

## STABILISATION PROTEIQUE DES VINS BLANCS ET ROSES

### Eric MEISTERMANN

IFV Pôle Alsace

Coordinateur du groupe national Stabilité Protéique

L'utilisation raisonnée des intrants en œnologie nécessite à la fois une méthode d'évaluation des risques permettant de justifier le traitement œnologique et une optimisation de l'intervention afin de réduire la quantité d'intrant au strict nécessaire. La stabilisation protéique des vins blancs et rosés est obtenue par collage à la bentonite. Le produit étant peu onéreux, l'optimisation du traitement ne se justifie qu'en raison de son impact négatif sur la qualité des vins. L'évaluation du risque d'instabilité se fait habituellement par des tests de stabilité protéique, dont le nombre impressionnant démontre à lui seul l'insuffisance.

Les résultats présentés sont issus des essais menés dans le cadre du groupe national sur la stabilité protéique et l'utilisation de la bentonite qui réunit des représentants de l'IFV (Alsace, Aquitaine, Midi-Pyrénées, Rhône-Méditerranée, Val de Loire), du Centre du Rosé, de l'ICV, de la Chambre d'Agriculture de la Gironde et de l'INRA – UMR Sciences pour l'œnologie. Les travaux ont été cofinancés par France AgriMer.

L'objectif de ce programme était d'étudier les différentes stratégies de stabilisation protéique dans le but de réduire les doses de bentonite au strict nécessaire et de préserver ainsi la qualité du vin. Il s'agissait également d'examiner la possibilité d'une évaluation du risque d'instabilité protéique sur moût avant fermentation alcoolique. La comparaison des bentonites n'a pas été l'objet central de cette étude. Elle a néanmoins été abordée sous différents angles. La réalisation d'essais en réseau a permis de réunir des données sur différents cépages, régions et millésimes. Les comparaisons de tests de stabilité protéique à différents stades de la vinification ont porté sur plus de 400 moûts et leur vin correspondant. Les essais de collage ont été réalisés sur environ 300 lots. Les stratégies de stabilisation protéique ont été mises en place sur une soixantaine de moûts différents donnant 270 modalités comparées. L'originalité de ce travail collaboratif réside également dans la méthode d'évaluation de la stabilité protéique. Elle a été réalisée en mesurant la turbidité des vins après deux mois de conservation en demi-bouteilles à l'étuve à 35°C, c'est-à-dire dans des conditions assez proches de celles de la pratique. Les mêmes vins ont été suivis à température ambiante (20°C). Ces travaux ont permis de faire le bilan des connaissances actuelles sur l'évaluation de la stabilité protéique, sur la détermination de la dose de bentonite et sur la stratégie de stabilisation. Elle a conduit le groupe de travail à s'adresser à la recherche fondamentale pour approfondir les connaissances sur la casse protéique et comprendre les résultats obtenus.

### 1. Evaluation de la stabilité protéique

De nombreux tests ont été proposés pour évaluer la stabilité protéique d'un vin (2, 3, 9). Ils appartiennent à deux groupes :

- Les tests à la chaleur consistent à appliquer un ou plusieurs couples *température x durée* (par exemple, 80°C pendant 30 mn).
- Les tests chimiques permettent d'amplifier la réaction de floculation par addition de produits chimiques (tanins avec ou sans alcool, acide trichloracétique ou TCA, réactif phosphomolybdique, ammonium,...).

Le degré d'instabilité du vin est évalué en mesurant par turbidimétrie l'intensité du trouble formé. Le vin est jugé d'autant plus instable que la turbidité est élevée. En-dessous d'un certain seuil, il est considéré comme stable.

### 11. Comparaison des tests de stabilité protéique

La comparaison des tests de stabilité entre eux montre que l'intensité du trouble formé est très variable selon le test. Il est généralement plus élevé pour les tests chimiques. Par conséquent, les seuils de stabilité retenus dépendent étroitement du test utilisé (Tableau 1).

Test	80 °-30' (dNTU)	TCA (dNTU)	Tanin (dNTU)	Bentotest (dNTU)	Prostab (dDO)
Stable	< 5	< 10	< 30	< 15	< 0,5
Sensible	5 - 12	10 - 30	30 - 80	15 - 50	0,5 - 7
Instable	> 12	> 30	> 80	> 50	> 7

Tableau 1 : Exemple de seuils retenus pour différents tests de stabilité protéique

Les tests de stabilité protéique utilisés dans notre étude (test à la chaleur 30 mn à 80°C et test TCA) ne permettent pas de prévoir la stabilité protéique de vins placés en demi-bouteilles à l'étuve à 35°C pendant 2 mois (Figure 1). Certains vins réagissent fortement au test mais ne cassent pas en bouteilles. Il apparaît des différences entre les cépages et les régions. Ainsi, les cépages alsaciens réagissent beaucoup plus au test à la chaleur que le sauvignon, le chardonnay ou le melon. Les sauvignons de la façade méditerranéenne et ceux du Val de Loire n'ont pas le même comportement. Ces différences permettent d'expliquer les différences de seuils de stabilité pour le test à la chaleur selon les régions (2 NTU pour le Sauvignon à Bordeaux, 20 NTU en Alsace, 5 NTU dans les autres régions).

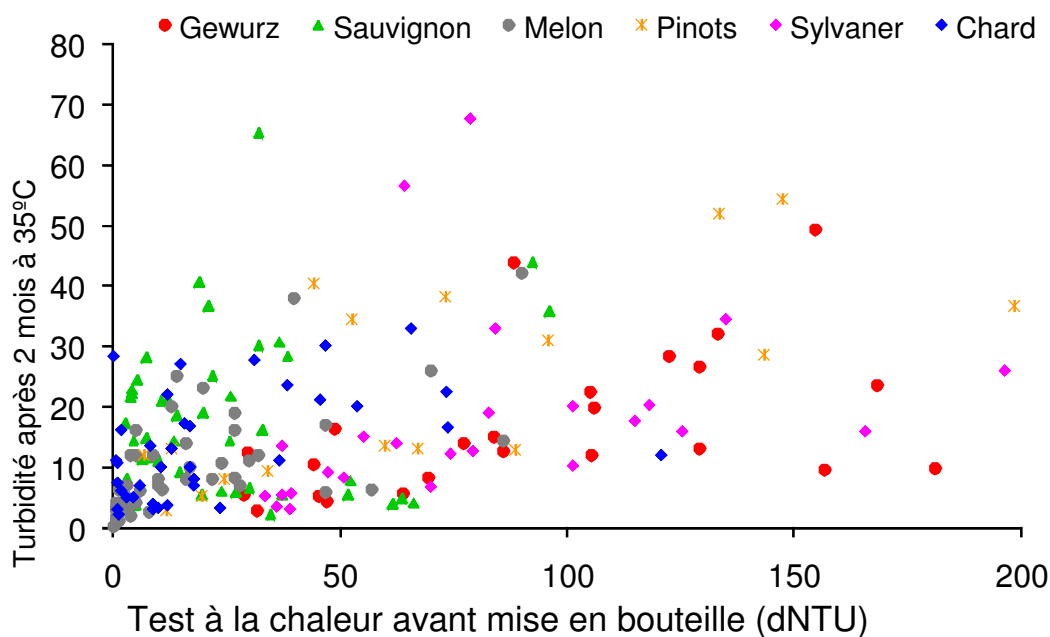


Figure 1 : Relation entre le test à la chaleur (30 mn à 80°C) sur vin et la stabilité protéique après deux mois de conservation en demi-bouteille à 35°C.

Ces résultats montrent que les tests de stabilité protéique permettent de détecter la présence de protéines thermosensibles mais ils sont incapables de prévoir la stabilité du vin en bouteille. En absence de protéines thermosensibles, le vin est stable. Par contre, leur présence n'induit pas obligatoirement un risque de casse protéique. La stratégie actuelle, consistant à éliminer systématiquement les protéines thermosensibles, conduit à traiter inutilement certains vins à la bentonite.

### 12. Application des tests sur moût

Le test à la chaleur et le test TCA peuvent être appliqués sur les moûts préalablement clarifiés par centrifugation (4). Lorsque la différence de turbidité après application du test est inférieure à 50 NTU, il est fort probable que le vin obtenu après fermentation alcoolique soit stable (Figure 2). Mais une forte réaction n'implique pas obligatoirement une forte instabilité. La réserve précédente sur les tests sur vins s'applique également aux moûts. Les différences de comportement entre cépages sont moins marquées sur moût que sur vin, autrement dit le seuil de 50 NTU est valable quel que soit le cépage. Le test de stabilité protéique sur moût permet d'identifier précocement les lots les plus stables et de définir la stratégie de stabilisation à appliquer

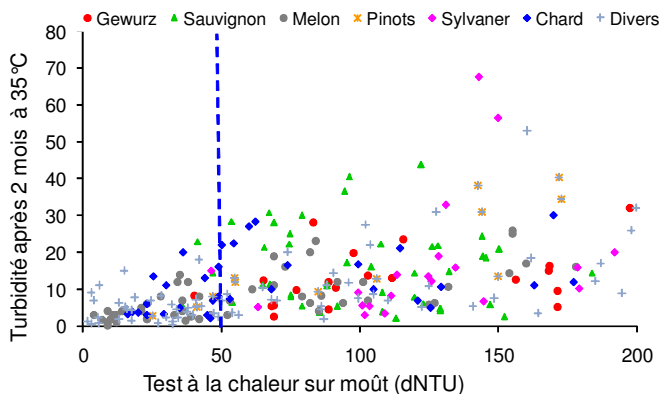


Figure 2 : Relation entre le test à la chaleur (30 mn à 80 °C) sur moût et la stabilité protéique après deux mois de conservation en demi-bouteille à 35 °C.

## 2. Détermination de la dose de bentonite

La dose de bentonite est habituellement déterminée d'après les résultats du test de stabilité protéique et l'expérience du laboratoire qui réalise l'analyse. Elle peut également être évaluée par des essais de collage consistant à ajouter des doses croissantes de bentonite avant de faire le test de stabilité sur la gamme ainsi traitée. La comparaison de ces deux méthodes pour des traitements à la bentonite en cours et après fermentation montre que la détermination de la dose optimale de bentonite est très délicate. Des essais de modélisation ont été réalisés (1). La réponse du test de stabilité protéique est un élément important mais non suffisant pour le calcul de la dose. Les modèles sont trop dépendants du cépage, de la région et du millésime pour être à la fois robustes, précis et généralisables. La relation entre test de stabilité et dose de bentonite (figure 3) montre que les cépages se répartissent entre deux types de comportements extrêmes. Le melon réagit fortement au test de stabilité mais nécessite peu de bentonite pour sa stabilisation. A l'inverse, le sauvignon réagit peu mais exige des doses élevées. Le gewurztraminer réunit forte réaction et besoin important en bentonite.

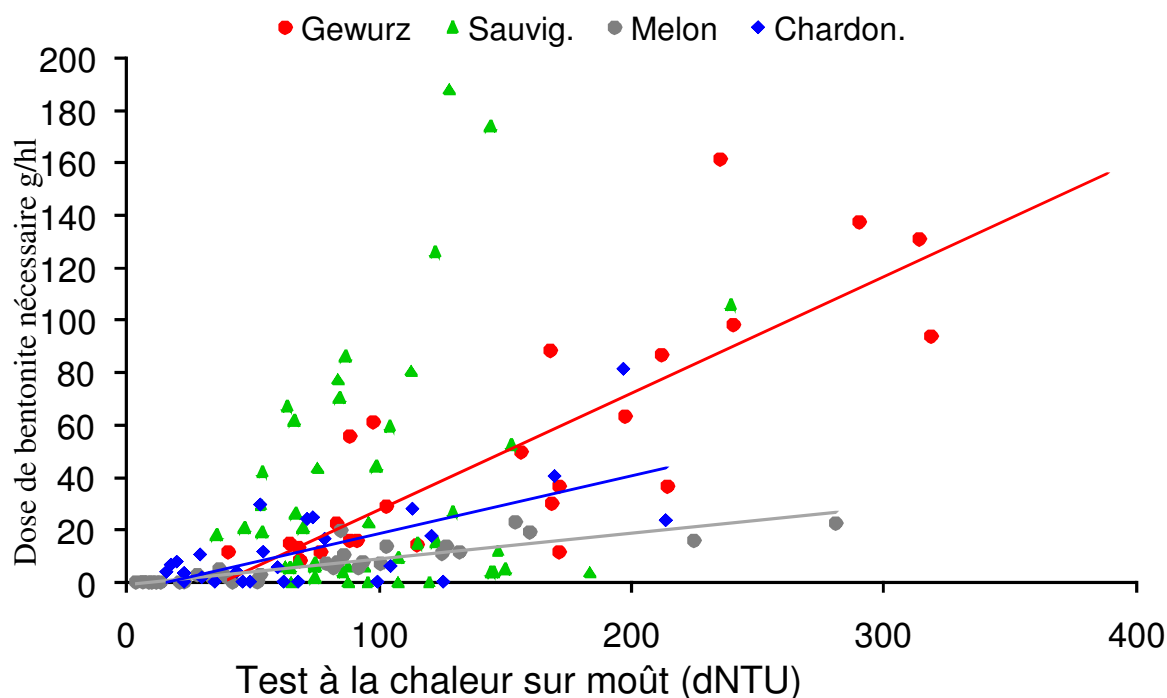


Figure 3 : Relation entre le test à la chaleur (30 mn à 80 °C) sur moût et la dose de bentonite nécessaire en cours de fermentation alcoolique.

Les observations réalisées à posteriori sur un grand nombre de lots au cours de nos essais ont permis de montrer que la quantité de bentonite nécessaire à la stabilisation est à peu près la même pour un traitement sur vin ou sur moût avec soutirage avant fermentation. Par contre, si la bentonite est présente tout au long de la fermentation alcoolique, le tiers de la dose précédente est suffisant car le temps de contact est plus long ; la température est plus élevée et la bentonite est un peu en suspension pendant la fermentation.

Il n'existe pas de méthode permettant de déterminer avec précision la dose optimale de bentonite nécessaire. Le test de stabilité protéique donne une indication précieuse mais non suffisante. Les connaissances empiriques et locales sont souvent plus précises que les méthodes trop généralistes. D'autant plus que le choix de la dose dépend également très étroitement de la bentonite utilisée. Les méthodes efficaces, c'est-à-dire celles qui conduisent à coup sûr à la stabilisation, utilisent toujours des doses excessives de bentonite.

### 3. Stratégies de stabilisation protéique

Le traitement à la bentonite peut être réalisé avant, pendant ou après la fermentation alcoolique. Le moment le plus opportun de traitement dépend de l'itinéraire de vinification et du niveau d'instabilité protéique. Utilisée sur vin à des doses supérieures à 50 g/hl, la bentonite a un effet non négligeable sur la qualité. Il se traduit par une perte d'arômes, une diminution de la structure et du volume en bouche. Pour les vins rosés, le traitement à la bentonite s'accompagne d'une perte de couleur qui est plus importante lorsque la bentonite est ajoutée en cours de fermentation et qui touche plutôt la nuance rouge des vins. L'élimination d'un surplus de couleur peut être un objectif en vinification en rosé.

C'est pourquoi, il est préférable, en cas de risque élevé d'instabilité, de réaliser le traitement en cours de fermentation alcoolique. Le test à la chaleur sur moût débourbé permet d'évaluer ce risque mais conduira à des traitements inutiles. En cas de faible instabilité ou lorsque le vin est destiné à être élevé sur lies, le traitement de stabilisation se fera après fermentation.

#### 4. Comparaison des bentonites

Des bentonites présentant des caractéristiques chimiques très différentes ont été comparées en calculant, après des essais de collage, la dose nécessaire pour atteindre le même niveau de stabilité. La comparaison par rapport à la bentonite Electra, qui a servi de référence dans nos essais, montre que d'une manière globale, les bentonites n'ont pas toute la même efficacité. Ces différences ne s'expliquent pas par la nature chimique des bentonites (1). Mais la dispersion des points (figure 4) met surtout en évidence le comportement spécifique de chaque vin et l'impossibilité d'établir une relation définitive entre deux bentonites. Il apparaît une fois de plus que l'effet matrice (moût ou vin) est un facteur déterminant.

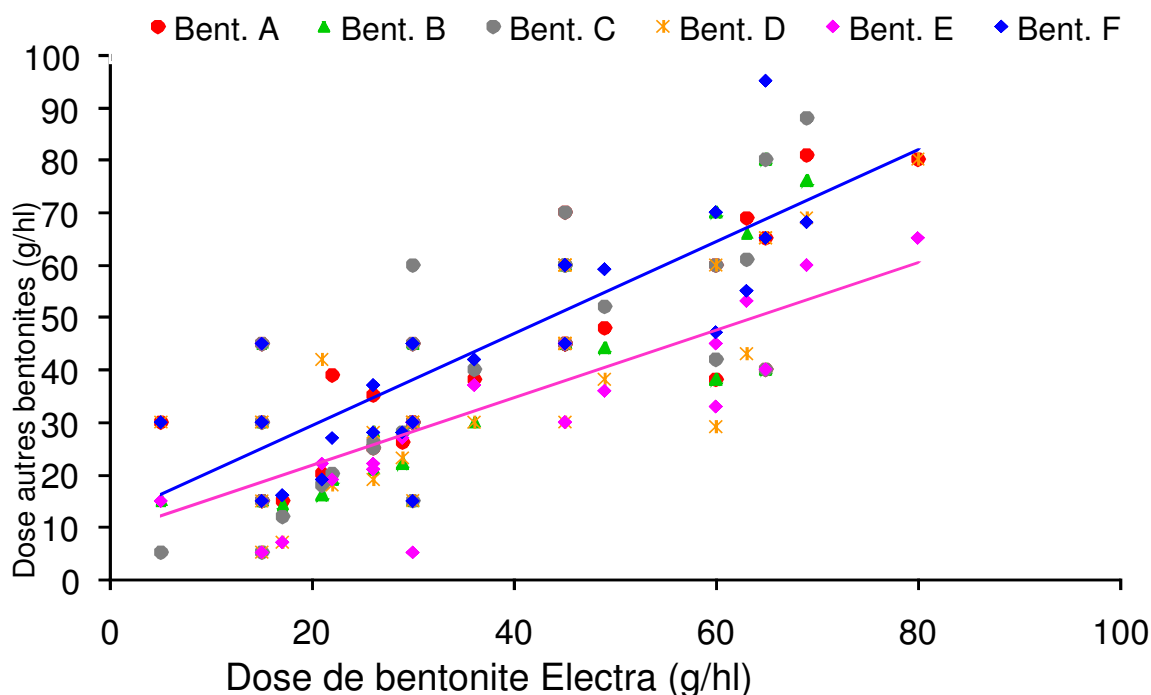


Figure 4 : Relation entre la dose de bentonite Electra et d'autres bentonites nécessaire pour atteindre le même niveau de stabilisation.

#### 5. Conditions du traitement

Les conditions de mise en œuvre du traitement à la bentonite jouent un rôle important sur son efficacité. Le gonflement préalable et le soin particulier à apporter au moment de l'incorporation dans le vin sont connus et pourtant encore souvent négligés. Il était admis que la bentonite agit presque instantanément lorsqu'elle est ajoutée dans le vin (5). L'expérience montre que l'efficacité du traitement augmente avec la durée de contact et la température. La remise en suspension de la bentonite permet également d'améliorer la stabilisation (Tableau 2).

Modalité	Dose de bentonite nécessaire (g/hl)
Contact 2 heures à 20°C	157
Contact 3 jours à 20°C	79
Contact 7 jours à 20°C	45
Contact 7 jours à 10°C	64
Contact 7 jours à 20°C avec agitation 1 fois par jour	25

Tableau 2 : Incidence de temps de contact et de la température sur l'efficacité du traitement à la bentonite (essai au laboratoire).

## 6. Les causes

Les protéines du vin proviennent exclusivement du raisin. Il y a plus de 2000 protéines différentes dans le moût. Il n'en reste qu'une quinzaine après fermentation alcoolique. Elles n'ont pas encore été toutes identifiées. Les travaux récents de l'INRA de Montpellier – UMR Sciences pour l'Oenologie (6, 7, 8) ont montré que ces protéines ont des propriétés très différentes, notamment en matière de sensibilité à la chaleur et à la bentonite (Tableau 3).

Famille	Poids moléculaire (en kDa)	Sensibilité à la chaleur	Sensibilité à la bentonite (g/Hl)	Rôle
Invertases	> 60	≈ 70 °C	40 à 50	Transformation du saccharose en G + F
Glucanases	≈ 40	≈ 40 °C	3 à 5	Dégradation des polysaccharides
Chitinases	≈ 30	≈ 60 °C	2 à 4	Résistance
Thaumatines like	20	60 à 80 °C	60 à 100	aux
Thaumatines like	19	≈ 70 °C	40 à 50	pathogènes
Inconnues	< 20	60 à 80 °C	60 à 80	–

*Tableau 3 : Caractéristiques des protéines présentes dans les vins blancs et rosés.*

Les mécanismes de la casse protéique commencent à être compris. Elle commence par la formation d'agrégats élémentaires. Les polyphénols du vin semblent jouer un rôle sur la structure et le nombre de ces agrégats primaires. Certaines protéines interviendraient de manière préférentielle à ce stade, en particulier une des deux thaumatines-like identifiées. Les agrégats élémentaires grossissent ensuite sous l'effet des forces d'attraction. Cette phase de grossissement est plus ou moins réversible. Les analyses de protéines permettent en partie de comprendre les différences de comportement des cépages vis-à-vis des tests à la chaleur et de la bentonite. Une teneur élevée en invertases induit une réaction plus forte au test à la chaleur, c'est souvent le cas pour le gewurztraminer. Les tests chimiques, provoquant une précipitation quasi-totale des protéines, sont dans l'ensemble mieux corrélés à la teneur totale en protéines. Il est plus difficile de mettre en relation les besoins en bentonite avec la composition en protéines. Le pH du vin intervient également à ce niveau. Les différences de composition en protéines sont liées à la fois au cépage et aux conditions de maturation des raisins. De sorte que chaque vin constitue une matrice particulière et aura un comportement spécifique face aux tests de stabilité protéique ou aux différents types de bentonites.

## Conclusion

La stabilisation protéique des vins blancs et rosés est emblématique du délicat compromis que doit trouver le vinificateur entre sécurité et qualité. Pour l'aider dans ce choix et lui permettre d'intervenir aussi peu que possible mais autant que nécessaire, différents outils ont été élaborés au cours des quarante dernières années. Malheureusement, ils ne permettent pas d'optimiser les doses de bentonite avec suffisamment de précision. Il existe trop d'incertitudes tant sur l'évaluation du risque d'instabilité que sur la détermination de la dose optimale. L'extrême variabilité dans la composition colloïdale des moûts et des vins ajoutée aux différences entre les bentonites rendent difficile le développement de règles fiables de stabilisation. Seule une meilleure connaissance des mécanismes de floculation des protéines et des facteurs favorisant la casse protéique permettra d'améliorer cette situation. L'identification des protéines responsables de la floculation primaire et leur élimination spécifique est une piste qui commence aujourd'hui à émerger.

## Références bibliographiques

1. **Blateyron L., Meistermann E. et Trottier C., 2007.** *Stabilisation protéique des vins blancs et rosés : Etude comparative des bentonites et recherche d'une approche raisonnée des traitements.* Communication Congrès OIV 10-16 juin 2007 à Budapest.
2. **Daulny B., 2003.** *Communication personnelle.*
3. **Dubourdieu D., Serrano M., Vannier A-C. et Ribereau-Gayon P., 1988.** *Etude comparée des tests de stabilité protéique.* Conn. Vigne Vin., 15, n°3, 101-177.
4. **Meistermann E. et al., 2006.** *Evaluation de la stabilité protéique à différents stades de la vinification.* Revue Française d'Œnologie n°217, mars-avril 2006, cahier technique.
5. **Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Ribereau-Gayon P. et Sudraud P., 1977.** *Traité d'œnologie Sciences et techniques du vin. Tome 4 - Clarification et stabilisation. Matériels et installation.* Ed. Dunod, Paris, 643 p.
6. **Sauvage F.-X., Manteau S., Poinsaut P., Siczkowski N. et Moutounet M., 2006.** *Haze forming proteins in white wine : Separation, identification and quantification of bentonite-adsorbed and heat-induced haze active proteins using 1-D and 2-D electrophoresis and MALDITOF mass spectrometry.* MacroWine, Reims, pp.169-175.
7. **Sauvage F.-X., Nicolas J., et Moutounet M., 2007.** *Les protéines du vin blanc: quantification et évolution au cours de différentes techniques de vinification.* 8° Symposium International d'œnologie, Bordeaux, 25-27 juin, poster IV.41.
8. **Sauvage F.-X., Bach B. et Moutounet M., 2008.** *Evolution of protein content during alcoholic fermentation depends on the red winemaking process.* MacroWine, Montpellier, 4-6 juin.
9. **Weber J., Dietrich J.V. et Klein J.M., 1974.** *Etude comparative de différents tests de stabilité protéique des vins.* Compte-rendu des travaux ITV 1973.