En effet, la solution étant optiquement opaque aux longueurs d'onde inférieures à 290 nm, la comparaison des résultats expérimentaux aux résultats théoriques permet de savoir si le liquide absorbant est traité de manière homogène ou non. Le traitement étant considéré comme homogène si la totalité du volume est irradié de manière égale.

Afin de caractériser l'écoulement d'un liquide dans une conduite, il convient avant de poursuivre de définir le nombre de Reynolds qui exprime le rapport entre les forces d'inertie et visqueuses par la relation suivante (Équation 16) :

$$Re = \frac{\rho \cdot v \cdot l}{\mu} \tag{Équation 16}$$

Où ρ est la masse volumique du fluide en kg.m⁻³, v la vitesse axiale en m.s⁻¹, l la dimension caractéristique du tube (ici le diamètre interne en m) et μ la viscosité dynamique en Pa.s ou kg.m⁻¹.s⁻¹.

En fonction des nombres de Reynolds croissants, on distingue quatre régimes principaux : régime de Stokes, régime laminaire, régime transitoire, régime turbulent. L'écoulement de Stokes correspond aux très faibles valeurs du Reynolds (inférieures à 1). Dans ce cas les forces d'inertie liées aux vitesses étant négligeables, les forces visqueuses et les forces de pression s'équilibrent. Cette notion correspond au domaine de la micro fluidique. Pour des valeurs plus élevées, les forces d'inertie entrent en jeu : c'est le domaine de la dynamique des fluides. On observe d'abord un écoulement laminaire avec des lignes de courant bien identifiées. Dans ce type d'écoulement l'effet de la viscosité s'atténue au fur et à mesure que l'on s'éloigne des parois, les vitesses du fluide tendant à s'homogénéiser. Il est alors souvent commode de considérer que l'approximation du fluide parfait (non visqueux) est suffisante hors d'une zone proche d'une paroi, appelée couche limite. Cette dernière concentre les effets visqueux qui peuvent y être modélisés sous une forme simplifiée. À partir d'un certain Reynolds se produit une transition qui fait apparaître des instabilités dues à l'amplification des perturbations. La valeur du Reynolds de transition et la nature des instabilités dépendent essentiellement du type d'écoulement considéré. Ensuite, les instabilités augmentent au point de donner naissance à un phénomène chaotique dans lequel il est difficile de voir une organisation : c'est la turbulence.

Ainsi, la Figure 47 présente les résultats des doses calculées de manière théorique (D_{th}) en comparaison avec les dosages actinométriques expérimentaux (D_{exp}) en fonction du nombre de Reynolds.



Figure 47: Dose UV-C théorique et expérimentale par actinométrie en fonction du Re dans le réacteur UV-C hélicoïdal

Des mesures de transmittance du matériau de la conduite (FEP) ont été entreprises mais devant la variabilité importante des mesures et les approximations faites en considérant seulement une transmittance pour un rayon pénétrant à 90° par rapport au matériau, un coefficient de transmittance T=0,39 a été déterminé en fonction des résultats expérimentaux.

En appliquant ce coefficient aux doses théoriques (D_{th} x 0,39), il est possible de constater que les résultats expérimentaux sont en accord avec les calculs théoriques pour Re > 10⁴. Cette observation signifie que la totalité du rayonnement émis par la lampe (et ayant traversé les parois du tube) est absorbé par la solution de manière homogène. Tandis que pour Re < 10⁴, les valeurs expérimentales sont inférieures aux valeurs théoriques, tels que pour Re = 7500, D_{exp} = D_{th} x 0.87. Cette observation signifie alors qu'une partie du rayonnement émis par la lampe (et ayant traversé les parois du tube) n'est pas absorbé par la solution de manière homogène. Le même comportement a été observé par Müller et al., (2014). L'hypothèse la plus probable pour expliquer ce résultat est que les vitesses d'écoulement radiales pour Re < 10⁴ ne sont pas suffisantes pour assurer une répartition homogène des photons UV-C dans le liquide. Combiné à cela, la turbulence pourrait aussi jouer un rôle important. La transition du régime laminaire au régime turbulent dans le cas d'une conduite hélicoïdale est donnée par le nombre de Reynolds critique Re_c (Équation 17):

$$Re_{c} = 2.10^{4} \left(d_{i} / d_{c} \right)^{0.32}$$
 (Équation 17)

Or ici $\text{Re}_c = 10^4$, correspond à la transition pour laquelle $D_{th} > D_{exp}$ devient $D_{th} = D_{exp}$. Le débit de travail sélectionné par la suite sera donc optimal pour des valeurs associées à des nombres de Reynolds $\text{Re} > 10^4$, ce qui correspond dans ce réacteur à 200 L/h.

1.1 Essais préliminaires de stabilisation

1.1.1 Influence de la matrice sur les performances du réacteur

Afin d'évaluer l'impact de l'absorbance sur la dose UV-C nécessaire à la stabilisation microbiologique dans les vins, quatre vins sont sélectionnés et leurs caractéristiques optiques à 254 nm sont mesurées par spectrophotométrie (Tableau 19) après filtration stérilisante (filtration sur plaque 0,4 μ m) pour s'assurer que la turbidité n'affecte pas les résultats de l'expérience (< 1 NTU). Ces vins présentent des coefficients d'absorption qui varient fortement, de 5 cm⁻¹ pour le vin blanc à 47 cm⁻¹ pour le rouge.

Tableau 19 : Liste des vins sélectionné	é pour l'étude et leu	rs caractéristiques o	optiques à 25	4 nm
---	-----------------------	-----------------------	-----------------	------

Type	Désignation	$egin{array}{c} { m Coefficient} \ { m d'absorption} \ { m lpha} \ { m (cm^{-1})} \end{array}$	Transmittance 1 cm (%)	Pénétration pour 90% d'absorption d _p (cm)
Blanc	Sauvignon AOP Bordeaux blanc	5	0,001	0,2
Rosé	Cabernet Franc AOP Bordeaux rosé	8	≈0	0,13
Blanc liquoreux	Gros manseng AOP Cote de Gascogne	10	≈0	0,1
Rouge	Merlot AOP Bordeaux rouge	47	≈0	0,02

La levure *S.cerevisiae* FX10 est cultivée dans un milieu YPD liquide puis la biomasse est extraite par centrifugation. Les quatre vins sont inoculés à hauteur de 10^5 à 10^6 UFC/mL. L'objectif de l'expérience étant de d'appréhender l'impact de la matrice sur l'efficacité d'inactivation, les levures sont inoculées séparément et immédiatement avant l'expérience est sans adaptation préalable au milieu dans un volume de 5 L de vin préalablement désulfité. Un échantillon témoin de 50 mL non traité est prélevé au début de l'expérience dans un flacon stérile. De multiples passages dans le réacteur permettent de balayer toute la gamme de doses UV-C nécessaire. Le réacteur est configuré avec les paramètres d'écoulement optimaux déduits de l'expérience d'actinométrie, à savoir Re = 10^4 , correspondant à un débit de traitement de 200 L/h. Les échantillons suivants sont prélevés entre chaque passe après homogénéisation sur le volume total de 5 L. Le réacteur est soigneusement rincé puis désinfecté à l'éthanol entre chaque modalité. Le dénombrement des microorganismes sur milieu solide est effectué deux heures après traitements. Les résultats de l'expérience sont présentés en Figure 48.



Figure 48: Stabilisation microbiologique par réacteur UV-C hélicoïdal de 4 vins différents inoculés en S.cerevisiae FX10 à 1.10⁶ UFC/mL

Les vins blancs et rosés sont stabilisés (< 1 UFC/mL) par un traitement de 580 J/L ; le liquoreux par 2300 J/L tandis que le vin rouge est stabilisé par un traitement de 5100 J/L. Il est intéressant de constater que malgré l'homogénéité apparente observée lors de la caractérisation du réacteur par actinométrie à $\text{Re} > 10^4$, l'absorbance joue ici un rôle déterminant dans l'efficacité du procédé. La même constatation est faite par Müller et al., (2014), qui rapportent que le rôle de l'absorbance est d'autant plus important que le nombre de Reynolds est faible. Les conclusions tirées lors de l'expérience de caractérisation du réacteur par actinométrie sont donc à nuancer et des études complémentaires sont à mener afin de comprendre pourquoi l'apparente homogénéité du traitement sur la solution d'iode, pourtant opaque à 254 nm, n'est pas retrouvée en conditions réelle lors du traitement de liquides contenant des microorganismes, pourtant sensiblement moins absorbants. Afin de mettre en relation la matrice à traiter et la dose UV-C nécessaire pour une inactivation totale de 10^6 UFC/mL de levures *S.cerevisiae*, il est possible d'utiliser le modèle élaboré par Mafart et al., (2002) (Équation 18) :

$$\log \frac{N}{N_0} = -\left(\frac{D}{\delta}\right)^p \tag{Équation 18}$$

Où N est la concentration en UFC/mL , N_0 la concentration initiale en UFC/mL, D la dose UV-C en J/L, δ le facteur de réduction décimal et p le paramètre de la distribution. Les résultats sont listés dans le Tableau 20.

Tableau 20: Paramètres du modèle d'inactivation Weibull pour S.cerevisiae dans des vins blanc, rosé, liquoreux et rouge

Vin	δ	\mathbf{p}	\mathbf{R}^2
Blanc	280	2,5	0,998
Rosé	297	2,7	0,993
Blanc liquoreux	1350	3,1	0,979
Rouge	2930	$_{3,1}$	0,986

Les coefficients de détermination \mathbb{R}^2 observés pour chaque matrice sont élevés (0,979 à 0,998), ce qui signifie que ce modèle est adapté pour décrire la cinétique d'inactivation. Une relation entre le facteur de réduction décimal et l'absorbance a par la suite été considérée. Ainsi, les coefficients d'absorbance sont représentés en fonction du facteur de réduction décimal associé (Figure 49).



Figure 49 : Coefficients d'absorption des vins blancs, rosé, liquoreux et rouge, représentés en fonction des facteurs de réduction décimaaux associés, pour S.cerevisiae, calculés suivant le modèle de Weibull

Une relation linéaire entre l'absorbance et l'efficacité d'inactivation observée ($R^2 = 0.89$). Cependant, des expériences supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ce résultat étant donné le faible nombre de points utilisés pour établir cette relation,

L'absorbance des vins à traiter est donc un facteur clé qui va conditionner la dose UV-C qui doit être appliquées au vin afin d'obtenir la stabilisation microbiologique. Les modèles décrits ici sont valables pour les vins utilisés lors de l'expérience mais une base de données prenant en compte de multiples vins serait nécessaire afin de connaitre par avance la dose UV-C requise suite à une simple mesure d'absorbance.

1.1.2 Influence de la concentration initiale en microorganismes

Une expérience est ici menée afin de savoir si la concentration initiale en microorganismes peut avoir un impact sur la dose UV-C permettant d'obtenir la stabilité microbiologique. Les vins précédemment utilisés sont ici inoculés avec une population plus faible de 10^3 UFC/mL de levures *S.cerevisiae*. La population est inactivée après 580, 725 et 4350 J/L dans le blanc, rosé et rouge respectivement (Figure 50).



Figure 50 : Stabilisation microbiologique par réacteur UV-C hélicoïdal de 3 vins inoculés en S.cerevisiae FX10 à 5.10³ UFC/mL en fonction de la dose UV-C

L'influence de la concentration initiale en microorganismes est donc négligeable pour les vins à faible absorbance (blanc et rosé). Il est cependant à noter que le pilote ainsi conçu ne permet pas l'application de doses autrement que par paliers de 145 J/L, ce qui peut engendrer des biais de conclusions. Comme il est possible de constater sur la courbe d'inactivation du rosé, une rupture de pente est présente entre le dernier point à 725 et l'avant dernier point à 580 J/L, ce qui tend à signifier que la « résolution » des points de l'expérience n'est pas suffisante pour affirmer avec certitude la présence d'une différence significative lors de faibles écarts. La différence devient significative pour les vins à forte absorbance (rouge) où il est possible d'observer une réduction de 15 % de

la dose requise pour l'inactivation totale de la population de 10^3 UFC/mL par rapport à celle de 10^6 UFC/mL. Cet effet s'explique ici

1.1.3 Résistance aux UV-C de différents microorganismes

L'efficacité du réacteur UV-C hélicoïdal pour l'inactivation de différentes souches de microorganismes fréquemment retrouvées en œnologie est ici évaluée. Trois souches de levure (*S.cerevisiae* FX10, *B.bruxellensis* CBS2499 et AWRI1608) sont cultivées dans un milieu YPD liquide. De la biomasse est ensuite récupérée par centrifugation puis inoculée dans une solution physiologique ($\alpha \approx 0.1 \text{ cm}^{-1}$). Le réacteur est réglé pour délivrer la plus faible dose UV-C possible, soit 15 J/L. Les résultats (Tableau 21) montrent que pour les trois souches la dose délivrée est suffisante pour inactiver la totalité des populations.

Tableau 21 : Stabilisation microbiologique de trois souches inoculées séparément dans de l'eau physiologique

Souche	Dose UV-C (J/L)	N (UFC/mL)
SCFX10	Contrôle	2.10^{4}
SCFX10	15	0
BBCBS2499	Contrôle	$2.9.10^{4}$
BBCBS2499	15	0
BBAWRI1608	Contrôle	$2.4.10^{5}$
BBAWRI1608	15	0

Il n'est cependant pas possible de calculer la dose exacte nécessaire à cette inactivation car le montage ne permet pas de délivrer des doses UV-C plus faibles. Afin de palier à ce problème, les souches *S.cerevisiae* FX10, *B.bruxellensis* CBS2499, *B.bruxellensis* AWRI1608 et *A.aceti* 08ba01 sont inoculées séparément dans un vin blanc filtré et désulfité. Ce vin blanc est choisi arbitrairement pour obtenir une matrice unique, dont les propriétés optiques sont stables pour chaque modalité. Immédiatement après traitement, les dénombrements sont réalisés.

La Figure 51 présente la concentration en microorganismes de chaque souche en fonction de la dose UV-C délivrée au liquide.



Figure 51 : Inactivation de S. cerevisiae, B. bruxellensis et A. aceti dans une matrice vin blanc en fonction de la dose UV-C

Dans ces conditions, 570 J/L sont nécessaires pour inactiver une population de 10^6 UFC/mL de *S.cerevisiae*, 430 J/L pour inactiver la même concentration des deux souches de *B.bruxellensis* et seulement 220 J/L pour inactiver 2.10^4 UFC/mL de *A.aceti*.

La plus grande sensibilité de *A.aceti* au traitement UV-C est en accord avec les observations faites dans la littérature. En effet, les bactéries contiennent moins de thymines, qui sont les bases de l'ADN principalement invoquées dans la formation de dimères de pyrimidine lors d'une exposition au rayonnement UV-C (Bintsis et al., 2000; Fredericks et al., 2011).

De plus, la réponse au traitement UV-C serait dépendante de multiples paramètres selon Tran and Farid, (2004b). Les auteurs soulignent l'importance de l'épaisseur de la membrane et de sa transmittance au rayonnement, de la composition du milieu dans lequel les microorganismes sont cultivés (présence plus ou moins importante de ribosomes protégeant l'ADN du rayonnement) entrainant par conséquent des

différences dans les doses UV-C requises pour l'inactivation. Ils soulignent aussi l'importance de l'état de croissance des microorganismes (supposés plus résistants en phase de latence qu'en phase de croissance et qu'en phase stationnaire) ainsi que de la température (à faible température l'ADN est dans une conformation compacte qui facilite la formation de dimères induits par UV-C). Des expériences complémentaires de détermination de la dose UV-C létale de multiples microorganismes (dans plusieurs situations) rencontrés en œnologie sont nécessaires afin de mieux comprendre les phénomènes en présence.

1.1.4 Effet post-traitement UV-C sur l'inactivation des microorganismes

L'effet d'un traitement UV-C partiel sur la survie des microorganismes dans le temps est ici évalué. Cette expérience a pour but de connaitre si un éventuel effet d'inhibition existe lorsqu'un microorganisme est irradié avec une dose UV-C inférieure à la dose nécessaire pour entraîner son inactivation immédiate. Des solutions modèles de vin, d'un volume de 5 L, sont inoculées avec trois souches différentes : *S.cerevisiae* FX10, *B.bruxellensis* CBS2499 et *A.aceti* 08ba01. La croissance des microorganismes est suivie par mesure de la densité optique à 600 nm jusqu'à atteindre des valeurs proches de 1,5 afin d'obtenir des microorganismes en phase de croissance. Le traitement UV-C est ensuite réalisé et deux échantillons de 50 mL sont conservés à température contrôlée de 4 °C et 20 °C. Les dénombrements sont réalisés sur milieu solide, régulièrement espacés sur une période de 16 à 30 jours.

La solution modèle contenant initialement une population de levures *S. cerevisiae* FX10 de $6,10^6$ UFC/mL est soumise à deux traitements UV-C de 145 et 290 J/L (Figure 52). Une réduction de 2,7 log est observée immédiatement après le traitement à 290 J/L tandis qu'une réduction de seulement 0.3 log est observée pour 145 J/L. A 4 °C, la population est stable sur une durée de 30 jours quel que soit la dose UV-C appliquée. A 20 °C, la population est stable pour le contrôle et la modalité UV-C 145 J/L tandis que la population de la modalité UV-C 290 J/L remonte progressivement jusqu'à un niveau proche du niveau initial (3,10⁶ UFC/mL). Aucune inactivation post-traitement n'est observable sur cette souche de levure. La reprise de la croissance est donc possible après une exposition modérée au rayonnement UV-C dans les conditions de l'expérience.

La solution modèle contenant initialement une population de levures *B.bruxellensis* CBS2499 de $1,10^7$ UFC/mL est soumise à deux traitements UV-C de 145 et 290 J/L (Figure 53).



Figure 52 : Evolution de la population de S. cerevisiae après traitements UV-C de 145 et 290 J/L sur une durée de 30 jours



Figure 53 : Evolution de la population de B.bruxellensis après traitements UV-C de 145 et 290 J/L sur une durée de 23 jours

Des réductions de 0.5 et 3.4 log sont observées immédiatement après le traitement suite aux doses de 145 et 290 J/L respectivement. Cette première information confirme les résultats précédemment obtenus concernant la plus grande sensibilité de *B.bruxellensis* au rayonnement UV-C par rapport à *S.cerevisiae*. En effet, lors des deux expériences, la dose UV-C nécessaire pour un taux d'inactivation identique sur les deux souches est approximativement 30 % inférieure pour *B.bruxellensis*. A 4°C, les populations dans le contrôle et la modalité UV-C 145 J/L décroitsent jusqu'à - 1.5 log au 23^{eme} jour. La population de la modalité UV-C 290 J/L décroit (- 3.6 log) jusqu'à atteindre la limite de détection (< 1 UFC/mL) au 23^{eme} jour. A 20 °C, la population est stable dans le contrôle et la modalité UV-C 145 J/L tandis qu'une croissance qui tend vers le niveau de population initial est observée pour la modalité UV-C 290 J/L (+ 1,6 log). Une synergie est donc observée après exposition de ces levures au rayonnement UV-C (290 J/L) puis stockage à basse température.

La solution modèle contenant initialement une population de bacteries A.aceti 08ba01 de 4.10³ UFC/mL est soumise à deux traitements UV-C de 72 et 145 J/L (Figure 54).



Figure 54 : Evolution de la population de A.aceti après traitements UV-C de 72 et 145 J/L sur une durée de 16 jours

Des réductions de 2 et 3.6 log sont observées immédiatement après le traitement suite aux doses de 72 et 145 J/L respectivement. A 4 °C, la population dans le contrôle est stable jusqu'au 16^{ème} jour. Dans la modalité UV-C 72 J/L elle est stable jusqu'au 8^{ème}
jour et décroit jusqu'en dessous de la limite de détection (<1 UFC/mL) au 16^{eme} jour. La population dans la modalité UV-C 145 J/L est inactivée immédiatement après traitement et aucune croissante n'est observée. A 20°C, la population dans le contrôle décroit (-1,6 log) jusqu'au $16^{\text{ème}}$ jour. Dans la modalité UV-C 72 J/L elle décroit rapidement jusqu'en dessous de la limite de détection au $8^{\text{ème}}$ jour. La modalité UV-C 145 J/L inactive la totalité de la population comme précédemment et aucune croissance n'est observée par la suite. Il est à nouveau possible d'observer une tendance à diminution de la population après traitement mais le taux de mortalité observée dans la solution contrôle empêche de tirer des conclusions définitives. Un milieu plus adapté ainsi qu'une population de départ plus élevée pourrait apporter davantage de certitudes.

Un effet post traitement augmentant la mortalité des levures *B.bruxellensis* CBS2499 est donc observé lors d'une conservation à basse température après le traitement par UV-C à faibles doses. Le même effet est observé chez les bactéries *A.aceti* 08ba01 tandis que les levures de type de type *S.cerevisiae* FX10, aucun effet post traitement n'est exprimé.

Les échantillons ayant été stockés à l'abri de la lumière, ces différences de comportement peuvent avoir comme origine la présence ou l'absence de mécanismes de réparation. En effet, la levure *S.cerevisiae* est dotée du mécanisme de réparation par excision de nucléotide (NER) qui lui permet une réparation des lésions UV-C en l'absence de lumière (Sinha and Häder, 2002). Contrairement à la photoréactivation qui reforme l'ADN dans son état d'origine en présence de lumière, ce mécanisme entraine une excision de l'ADN endommagé, notamment des dimères de pyrimidines, et le remplacement de l'ADN avec des nucléotides non endommagés. D'autres mécanismes de réparation sans présence de lumière existent, comme la réparation par excision de base (BER). L'efficacité de ces mécanismes est variable suivant les espèces et suivant les souches. En effet, la présence de certains gènes influence fortement la sensibilité aux UV-C tel que l'ont montré Birrell et al., (2001). Lors de la vinification, les microorganismes sont à l'abri de la lumière dans les cuves, ce qui implique que même s'ils ne sont pas totalement inactivés lors du traitement, ils peuvent l'être au cours du temps lorsque la température reste faible.

1.2 Evaluation des performances et bilan énergétique

1.2.1 Bilan énergétique

Le bilan énergétique est calculé en prenant en compte le nombre de lampes et le nombre de passages dans le réacteur nécessaire à l'inactivation totale des levures de type *S.cerevisiae* (les plus résistantes dans cette étude). La puissance électrique absorbée est de 135 W par lampe et la pompe absorbe une puissance maximale de 1 kW. Le Tableau 22 récapitule la consommation énergétique calculée pour la stabilisation microbiologique totale de différents vins en utilisant le réacteur UV-C hélicoïdal en comparaison avec la flash pasteurisation (industry.gov.au) et la filtration tangentielle (vignevin.com).

Tableau 22 : Bilan énergétique comparatif des méthodes de stabilisation microbiologique (en kWh/L)

	Blanc & rosé	Liquoreux	Rouge
Réacteur UV-C hélicoïdal	0,007	0,01	0,016
Flash pasteurisation		0,02	
Filtration tangentielle	0	0,01 à 0,04	

Il apparait clairement que la stabilisation microbiologique utilisant ce type de réacteur est très intéressante de par son bilan énergétique. La consommation énergétique est en effet au moins aussi faible pour le vin rouge (0,016 kWh/L) qu'avec les autres procédés, et bien plus faible dans le cas de vins peu absorbants comme les blancs et rosés avec 0,007 kWh/L soit seulement 35 % de la consommation énergétique d'une flash pasteurisation.

Il est à noter que la consommation énergétique de la pompe utilisée dans le pilote de traitement UV-C est ici basée sur la consommation électrique maximale du moteur. La puissance réellement absorbée n'ayant pas pu être mesurée.

1.2.2 Pertes de charge et optimisation

Afin de prévoir le type de pompe et la puissance nécessaire en vue d'une optimisation du procédé, il est indispensable de calculer la perte de charge générée par un tel montage et de prévoir quel modèle théorique est le plus adéquat pour la décrire.

La perte de charge dans une conduite correspond à la différence de pression entre l'entrée et la sortie de cette conduite (ΔP en bar). Afin de calculer cette valeur, l'équation de Fanning (Équation 19), est utilisée :

$$\Delta P = \frac{2fL\rho U^2}{d_i} \qquad (\text{Équation 19})$$

Où L est la longueur de la conduite (en m), U la vitesse du liquide (en m/s), ρ la masse volumique du liquide (en kg/m³) et d_i le diamètre interne de la conduite et f le facteur de friction.

Le facteur de friction est défini comme le ratio entre les contraintes de cisaillement et les forces d'inertie. Il dépend du matériau utilisé (matière, rugosité des parois...) et de la forme de la conduite. En 1913, Blasius développe une expression empirique donnant le facteur de friction (f_{st}) dans une conduite cylindrique lisse et droite valable pour 4.10³ $< \text{Re} < 10^5$ (Équation 20):

$$f_{st} = 0.079 R e^{-1/4}$$
 (Équation 20)

$$f_c - f_{st} = 0.0075 (d_i/d'_c)^{1/2}$$
 (Équation 21)

Mishra and Gupta, (1979) ont formulé une équation qui permet de relier le facteur de friction dans une conduite cylindrique droite (f_{st}) au facteur de friction dans une conduite cylindrique hélicoïdale (f_c) (Équation 21). Il est important de noter que cette formulation n'emploie pas le diamètre réel de l'hélice dc mais un diamètre modifié, prenant en compte l'espacement « b » entre les spires de l'hélice. Ce diamètre est calculé suivant la relation (Équation 23) :

$$d'_c = d_c \left[1 + \left(\frac{b}{\pi d_c} \right)^2 \right]$$
 (Équation 22)

La perte de charge dans la conduite hélicoïdale d'un module UV-C de longueur 11.9 m a été mesurée et comparée au modèle précédemment décrit. Pour réaliser ces mesures, un manomètre est placé sur le corps de pompe qui alimente un module UV-C dont la sortie est placée à pression atmosphérique. Les mesures sont effectuées à l'eau et à une température de 20°C. La viscosité des vins (~1.4.10⁻³ Pa.s) est variable et supérieure à celle de l'eau (1.10⁻³ Pa.s), il conviendra donc d'adapter le calcul en fonction des caractéristiques du liquide à traiter. Les courbes de perte de charge en fonction du nombre de Reynolds sont tracées en Figure 55. Les mesures expérimentales ($\Delta P_{héli-exp}$) sont en accord avec le modèle théorique ($\Delta P_{héli-th}$). La corrélation proposée par Mishra et Gupta est donc applicable à un tel réacteur.



Figure 55: Pertes de charge expérimentales et théoriques dans une conduite hélicoïdale et droite de mêmes longueurs

Il est intéressant de comparer la perte de charge dans la conduite hélicoïdale à celle d'une conduite droite de même longueur. Ainsi, il est possible de prévoir la gamme complète de pertes de charge pour toutes les valeurs de pitch comprises entre la conduite droite et l'enroulement maximum (b = d_e). Les résultats montrent une augmentation de 50 % de la perte de charge dans la conduite hélicoïdale par rapport à la conduite droite. Cependant les valeurs de pertes de charge théoriques dans la conduite droite sont en moyenne 15 % supérieures aux valeurs expérimentales, ce qui signifie que la relation donnant le facteur de friction dans une conduite droite (relation de Blasius) n'est pas optimale dans ce cas. L'origine de cette différence est probablement explicable par la différence de rugosité entre les matériaux utilisés lors de cette expérience et ceux utilisés par les auteurs.

Afin de reformuler ces modèles pour les adapter au réacteur UV-C utilisé lors de cette étude, le facteur de friction expérimental en conduite droite (f_{st_exp}) est déduit des données expérimentales. Pour cela, la linéarisation de l'équation 21 donne (Équation 23) :

$$\ln(a) = \ln(f_{st_exp}) - \frac{1}{4}\ln(Re) \qquad (Équation 23)$$

Un coefficient 'a' est donc calculé pour chaque valeur de Re et la moyenne de ces facteurs (0.068) conduit à écrire (Équation 24) :

$$f_{st_exp} = 0.068 R e^{-1/4}$$
 (Équation 24)

Le facteur de friction expérimental dans la conduite hélicoïdale $(f_{c_{exp}})$ est ensuite extrait des données expérimentales et utilisé pour calculer un nouveau coefficient 'b' dans l'é(Équation 25) :

$$f_{c_exp} - f_{st_exp} = b(d_i/d'_c)^{1/2}$$
 (Équation 25)

La moyenne des coefficients b est de 0.011, il en découle donc que le modèle final décrivant les partes de charge dans le réacteur UV-C hélicoïdal utilisé dans cette étude peut être décrire par le facteur de friction $f_{c_{exp}}$ suivant l'(Équation 26) :

$$f_{c_exp} = 0.011 (d_i/d_c)^{1/2} + 0.068 Re^{-1/4}$$
 (Équation 26)

La représentation graphique (Figure 56) montre ainsi que les modèles ($\Delta P_{h\acute{e}li-th_mod}$ et $\Delta P_{droit-th_mod}$) intégrants les facteurs de frictions (f_{c_exp} et f_{st_exp}) issus des données expérimentales sont adaptés pour la description des pertes de charges dans ce réacteur.



Figure 56 : Pertes de charge expérimentales et théoriques dans une conduite hélicoïdale et droite de mêmes longueurs

Grâce à ce modèle il serait alors possible de prévoir les pertes de charges dans l'optique de diminuer celles-ci lors de la construction d'un réacteur de géométrie plus optimisée. Le modèle permet ainsi de calculer la perte de charge relative dans une conduite hélicoïdale de diamètre interne (d_i) variable, à nombre de Reynolds et nombre de Dean constant (Figure 57).



Figure 57 : Perte de charge relative dans une conduite hélicoïdale de diamètre interne (d_i) variable, à nombre de Reynolds et nombre de Dean constant.

Il est possible de constater qu'une augmentation de 2, 4 et 6 mm du diamètre interne de la conduite diminuerait les pertes de charges de 70, 87 et 93 % respectivement. Ces informations laissent donc penser qu'un gain énergétique important est possible. Il est possible d'imaginer des géométries de réacteur différentes, comme par exemple un enroulement dont la conduite de diamètre interne 10 mm (faibles pertes de charges) serait enroulée autour d'un groupe de 4 lampes (diamètre d'enroulement 80 mm).

Cependant, si malgré un nombre de Dean identique, et donc des vitesses radiales identiques dans les vortex, l'homogénéité du traitement était diminuée (étant donné l'épaisseur accrue de liquide et le plus grand volume à homogénéiser), l'augmentation du diamètre interne de la conduite pourrait entrainer une augmentation de la puissance UV-C à fournir afin d'atteindre les mêmes performances de stabilisation microbiologique. Des études complémentaires sont donc souhaitables afin de déterminer le meilleur compromis entre l'énergie dissipée par les pertes de charges et l'énergie UV-C requise.

2 Stabilisation par UV-C des vins finis en conditions semi-industrielles

La mise en bouteilles est l'ultime phase avant la distribution du vin vers le consommateur. De ce fait la préparation d'un vin à la mise en bouteilles exige de réunir les conditions nécessaires pour mettre en valeur son aspect visuel, assurer sa stabilité microbiologique et physicochimique, sans nuire à ses qualités organoleptiques présentes et à venir. Les opérations à réaliser pour atteindre l'objectif d'une bonne stabilité microbiologique dépendent, d'une part, de la connaissance de l'état du vin au moment de cette préparation, c'est-à-dire de son histoire et d'autre part, de l'avenir qui lui est réservé. Traditionnellement, une filtration fine $(0,4 \ \mu m)$ suivie d'un sulfitage à 30 mg/L de SO₂ libre sont réalisés. Un soutirage pour éliminer les lies et donc une partie des microorganismes peut aussi être conseillé.

Le traitement par UV-C pourrait se placer par exemple dans une optique de complément à la filtration. En effet, une filtration dégrossissante ou clarifiante diminue le cout énergétique et augmente les débits de perméabilité par rapport à une filtration stérilisante, mais n'est pas suffisante pour assurer la stabilisation microbiologique. En complément d'un traitement UV-C, la stabilisation pourrait être ainsi assurée, autorisant par la suite une diminution sensible des concentrations de SO₂ à ajouter avant la mise en bouteilles. L'utilisation du réacteur UV-C sans filtration préalable est aussi envisagée, en suivant les étapes de soutirages.

Dans cette partie, les paramètres de fonctionnement optimisés en laboratoire sont mis en application afin de mener des essais de stabilisation microbiologique sur un des vins blancs et rouges en fin d'élevage.

2.1 Stabilisation par UV-C d'un sauvignon AOP Bordeaux blanc en élevage

L'objectif de cette expérience est de valider les résultats obtenus en laboratoire lors de la stabilisation d'un vin blanc en fin d'élevage par traitements UV-C. Ces vins seront ensuite comparés d'un point de vue physico-chimique et sensoriel avec le vin stabilisé traditionnellement par simple ajout de SO_2 .

Le vin utilisé dans le cadre de ce essai est un vin blanc sec 2014 et d'AOC Bordeaux Blanc élevé sur lies fines en fin d'élevage ($\alpha = 5$ cm⁻¹). Suite à une analyse microbiologique préalable, le microbiote indigène est jugé insuffisant pour mener des essais de stabilisation. Par conséquent, un levain de levures Zygosaccharomyces bailii est préparé pour inoculer 5 hL de vin et ainsi traiter des microorganismes en phase exponentielle de croissance. Le réacteur UV-C hélicoïdal est alimenté avec un débit de 200 L/h, correspondant à un nombre de Reynolds Re = 10⁴, paramètre optimal précédemment déterminé. Les modalités de traitement (volumes de 100 L par modalité) sont listées en Tableau 23.

Modalités	Dose UV-C (J/L)	Elévation en oxygène dissous (mg/L)	Elévation de température (°C)
Contrôle	0	+ 0	$0^{\circ}\mathrm{C}$
UV-C 145	145	+ 0,13	+ 0 °C
UV-C 290	290	+ 0,15	+ 0,7 °C
UV-C 435	435	+ 0,57	+ 1,1 °C
UV-C 580	580	+ 0,41	$+ 0,7^{\circ}C$

Tableau 23 : Liste des modalités de traitement UV-C et élévation de la température et de laconcentration en oxygène dissous lors des traitements sur sauvignon blanc

Il est possible de constater une augmentation de la teneur en oxygène dissous entre chaque passage dans le réacteur (+ 0,3 mg/L), due au brassage en sortie du pilote UV-C, et ce, malgré l'inertage préalable des cuves. La présence d'oxygène dissous étant susceptible d'engendrer la formation de radicaux libres lors de l'exposition au rayonnement UV, il conviendra donc dans les futurs travaux, de concevoir un pilote capable d'appliquer ces doses UV-C en une seule fois afin d'éviter ce phénomène. L'augmentation de la température est seulement de 1 °C par traitement, ce qui en fait un procédé considéré comme athermique. Des dénombrements en levures totales sur milieu solide sont réalisés immédiatement et 8 jours après traitements (Figure 58).



Figure 58 : Dénombrement levures totales dans le vin sauvignon blanc après traitement UV-C et 8 jours après

Les résultats montrent une inactivation progressive de la population initiale en levures $(5,3.10^2 \text{ UFC/mL})$ pour atteindre une inactivation totale à 580 J/L immédiatement après traitement. Il apparait que les populations ont significativement augmenté pour atteindre 10⁵ UFC/mL 8 jours après traitements dans la modalité de contrôle. La croissance de la population est aussi observée sur les modalités UV-C 145, 290 et 435 dont la population n'a pas été entièrement inactivée immédiatement après le traitement. A 580 J/L, aucune croissance n'est observée après 8 jours et la population reste totalement inactivée. Dans ces conditions, le traitement UV-C à 580 J/L permet donc d'inactiver efficacement les levures de type Zygosaccharomyces bailii dans un vin blanc et stopper une reprise de la croissance. Des observations en microscopie à fluorescence ont montré la présence de levures viables malgré l'absence de levures viables et cultivables constatée lors des comptages sur milieu solide (< 1 UFC/mL), cependant en quantité trop faible pour être dénombrées.

Suite aux traitements, les vins sont stockés dans des futs inox de 50 L. Des analyses physico-chimiques (Tableau 24) sont réalisées au cours du temps.

Modalité	Contrôle		UV-C 145		UV-C 290		UV-0	C 435	UV-C 580		
Date	J+1	J+90									
TAV (% vol)	11,90	-	11,85	-	11,85	-	11,85	-	11,85	-	
Acidité totale $(g/L d'H_2SO_4)$	4,70	-	4,70	-	4,70	-	4,70	-	4,70	-	
pH	$3,\!35$	-	3,34	-	$3,\!35$	-	$3,\!35$	-	3,34	-	
Acidité volatile $(g/L d'H_2SO_4)$	0,30	$0,\!27$	0,30	$0,\!28$	0,30	$0,\!28$	0,30	$0,\!27$	0,30	$0,\!28$	
Acide Malique (g/L)	4,3	-	4,3	-	4,3	-	4,2	-	4,3	-	
SO_2 libre (mg/L)	15	20	14	20	14	19	13	21	13	20	
${ m SO}_2 ext{ total } ({ m mg/L})$	81	100	79	98	78	98	78	98	77	98	
Acide Tartrique g/L	2,4	-	2,5	-	2,4	-	2,5	-	2,5	-	
Turbidité (NTU)	$1,\!6$	$0,\!8$	1,6	0,9	1,6	1	1,5	0,9	$1,\!6$	$0,\!9$	
IPT	6	-	6	-	6	-	6	-	6	-	
DO 420	0,051	0,051	0,052	0,053	0,053	0,053	0,051	0,053	0,052	0,054	
DO 320	4,77	4,79	4,73	4,76	4,70	4,74	4,68	4,72	4,65	4,71	
Fer (mg/L)	0,9	-	$0,\!9$	-	0,9	-	$0,\!9$	-	0,9	-	
Cuivre (mg/L)	$0,\!42$	-	$0,\!59$	-	0,50	-	0,47	-	0,46	-	
$\rm CO_2~(mg/L)$	968	944	882	924	888	804	854	874	868	709	

 $Tableau\ 24: Analyses\ physico-chimiques\ du\ sauvignon\ blanc\ 1\ et\ 90\ jours\ après\ les\ traitements\ UV-C$

Ces analyses ne montrent pas de différences entre la modalité de contrôle et les différents traitements que ce soit immédiatement ou 3 mois après traitements.

Enfin des analyses sensorielles ont été menées. Dans un premier temps, une analyse descriptive préliminaire a été menée sur 17 personnes issues du personnel chercheur et technicien de l'ISVV et de l'IFV (Figure 59). Les descripteurs sont ceux utilisé classiquement pour la description des vins blancs de ce type.



Figure 59 : Résultats des analyses sensorielles descriptives 3 mois après traitement UV-C du sauvignon blanc

Une analyse ANOVA n'a pas permis de mettre en évidence des différences significatives entre les modalités UV-C 290 et 580 en comparaison avec le contrôle. Afin de confirmer ce résultat, un test triangulaire est réalisé 18 mois après les traitements auprès de 43 personnes (Tableau 25).

Tableau	25:	$R\acute{e}sultats$	des	tests	triangulaires	20	mois	$a pr \grave{e} s$	traitement	UV-C	du	sauvignon
blanc												

Test triangulaine	Nombre de	Réponses	Résultat
	participants	$\operatorname{positives}$	$(\alpha = 5\%)$
Contrôle / UV-C 290	43	12	NS
Contrôle / UV-C 580	43	16	NS

Aucune différence significative entre le vin témoin et les modalités UV-C 290 et 580 n'est observée.

Afin d'étudier l'impact du traitement sur des composés sensibles à l'oxydation et photooxydation, des dosages de thiols par chromatographie en phase gazeuse (GC-MS) des vins traités 36 mois après les traitements sont réalisés (Tableau 26). Trois thiols caractéristiques du sauvignon blanc sont ainsi dosés : le 3-sulfanylhexanol (3SH) qui évoque des arômes d'agrumes et notamment de pamplemousse, l'éthyl-2-sulfanyl acétate (E2SA) qui rappelle des arômes de moûtarde et la 4-Méthyl-4-sulfanylpentan-2-one (4MSP) qui rappelle des arômes de buis ou d'urine de chat.

Tableau 26 : Dosage des thiols 3SH, E2SA et 4MSP par chromatographie gazeuse (GC-MS) sur sauvignon blanc 36 mois après traitements UV-C

	[3SH]	[E2SA]	[4MSP]
	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)
Contrôle	1331 ± 133	1713 ± 171	$18\pm1{,}8$
UV-C 290	1114 ± 111	1971 ± 197	$17 \pm 1{,}7$
UV-C 580	1031 ± 103	2063 ± 206	$16\pm1,\!6$

Aucune différence significative n'est observée entre les trois modalités. Le traitement par UV-C du sauvignon blanc n'a donc pas d'effet visible sur les trois thiols dosés ici ce qui laisse penser que la photo-oxydation générée par les UV-C à faible dose (< 600 J/L) n'est pas en mesure de générer des modifications significatives des composés chimiques de ce vin. Les analyses physico-chimiques et sensorielles montrent donc que le traitement UV-C n'a pas modifié de façon significative les propriétés organoleptiques du sauvignon blanc traité à 580 J/L, dose UV-C suffisante pour inactiver la totalité des levures contenues dans ce vin. Il est donc envisageable de traiter, grâce à ce réacteur UV-C, des vins blancs avant mise en bouteille, en complément d'une concentration réduite de SO_2 pour la prévention de l'oxydation. Des expériences supplémentaires sur différents vins et des suivis à long terme sont cependant nécessaires afin de pouvoir généraliser ce résultat.

2.2 Stabilisation par UV-C d'un merlot AOP Bordeaux rouge en fin d'élevage

L'objectif de cette expérience est de stabiliser un vin rouge en fin d'élevage par traitements UV-C accompagnés d'une concentration en SO_2 réduite. Ces vins seront comparés ensuite d'un point de vue physico-chimique et sensoriel avec les vins stabilisés traditionnellement par simple ajout de SO_2 .

Un merlot AOP Bordeaux rouge en fin d'élevage sur lies fines ($\alpha = 45 \text{ cm}^{-1}$, oxygène dissous 0,24 mg/L et température 16,6 °C) est traité dans le réacteur UV-C hélicoïdal. Une première modalité de contrôle, « contrôle 1 », sera sulfitée à 28 mg/L de SO₂ libre, qui est la référence classique en vinification. Une seconde modalité de contrôle, « contrôle 2 », sera sulfitée à 20 mg/L de SO₂ libre, qui est la référence de sulfitage modéré accompagnant le traitement UV-C. En effet, le traitement UV-C ne se propose pas ici de remplacer totalement le dioxyde de soufre mais uniquement de réduire ses concentrations grâce à une stabilisation microbiologique préalable. Le SO₂ serait alors ajouté pour son rôle de protection vis-à-vis des phénomènes d'oxydation notamment.

Trois modalités UV-C sont réalisées, 1740, 2610 et 3480 J/L. Le débit de traitement est de 200 L/h. Les modalités de traitement ainsi que les valeurs engendrées de variation d'oxygène dissous et de température sont listées dans le (Tableau 27).

Modalités	Dose UV-C (J/L)	${ m SO_2}\ { m libre}\ { m cible}\ { m (mg/L)}$	Variation en oxygène dissous (mg/L)	Variation de température (°C)
Contrôle 1	0	28	+ 0,95	+ 0,3
Contrôle 2	0	20	+ 0,72	+ 0,3
UV-C 1740	1740	20	+ 0,27	+ 2
UV-C 2610	2610	20	+ 0,14	+ 1,5
UV-C 3480	3480	20	+ 0,23	+ 1,6

Tableau 27 : Modalités de traitement en réacteur UV-C hélicoïdal du merlot AOP Bordeaux rouge.

Il est possible de constater une nouvelle fois une augmentation de la teneur en oxygène dissous entre chaque passage dans le réacteur, due au brassage en sortie du pilote UV-C, et ce malgré l'inertage préalable des cuves. Concernant la stabilisation microbiologique, des dénombrements en levures totales sont réalisés après traitement (J+0, non sulfités), 8 et 60 jours après traitements (J+8 et J+60, sulfités) (Figure 60).



Figure 60 : Dénombrements en levures totales sur Bordeaux rouge suite aux traitements UV-C, immédiatement, 8 et 60 jours après.

Ce vin en fin d'élevage contient initialement peu de levures $(2,5.10^2 \text{ UFC/mL})$. Une réduction graduelle de la concentration en levures est observée immédiatement après le traitement avec l'augmentation de la dose UV-C sans toutefois atteindre l'inactivation totale puisqu'il reste après le traitement le plus élevé de 3480 J/L, une concentration très faible de 4 UFC/mL. Huit jours après traitements UV-C et sulfitage des vins, il ne reste plus de levures viables dans le vin traité à 3480 J/L tandis qu'il en reste de faibles concentrations dans les autres vins, notamment dans le « contrôle 2 » malgré que les analyses (Tableau 28) montrent une concentration en SO₂ libre de 26 mg/L dans toutes les modalités. Après 60 jours aucun des vins ne contient de levures viables. Le traitement UV-C a donc permis d'éliminer les levures plus rapidement que par sulfitage mais l'effet final après 60 jours est identique en comparaison avec les modalités uniquement sulfitées. En parallèle, des dénombrements en bactéries totales sont réalisés immédiatement après traitement (J+0) Le vin rouge en élevage contient une concentration élevée de bactéries (8.10⁵ UFC/mL) (Figure 61).



Figure 61 : Dénombrements en bactéries totales sur le Bordeaux rouge suite aux traitements UV-C, immédiatement (sans sulfitage), 8 et 60 jours après (sulfités).

La concentration en bactéries dans les modalités « contrôle 1 » et « contrôle 2 » ne diminue pas malgré le sulfitage à 30 et 15 mg/L de SO₂ libre respectivement. Les bactéries en présence (bactéries lactiques principalement) ne sont donc pas sensibles au SO₂ à cette concentration (0,35 mg/L de SO₂ actif). En effet, la littérature montre que certaines bactéries, et notamment les bactéries lactiques, peuvent tolérer jusqu'à 3,5 mg/L de SO₂ actif. Ce résultat montre l'intérêt des techniques physiques pour la stabilisation microbiologique de certains microorganismes tolérants aux faibles concentrations de SO₂ actif.

Concernant les traitements par UV-C, le traitement à 1740 J/L ne permet pas une stabilisation complète et une concentration de 5.10^2 UFC/mL est retrouvée immédiatement après traitement. Les traitements à 2610 et 3480 J/L ont permis d'inactiver totalement les bactéries immédiatement après les traitements et jusqu'à 8 jours après les traitements et sulfitages. Malgré ces résultats, une reprise de croissance de croissance est observée par la suite et la concentration remonte à 10^4 UFC/mL 60

jours après traitement et sulfitage à 15 mg/L de SO_2 libre dans toutes les modalités de traitement par UV-C.

Une hypothèse est donc formulée afin d'expliquer la raison pour laquelle les bactéries préalablement inactivées par les traitements UV-C à 2610 et 3480 J/L sont de nouveau présentes après 60 jours. Ainsi, pour expliquer ce résultat, il est possible de se baser sur la capacité de certaines bactéries à entrer dans un état viable non cultivable (VNC) lorsqu'elles sont soumises à un stress extérieur. Rizzotti et al., (2015) ont observé que suite à des traitements UV-C, un faible nombre (~ 10 UFC/mL) bactéries lactiques pouvaient parfois être observées par PCR quantitative (méthode de comptage basée sur la quantité d'ADN dans un échantillon) tandis qu'aucune bactérie n'était dénombrée lors des comptages sur milieu solide (qui fait apparaître uniquement les bactéries viables et cultivables). Aucune différence entre les deux méthodes de comptage n'a cependant été observée sur les bactéries acétiques par ces mêmes auteurs. Des résultats similaires ont été trouvés par Ben Said et al., (2010). Les auteurs montrent en effet que des bactéries *E.coli* préalablement inactivées par rayonnement UV-C peuvent absorber des phages et répliquer ceux-ci. Plus la dose UV-C appliquée est élevée et moins les bactéries sont capables de répliquer ces phages. Ainsi, ils observent une relation entre la capacité de réplication des phages par les bactéries et la dose UV-C appliquée (Figure 62).



Figure 62 : Dépendance de la concentration en phages répliqués par E.coli en fonction de la dose UV-C appliquée après incubation de 18 h à 37 °C. P' étant la concentration en phages après incubation et Po la concentration initiale de phages inoculés avant incubation (Ben Said et al., 2010)

Cette relation met en évidence les capacités métaboliques des cellules en état VNC après un traitement UV-C. De plus, plus la dose UV-C est élevée, plus le nombre de cellules en état VNC capables de maintenir une telle activité est faible. Le nombre de phages répliqués par les bactéries soumises à 45 mJ/cm^2 est en effet 100 fois plus élevé que celui par les bactéries soumises à 120 mJ/cm^2 .

Ces informations peuvent être reliées avec les observations faites ici lors du traitement UV-C du merlot rouge. Il est en effet possible que des bactéries en état VNC aient subsisté suite aux traitements à 2610 et 3480 J/L. Ces bactéries auraient alors été non détectables lors des dénombrements sur milieu solide effectués immédiatement et 8 jours après traitements tandis que certaines d'entre elles seraient repassées en état viable et cultivable par la suite, recontaminant ainsi les cuves. Comme décrit précédemment, chaque type de microorganisme possède différents gènes qui lui permettent de réparer son ADN ou d'entrer en état VNC. Ces gènes varient suivant les souches et les espèces, il est par conséquent difficile de corréler ces résultats avec ceux obtenus en laboratoire. Des études complémentaires sont donc nécessaires afin d'établir un bilan sur les propriétés de chaque type de microorganismes rencontrés en œnologie.

Des analyses physico-chimiques (Tableau 28) sont réalisées au cours du temps suite aux traitements. Au niveau colorimétrique, les valeurs de L^{*}, a^{*} et b^{*} sont similaires pour les vins traités et les contrôles 7 mois après les traitements. Il en est de même pour les valeurs de teinte et d'intensité colorante modifiée (ICM). Les traitements UV-C ne montrent pas non plus d'impact sur les concentrations en composés phénoliques. L'IPT et la concentration en anthocyanes sont homogènes entre les différentes modalités.

Un dosage des esters est réalisé par chromatographie (SPME GC-MS) 6 mois après les traitements. La somme des concentrations de 4 groupes d'esters est présentée en Figure 63.



Figure 63 : Dosage des esters par chromatographie (GC-MS) sur le Bordeaux rouge 6 mois après traitements UV-C

Aucune différence significative n'est observée entre le contrôle 2 et les modalités UV-C 1740 et 2610. Considérant les analyses physico-chimiques réalisées ici, les traitements UV-C n'ont pas eu d'impact sur le merlot rouge.

Modalité	Contrôle 1 Contrôle 2			UV-C 1740			τ	JV-C 26	10	UV-C 3480					
Date	J +8	J+60	J+210	J+8	J+60	J+210	J+8	J+60	J+210	J+8	J+60	J+210	J+8	J+60	J+210
TAV ($\%$ vol)	$13,\!6$	$13,\!6$	-	13,60	$13,\!6$	-	13,60	$13,\!6$	-	13,60	$13,\!6$	-	13,60	$13,\!5$	-
рН	3,85	3,86	3,8	3,84	3,85	$3,\!79$	3,84	$3,\!91$	3,88	3,84	3,92	3,88	3,83	3,92	3,88
$\rm AT~(g/L~H_2SO_4)$	2,7	2,90	2,9	2,70	2,90	2,90	2,70	2,70	2,90	2,70	2,70	2,60	2,70	2,70	2,70
$AV (g/L H_2SO_4)$	0,48	0,48	-	$0,\!47$	0,48	-	$0,\!47$	$0,\!47$	-	$0,\!47$	$0,\!46$	-	0,48	$0,\!47$	-
SO2 Libre (mg/L)	26	26	29	27	22	16	25	22	16	24	22	16	23	22	16
SO2 Total (mg/L)	59	62	-	59	55	-	57	51	-	55	58	-	53	54	-
Turbidité NTU	23	59	13	25	112	19	26	80	12	24	40	11	23	43	10
IPT	56	53	54	56	52	53	56	56	54	56	55	55	55	55	54
Anthocyanes (mg/L)	415	432	368	413	435	347	410	433	363	408	416	371	404	420	353
ICM Corrigée	11,2	9,5	11,1	11,5	10,1	11,0	$11,\! 6$	10,4	10,9	$11,\!6$	$10,\!4$	11,1	11,6	10,5	11,0
Teinte Corrigée	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	$0,\!7$	0,7	0,8	$0,\!7$	0,7	0,8	0,7	0,7	0,8
L^*	$10,\!0$	11,1	69,6	9,5	11,3	69,7	8,8	9,3	70,2	9,2	9,3	69,9	9,0	9,2	70,1
a*	32,4	58,5	31,8	31,8	58,8	31,4	$_{30,9}$	56,1	29,6	31,4	55,8	29,7	31,1	$55,\!6$	29,3
b*	17,2	19,1	4,8	16,4	19,4	4,9	15,2	16,1	$5,\!4$	$15,\!8$	16,0	5,7	$15,\!4$	$15,\!9$	6,2

Tableau 28 : Analyses physico-chimiques sur bordeaux rouge suite aux traitements UV-C, 8, 60 et 210 jours après traitements

Enfin des analyses sensorielles sont menées, 6 mois après les traitements, en commençant par un examen descriptif préliminaire auprès de 11 dégustateurs. Les descripteurs et moyennes des résultats sont présentés en Figure 64. Aucune différence significative n'est observée ($\alpha = 5$ %) entre les trois modalités.



Figure 64 : Résultats des analyses sensorielles descriptives 6 mois après traitement UV-C du Bordeaux rouge

Par la suite, un test triangulaire mené sur 21 dégustateurs confirme l'absence de différences entre les modalités contrôle 2 et UV-C 1740 et 2610 (Tableau 29).

 $Tableau \ 29: résultats \ des \ tests \ triangulaires \ 20 \ mois \ après \ traitement \ UV-C \ du \ Bordeaux \ rouge$

Test this work is a	Nombre de	Réponses	Résultat
rest triangulaire	participants	positives	$(\alpha = 5\%)$
Contrôle 2 / UV-C 1740	21	6	NS
Contrôle 2 / UV-C 2610	21	11	NS

Les analyses sensorielles ne font pas apparaitre de différence significative entre les vins traités à 1740 et 2610 J/L et le vin non traité.

La stabilisation en réacteur UV-C hélicoïdal sur les vins rouges est la plus difficile étant donnée l'absorbance élevée de ces vins aux longueurs d'onde concernées (254 nm). Les optimisations hydrodynamiques du réacteur ont permis d'inactiver la totalité des bactéries et la majeure partie des levures indigènes présentes dans ce vin rouge en fin d'élevage sans impacter les qualités organoleptiques de celui-ci, jusqu'à 6 mois après les traitements. Cependant des réserves sont à émettre concernant la stabilité microbiologique dans le temps vis-à-vis des bactéries. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les conditions de passage d'un état viable et cultivable à un état viable non cultivable et inversement.

2.2.1 Cinétique de consommation d'oxygène

L'oxygène dissous dans le vin est progressivement consommé par divers substrats à des cinétiques différentes en fonction de nombreux paramètres. Ainsi, un vin saturé en oxygène, consomme cet oxygène en l'espace d'une à plusieurs semaines et sa vitesse de consommation dépend notamment de la température et du pH. Un vin serait ainsi capable de consommer de 10 à 100 fois la saturation (Singleton et al., 1987). Dans les vins rouges, les composés phénoliques sont les principaux consommateurs de l'oxygène dissous (64 %) tandis que d'autres corps peuvent prendre part à des réactions d'oxydation comme l'éthanol (23 %) et SO₂ (12 %) selon Chiciuc et al., (2010). Des études ont démontré un effet de destruction des polyphénols par le rayonnement UV-C (Volf et al., 2014).

Concernant le vin rouge traité par UV-C dans cette expérience, les analyses précédentes montrent que les polyphénols totaux ne sont pas affectés. Cependant, une modification de leur structure, indétectable par ces analyses, peut être envisagée. Ainsi, les cinétiques de consommation d'oxygène de vins témoins et traités par UV-C ont été étudiées dans cette partie afin d'identifier d'éventuelles modifications de la réactivité des polyphénols vis-à-vis de l'oxygène dissous.

Le merlot rouge et le sauvignon blanc sont traités dans le réacteur UV-C à 4800 J/L et 600 J/L respectivement. Ces doses sont choisies pour leur représentativité en matière de stabilisation microbiologique. Les vins sont ensuite saturés en oxygène par bullage

puis conservés dans un flacon de verre hermétique (flacon schott). La concentration en oxygène dissous est suivie au cours du temps par mesure optique non invasive via un capteur PreSens. Un vin contrôle non traité par UV-C est suivi en parallèle. Les cinétiques sont représentées pour le vin rouge (Figure 65) puis le vin blanc (Figure 66).



Figure 65 : Cinétiques de consommation de l'oxygène dans un vin rouge préalablement traité par UV-C à 4800 J/L et non traité



Figure 66 : Cinétique de consommation de l'oxygène dans un vin blanc préalablement traité par UV-C à 600 J/L et non traité

Les cinétiques de consommations entre les vins traités et non traités ne montrent pas de différences significatives. La réactivité des polyphénols dans ces vins vis-à-vis de l'oxygène dissous n'est donc pas affectée par le traitement UV-C dans les conditions de l'expérience.

Les résultats obtenus par Volf et al., (2014) font état de la destruction de certains polyphénols par le rayonnement UV-C. Cependant les conditions de leur étude sont différentes puisqu'ils traitent des solutions de polyphénols pures en réacteur batch pendant 480 min pour aboutir à une destruction de 100 % de la catéchine, 85 % de l'acide gallique et 50 % de l'acide vanillique. Ici, les traitements sont menés en réacteur continu et le vin est exposé pendant une durée de 30 secondes au maximum. De plus les auteurs prouvent que le milieu influe sur le taux de destruction, en montrant que l'ajout de certains composés antioxydants, comme l'acide citrique, diminue de moitié le taux de destruction de la catéchine après 90 min de traitement. Le vin étant un milieu très complexe, il est donc cohérent que les traitements menés dans cette étude n'entrainent pas de modification de l'activité des polyphénols. Cependant, des études plus approfondies de détermination d'éventuels changements structuraux seraient utiles pour confirmer ces résultats.

3 Stabilisation par UV-C de moûts blancs liquoreux en conditions semi-industrielles

Les vins blancs liquoreux sont des vins à forte teneur en sucres résiduels (< 45 g/L). Les raisins sont vendangés tardivement, souvent botrytisés, pour atteindre des concentrations en sucre élevées et donc le potentiel d'alcool nécessaire dans les vins (13 – 14 % vol) tout en gardant la teneur en sucres résiduels désirée suite à un arrêt de la fermentation. Cet arrêt de fermentation (mutage) est traditionnellement effectué par un soutirage de la biomasse levurienne et un passage au froid combiné avec un ajout de SO₂ (10 à 30 g/hL). La règlementation impose que la concentration en SO₂ total soit inférieure à 250 mg/L. Ces vins sont donc connus pour leur forte concentration en dioxyde de soufre. L'objectif est ici de proposer une alternative au mutage par SO₂ grâce au mutage par UV-C afin de permettre une réduction significative des concentrations en SO₂ total dans les vins finis. L'impact sur traitement par UV-C sur les vins sera analysé au cours du temps d'un point de vie physico-chimique et sensoriel.

3.1 Mutage par UV-C d'un moût blanc liquoreux AOP Monbazillac

Un premier essai de mutage est mené sur un moût blanc liquoreux AOP Monbazillac. Cinq modalités de traitement sont programmées. Un premier contrôle (Contrôle 1) non traité par UV-C est muté par ajout de 16 g/hL de SO₂, concentration classiquement utilisée lors du mutage de ce moût par la propriété. Un second contrôle (Contrôle 2) non traité par UV-C est muté par ajout de 13 g/hL de SO₂, concentration réduite pour accompagner les traitements UV-C. Ensuite une série de trois traitements par UV-C (870, 1740 et 2610 J/L) sont réalisés avant l'ajout de la dose réduite de 13 g/hL de SO₂. Chaque modalité est conservée dans une cuve inox de 30 L. Le débit de traitement est de 200 L/h.

Le Tableau 30 référence les cinq modalités ainsi que l'élévation de concentration en oxygène dissous (initialement de 0,19 mg/L) et l'élévation de la température (initialement de 10° C) associées.

Tablea	u 30 :	Liste	des	modalite	és de tr	aitemen	t UV-C et	élévati	on de	la ten	npérature	et d	le la
c	oncen	tration	en	oxygène	dissous	lors de	s traiteme	nts sur	moût	AOP	Monbazil	lac	

			Elévation	Elévation de
Moût	Modalités	Dose UV-C (J/L)	Oxygène dissous	température du
			$({ m mg/L})$	vin
	Contrôle 1	-	+ 0.05	$+ 0^{\circ}C$
AOP	Contrôle 2	-	+ 0.05	$+ 0^{\circ}C$
Monbazillac	UV-C 870	870	+ 0,01	+ 3 °C
(1600 NTU)	UV-C 1740	1740	+ 0,00	+ 2 °C
	UV-C 2610	2610	+ 0,01	$+ 2^{\circ}C$

Avec une moyenne de + 2 °C par tranches de de 870 J/L, le traitement est considéré comme athermique. Les cuves étant inertées, l'augmentation de la concentration en oxygène dissous est faible malgré la marge de progression possible dans ce domaine comme décrit précédemment.

Des dénombrements en levures totales sont réalisés immédiatement après traitements puis 1 et 8 jours après traitements et sulfitages (Figure 67).



Figure 67 : Dénombrements en levures totales après traitement UV-C pour mutage du blanc liquoreux Monbazillac immédiatement, 1 et 8 jours après traitement

Dès la dose de 870 J/L une inactivation totale des levures est observée. Aucune reprise de croissance n'est observée 8 jours après les traitements. Les modalités de contrôle

mutées par SO_2 montrent aussi une inactivation totale des levures après 8 jours. Des analyses physico-chimiques classiques ont été réalisées sur les modalités de contrôles et UV-C, 1, 8 et 90 jours après traitements (Tableau 31). Aucun changement significatif n'est détecté lors de ces analyses.

En parallèle, des échantillons de moûts non sulfités (NS) après traitement UV-C ont été conservés à deux températures (16 et 25 °C) afin de vérifier si la fermentation se poursuit en l'absence de SO₂ et si la température a un impact sur la reprise ou non de la fermentation. Un dénombrement en levures totales est réalisé après 8 jours sur ces échantillons non sulfités et aucune levure viable n'est détectée. Un suivi cinétique du titre alcoométrique est aussi réalisé afin de contrôler si la fermentation se poursuit (Figure 68).



Figure 68 : Cinétiques du titre alcoométrique en fonction du temps des échantillons non sulfités de moût liquoreux monbazillac mutés par UV-C

Malgré le comptage sur milieu solide indiquant l'absence de levures (< 1 UFC/mL), le TAV augmente de 11 points suite au traitement à 870 J/L, de 8 points suite au traitement à 1740 J/L et de 5 points suite au traitement à 2610 J/L. L'augmentation se fait dans les 8 premiers jours après traitement et se stabilise par la suite. La Figure 68 montre de plus que plus la dose UV-C est élevée, moins le TAV augmente. Il existe donc un lien entre la dose de traitement et l'accroissement du TAV suite au

traitement. Ce qui indique que la fermentation se poursuit malgré l'absence de levures viables et cultivables. L'hypothèse principale pouvant expliquer ce résultat est la présence de levures viables non cultivables (VNC) pendant les 8 premiers jours après le traitement UV-C. Cet état, pouvant être induit par un stress ou des dommages à la cellule, empêche celle-ci de se multiplier et donc d'être détectée lors des comptages sur milieu solide malgré sa survie. Le traitement UV-C pourrait endommager l'ADN sans pour autant détruire complètement la cellule qui conserve alors des capacités métaboliques sur quelques jours. A partir d'un certain seuil, la dose UV-C serait suffisante pour inactiver totalement les cellules viables et cultivables (VC) mais engendrerait des cellules dans un état VNC. L'augmentation graduelle de la dose UV-C menant à l'augmentation de la mortalité immédiate des cellules, quel que soit leur état. Des expériences complémentaires seront menées afin de confirmer ce résultat.

Modalité	C	Contrôle	1	Contrôle 2		UV-C 870			U	V-C 17	40	UV-C 2610			
Date	J + 1	J + 8	J + 90	J + 1	J + 8	J + 90	J + 1	J + 8	J + 90	J + 1	J + 8	J + 90	J + 1	J + 8	J + 90
TAV (% vol)	13,90	13,75	13,7	$13,\!95$	$13,\!75$	13,75	$13,\!95$	13,8	13,8	13,90	13,8	13,8	$13,\!95$	13,7	13,35
Glucose + Fructose (g/L)	71	70	-	70	68	-	70	67	-	70	69	-	69	67	-
	3,30	3,40	3,2	3,40	3,40	3,2	3,40	3,3	3,2	3,30	3,3	3,2	3,40	3,4	3,2
pН	3,75	$3,\!78$	3,83	3,74	3,76	3,83	3,75	3,79	3,82	3,78	3,76	3,83	3,75	3,76	3,82
$\begin{array}{l} Acidité \ volatile \\ (g/L \ d'H_2SO_4) \end{array}$	0,43	0,43	0,42	0,43	0,43	0,42	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,42	0,43	0,43	0,41
${\rm SO}_2$ libre (mg/L)	63	63	41	38	35	21	47	36	23	41	36	24	34	36	24
${\rm SO}_2$ total (mg/L)	219	214	212	172	168	170	187	177	183	180	173	184	190	172	180
Turbidité (NTU)	821	51	-	682	7	-	570	12	-	592	10	-	630	18	-
DO 320	-	3,91	-	-	3,87	-	-	3,75	-	-	3,63	-	-	$3,\!59$	-
DO 420	0,141	0,109	0,095	0,169	0,115	0,102	0,174	0,119	0,099	0,161	0,113	0,095	0,156	0,115	0,088
IPT	-	7	-	-	6	-	-	6	-	-	6	-	-	6	-

 $Tableau \ 31: Analyses \ physico-chimiques \ suite \ aux \ traitements \ UV-C \ du \ moût \ AOP \ Monbazillac \ a \ J+1, \ J+8 \ et \ J+90$

Enfin des analyses sensorielles sont menées en commençant par un examen descriptif préliminaire auprès de 11 dégustateurs afin d'avoir un aperçu global de l'évolution des vins mutés par UV-C en comparaison avec les vins non traités. Les descripteurs ont été choisis pour leur représentativité en matière de description des vins blancs liquoreux. Les notes moyennes associées à chaque descripteur sont présentées en Figure 69. Aucune différence significative n'est observée (ANOVA $\alpha = 5$ %) entre les trois modalités.



Figure 69 : Résultats des analyses sensorielles descriptives des blancs liquoreux AOP Monbazillac mutés par UV-C et non traités

Par la suite, un test triangulaire mené sur 21 dégustateurs confirme l'absence de différences entre les modalités contrôle 2 et UV-C 1740 et 2610 (Tableau 31).

Tableau 32 : Résultats des tests triangulaires 20 mois après traitement UV-C du blanc liquoreux Monbazillac muté par UV-C

Test this work is	Nombre de	Réponses	\mathbf{R} ésultat	
rest triangulaire	participants	$\operatorname{positives}$	$(\alpha {=} 5\%)$	
Contrôle 2 / UV-C 1740	21	7	NS	
Contrôle 2 / UV-C 2610	21	9	NS	

Le mutage du moût blanc liquoreux en fermentation est donc possible grâce au réacteur UV-C hélicoïdal. Les levures viables et cultivables ont été totalement inactivées dès 870 J/L. Cependant l'étude de cuves non sulfitées après traitements UV-C a montré une augmentation du titre alcoométrique malgré l'absence de levures viables et cultivables sur milieu solide. Le titre alcoométrique augmente d'autant plus que la dose UV-C appliquée lors du mutage est faible. Ces résultats pourraient donc indiquer la présence de levures dans un état VNC, qui conservent des capacités métaboliques. L'addition d'une quantité minimale de SO₂ serait donc nécessaire après mutage par UV-C. Les analyses physico-chimiques et sensorielles n'ont pas montré de différences significatives entre les modalités contrôle et UV-C, ce qui tend à montrer que ces traitements n'ont pas impacté les qualités organoleptiques du vin blanc liquoreux Monbazillac.

3.2 Mutage par UV-C d'un moût blanc liquoreux AOP Pacherenc-du-Vic-Bilh

Un second essai de mutage est mené sur un moût AOP Pacherenc-du-vic-bilh afin de confirmer les résultats précédents. Cinq modalités de traitement sont programmées. Un premier contrôle (Contrôle 1) non traité par UV-C est muté par ajout de 15 g/hL de SO₂, qui correspond à la concentration classiquement utilisée par la propriété. Un second contrôle (Contrôle 2) non traité par UV-C est muté par ajout de 12 g/hL de SO₂, qui correspond à une concentration réduite, pour accompagner les traitements UV-C. Ensuite une série de trois traitements par UV-C (580, 1160 et 1740 J/L) sont réalisés avant l'ajout de 12 g/hL de SO₂. Chaque modalité est conservée dans une cuve inox de 30 L. Le pilote est configuré avec deux lampes en série, fournissant une dose de 580 J/L à chaque passage dans le réacteur. Trois passages sont donc nécessaires pour couvrir la gamme d'intensités désirées.

Le Tableau 33 référence les cinq modalités ainsi que l'élévation de concentration en oxygène dissous (initialement de 0,17 mg/L) et l'élévation de la température (initialement de 7°C) associées. Avec une moyenne de + 2,5 °C par passages de 580 J/L le traitement est considéré comme athermique. Les cuves étant inertées, l'augmentation de la concentration en oxygène dissous est faible malgré la marge de progression possible dans ce domaine comme décrit précédemment.

$Tableau\ 33$: Liste des modalités de traitement UV-C et élévation de la température et de l	la
concentration en oxygène dissous lors des traitements sur moût AOP Pacherenc-du-Vic-Bil	h

Moût	Modalités	Dose UV-C (J/L)	Elévation Oxygène dissous (mg/L)	Elévation de température du vin (°C)
	Contrôle 1	-	0,64	$+ 0,3^{\circ}C$
AOP	Contrôle 2	-	$0,\!22$	$+ 0,3^{\circ}C$
Pacherenc	UV-C 580	580	0,06	+ 3 °C
du Vic-Bilh	UV-C 1160	1160	$0,\!62$	+ 2,6 °C
	UV-C 1740	1740	$0,\!11$	$+ 2,1^{\circ}C$

Des dénombrements des levures totales sont réalisés immédiatement après traitements puis 10 et 20 jours après traitements et sulfitages (Figure 70). Contrairement au



mutage du précédent moût Monbazillac, l'inactivation des levures est ici plus progressive avec l'augmentation de la dose UV-C tandis qu'elle est totale à 1740 J/L.

Figure 70 : Dénombrements levures totales sur les moûts AOP Pacherenc-du-Vic-Bilh immédiatement après traitements UV-C, 10 et 20 jours après sulfitage

Les moûts sont mutés après traitement par ajout de 12 g/hL de SO₂. Il est possible de constater que 10 jours après mutage « le contrôle 2 » non traité par UV-C contient encore une faible concentration de levures (50 UFC/mL). Après 20 jours, les dénombrements montrent que la population de levures est totalement inactivée dans toutes les modalités.

En parallèle, des dénombrements sont effectués sur des cuves contenant ces mêmes moûts non sulfités après traitements UV-C et stockées à deux températures (16 et 25 °C) afin de vérifier si la fermentation se poursuit en l'absence de SO₂ (Figure 71). Le moût traité à 580 J/L contenant 10^4 UFC/mL conserve sa population résiduelle après 12 jours, sans que la croissance ne reprenne significativement. Le moût traité à 1160 J/L contenant 10^2 UFC/mL voit sa population se réduire à 10 UFC/mL voire même inactivée complètement après 12 jours à 25 °C. Une absence totale de levures est constatée sur le moût traité à 1740 J/L après 12 jours à 16 et 25 °C. Ces résultats montrent que la croissance des levures viables et cultivables ne reprend pas après mutage par UV-C des moûts en fermentation en l'absence de SO₂.



Figure 71 : Dénombrements en levures totales sur les moûts blancs liquoreux AOP Pacherencdu-vic-bilh traités par UV-C et non sulfités immédiatement, 5 et 12 jours après traitement, conservés à 16 et 25 °C



Figure 72 : Cinétiques du titre alcoométrique en fonction du temps des échantillons non sulfités de moût liquoreux AOP Pacherenc-du-vic-bilh mutés par UV-C

	Contrôle 1		Contrôle 2		UV-C 580		UV-C 1160		UV-C 1740	
	J+11	J+90	J+11	J+90	J+11	J+90	J+11	J+90	J+11	J+90
TAV (% vol)	12,10	12,3	12,25	12,25	12,30	12,25	12,30	12,25	12,30	12,25
Glucose + Fructose (g/L)	80	-	82	-	81	-	83	-	83	-
$\begin{array}{l} Acidité \ totale \\ (g/L \ d'H_2SO_4) \end{array}$	$5,\!00$	4,6	4,90	4,7	5,00	4,7	5,00	4,8	5,00	4,7
рН	3,12	3,16	3,11	3,19	3,09	3,15	3,10	3,14	3,09	3,14
$\begin{array}{l} Acidité \ volatile \\ (g/L \ d'H_2SO_4) \end{array}$	0,60	0,59	0,62	0,58	0,60	0,58	0,59	$0,\!59$	0,60	0,6
SO_2 libre (mg/L)	57	47	37	31	43	32	40	31	39	31
${\rm SO}_2$ total (mg/L)	185	180	157	146	167	151	161	146	161	148
Turbidité (NTU)	116	-	53	-	29	-	29	-	46	-
IPT	11	-	11	-	11	-	11	-	11	-
DO 420	0,152	0,091	0,158	0,106	0,132	0,109	0,142	0,097	0,141	0,096
DO 320	$9,\!15$	-	$9,\!15$	-	9,10	-	9,07	-	9,03	-

 $Tableau \ 34: Analyses \ physico-chimiques \ suite \ aux \ traitements \ UV-C \ et \ sulfitages \ du \ mout \ AOP \ Pacherenc-du-Vic-Bilh \ a \ J+11 \ et \ J+90$
Le suivi cinétique du titre alcoométrique des moûts traités par UV-C non sulfités montre une nouvelle fois une augmentation de ce titre notamment les 15 premiers jours après traitements (Figure 72). La relation observée entre la dose UV-C appliquée lors du mutage et l'augmentation du titre alcoométrique n'est toutefois pas observé comme lors du mutage du moût Monbazillac. Un dosage du glucose / fructose est réalisé en parallèle de ce suivi cinétique (Figure 73) afin de lier cette augmentation du TAV avec une éventuelle consommation de sucres par les levures, signe de la poursuite de la fermentation.



Figure 73 : Dosage du glucose / fructose dans les moûts blancs liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh non sulfités après mutage par UV-C immédiatement, 5 et 12 jours après traitement, conservés à 16 et 25 °C

Les résultats montrent une diminution de la concentration en fonction du temps. La diminution est d'autant plus élevée (- 26 g/L) que la dose UV-C est faible (580 J/L) lorsqu'elle atteint uniquement – 15 g/L quand la dose UV-C est élevée (1740 J/L). Ce qui parait normal compte tenu du nombre de levures viables et cultivables restantes dans les moûts traités aux doses les plus faibles (580 et 1160 J/L en Figure 71). A 1740 J/L une diminution du glucose / fructose et une augmentation du titre alcoométrique sont observées malgré l'absence de levures viables et cultivables sur milieu solide (< 1 UFC/mL). Ces résultats tendent à confirmer les hypothèses formulées lors de l'essai précédent à propos d'une éventuelle poursuite de la fermentation par des levures en

état VNC. Le ratio de la concentration initiale en sucres résiduels sur la concentration 35 jours après traitement et stockage à 25 °C est représenté Figure 74. Il est possible d'observer une relation linéaire ($\mathbb{R}^2 = 0.998$) entre les deux variables. Ce qui signifie donc que le taux de levures en état VNC capable de maintenir une activité fermentaire est directement lié à la dose UV-C appliquée lors du mutage par UV-C.



Figure 74 : Ratio de concentration initiale en sucres résiduels sur la concentration 35 jours après les traitements UV-C en fonction de la dose UV-C

Il est à noter que la cinétique de consommation du sucre n'est toutefois pas comparable à celle d'une fermentation alcoolique classique puisqu'elle est 20 fois plus lente après le mutage par UV-C (13 g/L/jour lors de la fermentation alcoolique contre 0,5 g/L/jour après mutage UV-C à 1740 J/L). Cette observation signifie que le nombre de levures capables de maintenir une activité métabolique est faible. Des observations en en microscopie à fluorescence seraient souhaitables puisque cette technique permet d'observer de manière qualitative des populations de cellules viables (cultivables et non cultivables). En comparaison avec la méthode de comptage de cellules viables et non cultivables sur milieu solide, il serait alors possible de dénombrer ces levures viables non cultivables et à défaut, avoir un aperçu qualitatif de la situation.

Enfin des analyses sensorielles sont menées en commençant par un examen descriptif préliminaire auprès de 11 dégustateurs. Les descripteurs et moyennes des résultats sont présentés en Figure 75. Aucune différence significative n'est observée ($\alpha = 5$ %) entre les trois modalités.



Figure 75 : Résultats des analyses sensorielles descriptives 18 mois après traitement UV-C du blanc liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh muté par UV-C

Par la suite, un test triangulaire mené sur 21 dégustateurs confirme l'absence de différences entre les modalités contrôle 2 et UV-C 1160 et 1740 (Tableau 35). De plus, des analyses physico-chimiques (Tableau 34) ont été réalisées 11 et 90 jours après les traitements et n'ont pas montré de différences significatives entre les traitements.

Tableau 35 : Résultats des tests triangulaires 20 mois après traitement UV-C du blanc liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh muté par UV-C

Test triangulaire	Nombre de	Réponses	Résultat
	participants	$\operatorname{positives}$	$(\alpha {=} 5\%)$
Contrôle 2 / UV-C 1160	21	8	NS
Contrôle 2 / UV-C 1740	21	7	NS

Les résultats des analyses tendent donc à montrer que ces traitements n'ont pas impacté les qualités organoleptiques du vin blanc liquoreux Pacherenc-du-vic-bilh. Cependant, la faible poursuite de la fermentation, probablement due à la présence de levures en état VNC, montre que l'addition de SO₂ est indispensable après mutage par UV-C.

4 Conclusion

La stabilisation microbiologique des liquides par rayonnement UV-C est une technologie déjà existante mais jusqu'à récemment, limitée aux liquides peu absorbants. En effet, la profondeur de pénétration dans ces liquides est excessivement faible comparé à l'eau ou l'air. La réduction de la profondeur de pénétration signifie que l'épaisseur de liquide dans laquelle l'inactivation se produit est d'autant réduite. Dans les vins, cette épaisseur varie de 0,2 cm pour les vins les moins absorbants tels que les vins blancs, jusqu'à 0,02 cm seulement pour les vins plus absorbants, tels que les vins rouges. Quelques études ont été menées sur la stabilisation des moûts et des vins par UV-C mais le réacteur annulaire turbulent utilisé n'a permis de stabiliser que les vins les moins absorbants. Les doses UV-C élevées utilisées pour stabiliser les vins rouges ont pu engendrer des modifications au niveau physico-chimique et organoleptique. Une optimisation des photo-réacteurs était donc nécessaire pour favoriser la mise en contact d'un liquide absorbant avec la source de lumière afin de parvenir à stabiliser les vins les plus absorbants avec la dose UV-C la moins élevée possible.

Après analyse de la littérature, le réacteur UV-C hélicoïdal a été considéré. Le principe de ce réacteur est une circulation du liquide à traiter dans une conduite transparente enroulée autour d'une lampe UV-C. Lorsque les paramètres hydrodynamiques sont adaptés, le liquide forme des vortex de Dean, qui peuvent favoriser la mise en contact du liquide avec le rayonnement. Ainsi, un réacteur UV-C hélicoïdal a été développé au laboratoire dans l'optique d'une stabilisation microbiologique des moûts et des vins.

Ce réacteur a été conçu dans le respect des paramètres hydrodynamiques permettant la formation de vortex de Dean, et dans une optique de traitement à échelle laboratoire et semi-industrielle. Le réacteur a été ensuite caractérisé par une expérience d'actinométrie, qui a permis de connaitre la dose réellement appliquée au liquide. De plus, cette expérience a aussi permis d'établir une relation entre le nombre de Reynolds et l'homogénéité de répartition du rayonnement dans un liquide absorbant. Un modèle décrivant les pertes de charges dans ce type de réacteur a été établi, permettant la conception de nouveaux réacteurs à des fins d'optimisation énergétique.

Les différences d'absorbances entre des vins blancs (5 cm⁻¹), rosés (8 cm⁻¹), liquoreux (15 cm^{-1}) et rouges (45 cm⁻¹) ont été mesurées et une relation linéaire entre l'absorbance et la dose UV-C nécessaire pour une inactivation comparable a été établie, soulignant l'effet ce paramètres malgré l'homogénéité supposée du traitement lors de la

caractérisation du réacteur par actinométrie. Les doses UV-C nécessaires à l'inactivation totale de *B.bruxellensis* et *A.aceti* ont été déterminées comme 25 et 60 % plus faibles que pour *S.cerevisiae*. Des études complémentaires sont cependant nécessaires pour déterminer les doses UV-C nécessaires pour chaque type de microorganismes rencontrés en œnologie.

Des essais à échelle semi-industrielle ont ensuite été conduits. L'élevage des vins étant une étape où la dérive microbiologique impose parfois un apport conséquent de SO_2 , des essais de stabilisation d'un sauvignon blanc et d'un merlot rouge en élevage ont montré que le réacteur UV-C hélicoïdal pouvait permettre de stabiliser efficacement ces vins sans alterner leurs propriétés physico-chimiques et sensorielles, même après plusieurs mois de conservation. Le mutage des moûts blancs liquoreux étant aussi une étape de la vinification qui implique un apport de SO_2 important, des essais de stabilisation ont été réalisés sur des moûts sémillon et gros manseng. Le mutage total a été obtenu suite aux traitements et les analyses ont montré que le traitement n'avait pas d'impact significatif d'un point de vue physico-chimique et sensoriel sur les vins. Cependant, des bactéries et levures en état viable mais non cultivables ont été supposées à deux reprises suite aux traitements UV-C. Ainsi, des études complémentaires sont nécessaires afin de préciser les conditions pour lesquelles ce comportement est observé.

Pour finir, le bilan énergétique du procédé est particulièrement intéressant. Avec une consommation de 0,007 à 0,016 kWh/L, la stabilisation en réacteur UV-C hélicoïdal représente une économie de 20 à 60 % par rapport à une flash pasteurisation. Des optimisations dans la conception du réacteur, vis-à-vis des pertes de charges notamment, pourraient encore améliorer ce résultat.

Conclusion générale et perspectives

Des procédés innovants de stabilisation microbiologique ont été étudiés dans une optique de réduction des intrants chimiques, et notamment du SO2, mais aussi dans une optique d'amélioration globale de la qualité des vins

Chauffage ohmique : stabilisation microbiologique des vins en élevage et mutage des moûts blancs liquoreux

Dans ce contexte, le chauffage ohmique a été étudié et appliqué pour la première fois à plusieurs étapes de la vinification. Ce procédé, basé sur le principe de Joule, combine un effet thermique et un effet de perméabilisation des membranes cellulaires. Concernant l'utilisation du chauffage en alternative au mutage par SO₂ des moûts blancs liquoreux et à la flash pasteurisation des vins rouges en élevage, le procédé a permis d'inactiver totalement et durablement les levures et bactéries lors de traitements à 60 et 72 °C pendant 15 secondes. Les performances de stabilisation observées à 60 °C, grâce à la combinaison de l'homogénéité de chauffe et des effets d'électroporation sur les membranes cellulaires des microorganismes, peuvent permettre une diminution des couts énergétiques non négligeable (- 17 %) par rapport aux traitements thermiques traditionnels réalisés à 72 °C. Les analyses physico-chimiques et sensorielles n'ont pas montré de différences significatives entre les vins traités par chauffage ohmique et les vins non traités. Cependant, des études complémentaires sont nécessaires afin de connaitre l'impact du traitement sur différentes matrices. Cependant, ces premiers résultats sont encourageants pour le traitement des dérives microbiologiques durant l'élevage des vins rouges et le mutage des vins liquoreux qui sont des étapes de la vinification nécessitant des apports importants de SO₂.

Chauffage ohmique : stabilisation microbiologique et extraction des composés phénoliques d'intérêt à la réception de la vendange

Concernant l'extraction des contenus phénoliques des moûts de raisin rouge avant fermentation alcoolique, les résultats obtenus montrent qu'en plus des effets thermiques, les effets électriques permettent une libération immédiate de ces composés en comparaison avec les traitements thermiques traditionnels (+ 100 %). Ce résultat est donc particulièrement intéressant dans l'objectif d'une vinification en phase liquide. Les concentrations en composés phénoliques sur les vins finis issus de ces moûts sont comparables avec celles observées suite aux traitements thermiques traditionnels (+ 10 à 30 % par rapport aux vins issus de moûts non traités). De plus, une augmentation notable (de 30 à 200 %) des concentrations de certains esters est observée dans les vins finis issus des moûts traités par chauffage ohmique en comparaison avec les vins non traités ou traités en chauffage conventionnel. Les effets d'électroporation peuvent donc permettre un taux d'extraction des composés précurseurs à la formation des esters supérieurs à ceux obtenus par chauffage conventionnel. Devant la variabilité des caractéristiques physiques et chimiques des raisins issus de différents cépages et terroirs, des expériences supplémentaires sont à prévoir afin d'appréhender plus amplement les mécanismes d'extraction par chauffage ohmique des composés phénoliques et des précurseurs.

Stabilisation microbiologique en réacteur UV-C hélicoïdal : développement et essais préliminaires

La stabilisation microbiologique des liquides par rayonnement UV-C est une technologie déjà existante mais jusqu'à récemment, limitée aux liquides peu absorbants. En effet, la profondeur de pénétration dans ces liquides est excessivement faible comparé à l'eau ou l'air. La réduction de la profondeur de pénétration signifie que l'épaisseur de liquide dans laquelle l'inactivation se produit est d'autant réduite. Dans les vins utilisés lors de cette étude, celle-ci varie de 0,2 cm pour les vins les moins absorbants tels que les vins blancs, jusqu'à 0,02 cm seulement pour les vins plus absorbants, tels que les vins rouges. Des évolutions récentes dans la conception des réacteurs UV-C ont permis d'adapter ce procédé aux liquides absorbants. Ainsi, le principe du réacteur UV-C hélicoïdal est de favoriser la mise en contact du liquide avec la lampe en créant de la « turbulence », autrement appelée «vortex de Dean», dans la conduite. Lors de ce travail, l'étude des propriétés hydrodynamiques de ces réacteurs a permis d'optimiser les paramètres de construction et de fonctionnement et d'aboutir au développement d'un réacteur capable de traiter de manière homogène des liquides absorbants dans l'optique d'une stabilisation microbiologique des moûts et des vins. Des études ont ensuite été menées en laboratoire et ont permis de sélectionner les doses UV-C à appliquer dans le réacteur UV-C hélicoïdal en fonction du type de matrice et du type de microorganismes à inactiver. L'absorbance de vins blanc, rosé, liquoreux et rouge a été reliée directement à la dose UV-C nécessaire pour un taux inactivation comparable. Aussi, la résistance au traitement de différents microorganismes a été mesurée. Les doses UV-C nécessaires à l'inactivation totale de B.bruxellensis et A.aceti ont été déterminées comme 25 et 60 % plus faibles que pour S. cerevisiae. Des études

complémentaires sont cependant nécessaires pour déterminer les doses UV-C nécessaires pour chaque type de microorganismes rencontrés en œnologie.

Stabilisation microbiologique en réacteur UV-C hélicoïdal : essais à échelle semi-industrielle

Des essais à échelle semi-industrielle ont ensuite été conduits. L'élevage des vins étant une étape où la dérive microbiologique impose parfois un apport conséquent de SO_2 , des essais de stabilisation d'un sauvignon blanc et d'un merlot rouge en élevage ont montré que le réacteur UV-C hélicoïdal pouvait permettre de stabiliser efficacement ces vins sans altérer leurs propriétés physico-chimiques et sensorielles, même après plusieurs mois de conservation. Le mutage des moûts blancs liquoreux étant aussi une étape de la vinification qui implique un apport de SO_2 important, des essais de stabilisation ont été réalisés sur des moûts sémillon et gros manseng. Le mutage total a été obtenu suite aux traitements et les analyses ont montré que le traitement n'avait pas d'impact significatif d'un point de vue physico-chimique et sensoriel sur les vins. Cependant, des bactéries et levures en état viable mais non cultivables ont été supposées à deux reprises suite aux traitements UV-C. Ainsi, des études complémentaires sont nécessaires afin de préciser les conditions pour lesquelles ce comportement est observé.

Pour conclure, le bilan énergétique du procédé est particulièrement intéressant puisque les énergies calculées ici sont inférieures à toutes celles des autres traitements physiques de stabilisation utilisés actuellement en œnologie (jusqu'à 60 % par rapport à une flash pasteurisation). De plus, des optimisations en matière de conception du système sont possibles, par exemple grâce à l'utilisation de lampes de type excimère. Ces lampes, dont le rapport taille / puissance est nettement plus élevé que celui des lampes à vapeur de mercure utilisées dans cette étude, pourraient permettre de réduire de manière significative les pertes de charge observées dans le système suite à la réduction de la longueur de la conduite nécessaire à l'application des doses UV-C déterminées. Aussi, de nouvelles géométries de réacteurs, avec des enroulements de plus gros diamètres (mais de rapport diamètre conduite / diamètre enroulement adapté) autour de multiples lampes ou de lampes plus puissantes pourraient permettre une réduction supplémentaire du cout énergétique du procédé.

Les utilisations possibles des procédés étudiés dans la chaine de vinification ainsi que leurs avantages sont récapitulés dans un schéma (Figure 76).



Figure 76 : Schéma récapitulatif sur l'utilisation et les avantages des procédés de stabilisation microbiologique étudiés

Bibliographie

- Alothman, M., Bhat, R., Karim, A.A., 2009. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 10, 512–516.
- Antalick, G., Perello, M.-C., de Revel, G., 2010. Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine esters by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. Food Chem. 121, 1236–1245.
- Bandla, S., 2010. Design of Dean flow ultraviolet (UV) reactors and testing their efficacy for inactivation of Escherichia coli W 1485 and Bacillus cereus spores in milk. Southern Illinois University at Carbondale.
- Bandla, S., Choudhary, R., Watson, D.G., Haddock, J., 2012. UV-C treatment of soymilk in coiled tube UV reactors for inactivation of Escherichia coli W1485 and Bacillus cereus endospores. LWT - Food Sci. Technol. 46, 71–76.
- Baysal, A.H., Molva, C., Unluturk, S., 2013. UV-C light inactivation and modeling kinetics of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in white grape and apple juices. Int. J. Food Microbiol. 166, 494–498.
- Ben Said, M., Masahiro, O., Hassen, A., 2010. Detection of viable but non cultivable Escherichia coli after UV irradiation using a lytic $Q\beta$ phage. Ann. Microbiol. 60, 121–127.
- Benítez, P., Castro, R., García Barroso, C., 2003. Changes in the Polyphenolic and Volatile Contents of "Fino" Sherry Wine Exposed to Ultraviolet and Visible Radiation during Storage. J. Agric. Food Chem. 51, 6482–6487.
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., Robinson, R.K., 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry–a critical review. J. Sci. Food Agric. 80, 637–645.
- Birrell, G.W., Giaever, G., Chu, A.M., Davis, R.W., Brown, J.M., 2001. A genomewide screen in Saccharomyces cerevisiae for genes affecting UV radiation sensitivity. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98, 12608–12613.
- Bkowska, A., Kucharska, A.Z., Oszmiański, J., 2003. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex. Food Chem. 81, 349–355.

- Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I.D., Inglis, D., Pickering, G.J., 2010. Effect of light and temperature on 3-alkyl-2-methoxypyrazine concentration and other impact odourants of Riesling and Cabernet Franc wine during bottle ageing. Food Chem. 119, 935–944.
- Bolton James R., Linden Karl G., 2003. Standardization of Methods for Fluence (UV Dose) Determination in Bench-Scale UV Experiments. J. Environ. Eng. 129, 209–215.
- Castro, I., Teixeira, J.A., Salengke, S., Sastry, S.K., Vicente, A.A., 2004. Ohmic heating of strawberry products: electrical conductivity measurements and ascorbic acid degradation kinetics. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 5, 27–36.
- Cheftel, J.C., 1995. Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. Food Sci. Technol. Int. 1, 75–90.
- Chiciuc, I., Farines, V., Mietton-Peuchot, M., Devatine, A., 2010. Effect of Wine Properties and Operating Mode upon Mass Transfer in Micro-Oxygenation. Int. J. Food Eng. 6.
- Cleaver, J.E., 1978. DNA repair and its coupling to DNA replication in eukaryotic cells. Biochim. Biophys. Acta BBA Rev. Cancer 516, 489–516.
- Colombié, S., Malherbe, S., Sablayrolles, J.-M., 2007. Modeling of heat transfer in tanks during wine-making fermentation. Food Control 18, 953–960.
- Colombie, S., Malherbe, S., Sablayrolles, J.-M., 2007. Modeling of heat transfer in tanks during wine-making fermentation. Food Control 18.
- Costa, A., Barata, A., Malfeito-Ferreira, M., Loureiro, V., 2008. Evaluation of the inhibitory effect of dimethyl dicarbonate (DMDC) against wine microorganisms. Food Microbiol. 25, 422–427.
- Darvishi, H., Khostaghaza, M.H., Najafi, G., 2013. Ohmic heating of pomegranate juice: Electrical conductivity and pH change. J. Saudi Soc. Agric. Sci. 12, 101– 108.
- Davaux, F., Houbart, C., Carrère, M., 2011. Les UV-C: une alternative à la stabilisation microbiologique des moûts et des vins. Rev. Oenologues Tech. Vitivinic. Oenologicques Mag. Trimest. Inf. Prof. 38, 32–35.
- de Souza, P.M., Müller, A., Fernández, A., Stahl, M., 2014. Microbiological efficacy in liquid egg products of a UV-C treatment in a coiled reactor. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 21, 90–98.

- Dean, W.R., Hurst, J.M., 1959. Note on the motion of fluid in a curved pipe. Mathematika 6, 77.
- Delsart, C., Cholet, C., Ghidossi, R., Grimi, N., Gontier, E., Gény, L., Vorobiev, E., Mietton-Peuchot, M., 2014. Effects of Pulsed Electric Fields on Cabernet Sauvignon Grape Berries and on the Characteristics of Wines. Food Bioprocess Technol. 7, 424–436.
- Delsart, C., Ghidossi, R., Poupot, C., Cholet, C., Grimi, N., Vorobiev, E., Milisic, V., Peuchot, M.M., 2012. Enhanced Extraction of Phenolic Compounds from Merlot Grapes by Pulsed Electric Field Treatment. Am. J. Enol. Vitic. 63, 205–211.
- Delsart, C., Grimi, N., Boussetta, N., Miot Sertier, C., Ghidossi, R., Vorobiev, E., Mietton Peuchot, M., 2016. Impact of pulsed-electric field and high-voltage electrical discharges on red wine microbial stabilization and quality characteristics. J. Appl. Microbiol. 120, 152–164.
- Dias, D.A., Clark, A.C., Smith, T.A., Ghiggino, K.P., Scollary, G.R., 2013. Wine bottle colour and oxidative spoilage: Whole bottle light exposure experiments under controlled and uncontrolled temperature conditions. Food Chem. 138, 2451– 2459.
- Dozon, N.M., Noble, A.C., 1989. Sensory Study of the Effect of Fluorescent Light on a Sparkling Wine and Its Base Wine. Am. J. Enol. Vitic. 40, 265–271.
- Du Toit, M., Pretorius, I.S., 2000. Microbial spoilage and preservation of wine: using weapons from nature's own arsenal–a review. Afr J Enol Vitic 21, 74–96.
- Durner, D., Diesler, K., Golombek, P., Kromm, L., Stahl, M., Briviba, K., Scharfenberger-Schmeer, M., Fischer, U., 2017. Inactivation of microorganisms by UV-treatment of must and wine. BIO Web Conf. 9, 02001.
- El Darra, N., Turk, M.F., Ducasse, M.-A., Grimi, N., Maroun, R.G., Louka, N., Vorobiev, E., 2016. Changes in polyphenol profiles and color composition of freshly fermented model wine due to pulsed electric field, enzymes and thermovinification pretreatments. Food Chem. 194, 944–950.
- El Rayess, Y., Albasi, C., Bacchin, P., Taillandier, P., Raynal, J., Mietton-Peuchot, M., Devatine, A., 2011. Cross-flow microfiltration applied to oenology: A review. J. Membr. Sci. 382, 1–19.
- Fan, X., Geveke, D.J., 2007. Furan Formation in Sugar Solution and Apple Cider upon Ultraviolet Treatment. J. Agric. Food Chem. 55, 7816–7821.

- Fracassetti, D., Gabrielli, M., Encinas, J., Manara, M., Pellegrino, L., Tirelli, A., n.d. Approaches to prevent the light-struck taste in white wine. Aust. J. Grape Wine Res.
- Franz, C.M.A.P., Specht, I., Cho, G.-S., Graef, V., Stahl, M.R., 2009. UV-Cinactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. Food Control 20, 1103–1107.
- Fredericks, I.N., du Toit, M., Krügel, M., 2011. Efficacy of ultraviolet radiation as an alternative technology to inactivate microorganisms in grape juices and wines. Food Microbiol. 28, 510–517.
- Gao, S., Hemar, Y., Ashokkumar, M., Paturel, S., Lewis, G.D., 2014. Inactivation of bacteria and yeast using high-frequency ultrasound treatment. Water Res. 60, 93–104.
- Gómez-López, V.M., Koutchma, T., Linden, K., 2012. Chapter 8 Ultraviolet and Pulsed Light Processing of Fluid Foods, in: Cullen, P.J., Tiwari, B.K., Valdramidis, V.P. (Eds.), Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. Academic Press, San Diego, pp. 185–223.
- Grant-Preece, P., Barril, C., Schmidtke, L.M., Scollary, G.R., Clark, A.C., 2017. Lightinduced changes in bottled white wine and underlying photochemical mechanisms. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 57, 743–754.
- Guerrero, R.F., Cantos-Villar, E., 2015. Demonstrating the efficiency of sulphur dioxide replacements in wine: A parameter review. Trends Food Sci. Technol. 42, 27–43.
- Guerrero-Beltran, J.A, Welti-Chanes, J., Barbosa-Canovas, G.V., 2009. Ultraviolet-c light processing of grape, cranberry and grapefruit juices to inactivate saccharomyces cerevisiae. J. Food Process Eng. 32, 916–932.
- Guerrero-Beltran, J.A, Barbosa-Canovas, G.V., 2005. Reduction of Saccharomyces cerevisiae, Escherichia coli and Listeria innocua in apple juice by ultraviolet light. J. Food Process Eng. 28, 437–452.
- Guerrero-Beltran, J.A., Barbosa-Canovas, G.V., 2004. Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light. Food Sci. Technol. Int. 10, 137–147.
- Guida, V., Ferrari, G., Pataro, G., Chambery, A., Di Maro, A., Parente, A., 2013. The effects of ohmic and conventional blanching on the nutritional, bioactive compounds and quality parameters of artichoke heads. LWT - Food Sci. Technol. 53, 569–579.

- Hillegas, S., Demirci, A., 2003. Inactivation of Clostridium sporogenes in Clover Honey by Pulsed UV-light Treatment. Agric. Eng. Int. 5.
- Icier, F., Yildiz, H., Baysal, T., 2008. Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice. J. Food Eng. 85, 410–417.
- Icier, F., 2010. Ohmic blanching effects on drying of vegetable byproduct. J. Food Process Eng. 33, 661–683.
- Icier, F., Ilicali, C., 2005a. Temperature dependent electrical conductivities of fruit purees during ohmic heating. Food Res. Int. 38, 1135–1142.
- Icier, F., Ilicali, C., 2005b. The effects of concentration on electrical conductivity of orange juice concentrates during ohmic heating. Eur. Food Res. Technol. 220, 406–414.
- Isabel Spranger, M., Cristina Clímaco, M., Sun, B., Eiriz, N., Fortunato, C., Nunes, A., Conceição Leandro, M., Luísa Avelar, M., Pedro Belchior, A., 2004. Differentiation of red winemaking technologies by phenolic and volatile composition. Anal. Chim. Acta, Papers presented at the 3rd Symposium In Vino Analytica Scientia Aveiro, Portugal, 10-12 July 2003 513, 151–161.
- Islam, M.S., Patras, A., Pokharel, B., Vergne, M.J., Sasges, M., Begum, A., Rakariyatham, K., Pan, C., Xiao, H., 2016. Effect of UV Irradiation on the Nutritional Quality and Cytotoxicity of Apple Juice. J. Agric. Food Chem. 64, 7812–7822.
- Kuhn, H., Braslavsky, S., Schmidt, R., 1989. Chemical Actinometry.
- Keyser, M., Müller, I.A., Cilliers, F.P., Nel, W., Gouws, P.A., 2008. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 9, 348–354.
- Koutchma, T., 2009. Advances in Ultraviolet Light Technology for Non-thermal Processing of Liquid Foods. Food Bioprocess Technol. 2, 138–155.
- Koutchma, T., Keller, S., Chirtel, S., Parisi, B., 2004. Ultraviolet disinfection of juice products in laminar and turbulent flow reactors. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 5, 179–189.
- Kulshrestha, S., Sastry, S., 2003. Frequency and voltage effects on enhanced diffusion during moderate electric field (MEF) treatment. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 4, 189–194.

- Lee, S.-Y., Ryu, S., Kang, D.-H., 2013. Effect of Frequency and Waveform on Inactivation of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica Serovar Typhimurium in Salsa by Ohmic Heating. Appl. Environ. Microbiol. 79, 10–17.
- Leizerson, S., Shimoni, E., 2005. Effect of Ultrahigh-Temperature Continuous Ohmic Heating Treatment on Fresh Orange Juice. J. Agric. Food Chem. 53, 3519–3524.
- Li, J., Uchida, T., Todo, T., Kitagawa, T., 2006. Similarities and differences between cyclobutane pyrimidine dimer photolyase and (6-4) photolyase as revealed by resonance Raman spectroscopy: Electron transfer from the FAD cofactor to ultraviolet-damaged DNA. J. Biol. Chem. 281, 25551–25559.
- Lilly, M., Lambrechts, M.G., Pretorius, I.S., 2000. Effect of Increased Yeast Alcohol Acetyltransferase Activity on Flavor Profiles of Wine and Distillates. Appl.
- Lima, M., Heskitt, B.F., Burianek, L.L., Nokes, S.E., Sastry, S.K., 1999a. Ascorbic acid degradation kinetics during conventional and ohmic hieating. J. Food Process. Preserv. 23, 421–443.
- Lima, M., Heskitt, B.F., Sastry, S.K., 1999b. The Effect of Frequency and Wave Form on the Electrical Conductivity-Temperature Profiles of Turnip Tissue1. J. Food Process Eng. 22, 41–54.
- López, N., Puértolas, E., Condón, S., Álvarez, I., Raso, J., 2008. Effects of pulsed electric fields on the extraction of phenolic compounds during the fermentation of must of Tempranillo grapes. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 9, 477–482.
- Loypimai, P., Moongngarm, A., Chottanom, P., Moontree, T., 2015. Ohmic heatingassisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 27, 102–110.
- Lorenzini, M., Fraccheti, F., Bolla, V., Stefanelli, E., Rossi, F., Torriani, S., 2010. Ultraviolet light (UV-C) irradiation as an alternative technology for the control of microorganisms in Grape juice and wine.
- Ma, C., Yang, L., Yang, F., Wang, W., Zhao, C., Zu, Y., 2012. Content and Color Stability of Anthocyanins Isolated from Schisandra chinensis Fruit. Int. J. Mol. Sci. 13, 14294–14310.
- Mafart, P., Couvert, O., Gaillard, S., Leguerinel, I., 2002. On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. Int. J. Food Microbiol. 72, 107–113.

- Martin, J., de Revel, G., 1999. Evaluation sensorielle: bases scientifiques et applications oenologiques. La degustation. Journal international des sciences de la vigne et du vin.
- Mason, T.J., Joyce, E., Phull, S.S., Lorimer, J.P., 2003. Potential uses of ultrasound in the biological decontamination of water. Ultrason. Sonochem. 10, 319–323.
- Masschelein, W.J., Rice, R.G., 2002. Ultraviolet Light in Water and Wastewater Sanitation. CRC Press.
- Matafonova, G., Batoev, V., 2012. Recent progress on application of UV excilamps for degradation of organic pollutants and microbial inactivation. Chemosphere 89, 637–647.
- Mattivi, F., Monetti, A., Vrhovsek, U., Tonon, D., Andrés-Lacueva, C., 2000. Highperformance liquid chromatographic determination of the riboflavin concentration in white wines for predicting their resistance to light. J. Chromatogr. A 888, 121–127.
- Maujean, A., Haye, M., Feuillat, M., Thomas, J.C., Petit, D., 1978. Contribution à l'étude des « goûts de lumière » dans le vin de champagne. II. Influence de la lumière sur le potentiel d'oxydoreduction. Corrélation avec la teneur en thiols du vin. OENO One 12, 277–290.
- Maujean, A., Sequin, N., 1983. Contribution a l'etude des gouts de lumiere dans les vins de champagne. 3. Les reactions photochimiques responsables des gouts de lumiere dans le vin de champagne. Sci. Aliments.
- Milani, E.A., Gardner, R.C., Silva, F.V.M., 2015. Thermal resistance of Saccharomyces yeast ascospores in beers. Int. J. Food Microbiol. 206, 75–80.
- Min, D.B., Boff, J.M., 2002. Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 1, 58–72.
- Mishra, P., Gupta, S.N., 1979. Momentum Transfer in Curved Pipes. 1. Newtonian Fluids. Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev. 18, 130–137.
- Moll, R., Veyret, D., Charbit, F., Moulin, P., 2007. Dean vortices applied to membrane process. J. Membr. Sci. 288, 307–320.
- Morel-Salmi, C., Souquet, J.-M., Bes, M., Cheynier, V., 2006. Effect of Flash Release Treatment on Phenolic Extraction and Wine Composition. J. Agric. Food Chem. 54, 4270–4276.

- Moulin, P., Manno, P., Rouch, J.C., Serra, C., Clifton, M.J., Aptel, P., 1999. Flux improvement by Dean vortices: ultrafiltration of colloidal suspensions and macromolecular solutions. J. Membr. Sci. 156, 109–130.
- Moulin, P., Rouch, J.C., Serra, C., Clifton, M.J., Aptel, P., 1996. Mass transfer improvement by secondary flows: Dean vortices in coiled tubular membranes. J. Membr. Sci. 114, 235–244.
- Müller, A., Günthner, K.A., Stahl, M.R., Greiner, R., Franz, C.M.A.P., Posten, C., 2015. Effect of physical properties of the liquid on the efficiency of a UV-C treatment in a coiled tube reactor. Innov. Food Sci. Emerg. Technol., 29, 240– 246.
- Müller, A., Stahl, M.R., Graef, V., Franz, C.M.A.P., Huch, M., 2011. UV-C treatment of juices to inactivate microorganisms using Dean vortex technology. J. Food Eng. 107, 268–275.
- Müller, A., Stahl, M.R., Greiner, R., Posten, C., 2014. Performance and dose validation of a coiled tube UV-C reactor for inactivation of microorganisms in absorbing liquids. J. Food Eng. 138, 45–52.
- Murakami, E.G., Jackson, L., Madsen, K., Schickedanz, B., 2006. Factors affecting the ultraviolet inactivation of *Escherichia coli* k12 in apple juice and a model system. J. Food Process Eng. 29, 53–71.
- Okubo, K., Goto-Yamamoto, N., Okazaki, N., 2003. Effect of prefermentation cold soak on extraction of anthocyanin during red wine making. J. Brew. Soc. Jpn. 98, 193–200.
- Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., 2010. Pulsed Light Treatments for Food Preservation. A Review. Food Bioprocess Technol. 3, 13.
- Orlowska, M., Koutchma, T., Grapperhaus, M., Gallagher, J., Schaefer, R., Defelice, C., 2013. Continuous and Pulsed Ultraviolet Light for Nonthermal Treatment of Liquid Foods. Part 1: Effects on Quality of Fructose Solution, Apple Juice, and Milk. Food Bioprocess Technol. 6, 1580–1592.
- Ortega-Heras, M., Pérez-Magariño, S., González-Sanjosé, M.L., 2012. Comparative study of the use of maceration enzymes and cold pre-fermentative maceration on phenolic and anthocyanic composition and colour of a Mencía red wine. LWT -Food Sci. Technol. 48, 1–8.

- Palaniappan, S., Sastry, S.K., 1991. Electrical conductivity of selected juices: influences of temperature, solids content, applied voltage, and particle size. J. Food Process Eng. 14, 247–260.
- Park, I.-K., Kang, D.-H., 2013. Effect of Electropermeabilization by Ohmic Heating for Inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella enterica Serovar Typhimurium, and Listeria monocytogenes in Buffered Peptone Water and Apple Juice. Appl. Environ. Microbiol. 79, 7122–7129.
- Pereira, R.N., Rodrigues, R.M., Genisheva, Z., Oliveira, H., de Freitas, V., Teixeira, J.A., Vicente, A.A., 2016. Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. LWT - Food Sci. Technol. 74, 493–503.
- Petropulos, V.I., Bogeva, E., Stafilov, T., Stefova, M., Siegmund, B., Pabi, N., Lankmayr, E., 2014. Study of the influence of maceration time and oenological practices on the aroma profile of Vranec wines. Food Chem. 165, 506–514.
- Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R., 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. Int. J. Food Microbiol. 87, 207–216.
- Plumridge, A., Hesse, S.J.A., Watson, A.J., Lowe, K.C., Stratford, M., Archer, D.B., 2004. The weak acid preservative sorbic acid inhibits conidial germination and mycelial growth of Aspergillus niger through intracellular acidification. Appl. Environ. Microbiol. 70, 3506–3511.
- Qin, G., Meng, Z., 2009. Effects of sulfur dioxide derivatives on expression of oncogenes and tumor suppressor genes in human bronchial epithelial cells. Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc. 47, 734–744.
- Quilter, M.G., Hurley, J.C., Lynch, F.J., Murphy, M.G., 2003. The Production of Isoamyl Acetate from Amyl Alcohol by Saccharomyces cerevisiae. J. Inst. Brew. 109, 34–40.
- Rahn, R.O., 1997. Potassium iodide as a chemical actinometer for 254 nm radiation: use of lodate as an electron scavenger. Photochem. Photobiol. 66, 450–455.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A., 2006. Handbook of Enology, The Microbiology of Wine and Vinifications. John Wiley & Sons.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D., 2012. Traité d'oenologieTome 2 6e éd. Chimie du vin. Stabilisation et traitements. Dunod.
- Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E., 1966. Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure.

- Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E., 1965. [Determination of anthocyanins in red wine]. Bull. Soc. Chim. Fr. 9, 2649–2652.
- Rizzotti, L., Levav, N., Fracchetti, F., Felis, G.E., Torriani, S., 2015. Effect of UV-C treatment on the microbial population of white and red wines, as revealed by conventional plating and PMA-qPCR methods. Food Control 47, 407–412.
- Rojo-Bezares, B., Sáenz, Y., Zarazaga, M., Torres, C., Ruiz-Larrea, F., 2007. Antimicrobial activity of nisin against Oenococcus oeni and other wine bacteria. Int. J. Food Microbiol. 116, 32–36
- Salleh-Mack, S.Z., Roberts, J.S., 2007. Ultrasound pasteurization: The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of Escherichia coli ATCC 25922. Ultrason. Sonochem. 14, 323–329.
- Samaranayake, C.P., Sastry, S.K., 2005. Electrode and pH effects on electrochemical reactions during ohmic heating. J. Electroanal. Chem. 577, 125–135.
- Sastry, S.K., Palaniappan, S., 1992. Mathematical modeling and experimental studies on ohmic heating of liquid-particle mixtures in a static heater. J. Food Process Eng. 15, 241–261.
- Setford, P.C., Jeffery, D.W., Grbin, P.R., Muhlack, R.A., 2017. Factors affecting extraction and evolution of phenolic compounds during red wine maceration and the role of process modelling. Trends Food Sci. Technol. 69, 106–117.
- Singh, J.P., Ghaly, A.E., 2007. Effect of Flow Characteristics on Online Sterilization of Cheese Whey in UV Reactors. Appl. Biochem. Biotechnol. 142, 1.
- Singleton, V.L., 1987. Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications. Am. J. Enol. Vitic. 38, 69–77.
- Sinha, R.P., Häder, D.P., 2002. UV-induced DNA damage and repair: a review. Photochem. Photobiol. Sci. Off. J. Eur. Photochem. Assoc. Eur. Soc. Photobiol. 1, 225–236.
- Somavat, R., Mohamed, H.M.H., Chung, Y.-K., Yousef, A.E., Sastry, S.K., 2012. Accelerated inactivation of Geobacillus stearothermophilus spores by ohmic heating. J. Food Eng. 108, 69–76.
- Toepfl, S., Heinz, V., Knorr, D., 2006. Applications of Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry, in: Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry, Food Engineering Series. Springer, Boston, MA, pp. 197–221.

- Tominaga, T., Dubourdieu, D., 2006. A Novel Method for Quantification of 2-Methyl-3-furanthiol and 2-Furanmethanethiol in Wines Made from Vitis vinifera Grape Varieties. J. Agric. Food Chem. 54, 29–33.
- Tran, M.T.T., Farid, M., 2004. Ultraviolet treatment of orange juice. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 5, 495–502.
- Vally, H., Thompson, P.J., 2001. Role of sulfite additives in wine induced asthma: single dose and cumulative dose studies. Thorax 56, 763–769.
- Volf, I., Ignat, I., Neamtu, M., Popa, V.I., 2014. Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols. Chem. Pap. 68, 121–129.
- Voronov, A., 2008. New Generation of Low Pressure Mercury Lamps for Producing Ozone. Ozone Sci. Eng. 30, 395–397.
- Yildiz, H., Bozkurt, H., Icier, F., 2009. Ohmic and Conventional Heating of Pomegranate Juice: Effects on Rheology, Color, and Total Phenolics. Rev. Agaroquimica Tecnol. Aliment. 15, 503–512.
- Zimmermann, U., Pilwat, G., Riemann, F., 1974. Dielectric Breakdown of Cell Membranes. Biophys. J. 14, 881–899.