

## L'ETAT COLLOÏDAL DANS LES VINS : LE POINT SUR LES CONNAISSANCES SCIENTIFIQUES ET LES IMPLICATIONS PRATIQUES

**Aude VERNHET**

Montpellier SupAgro, UMR Sciences pour l'œnologie, Campus SupAgro/INRA, Bât 28, 2 place Viala, 34060 Montpellier, France. vernhet@supagro.inra.fr

*Exposé à VII Enoforum, 3-5 mai 2011, Arezzo, Italie*

L'importance des équilibres et des phénomènes colloïdaux (formation de complexes stables, agrégation, floculation, adsorption aux interfaces, ...) dans les opérations technologiques d'élaboration des vins comme dans la qualité finale des produits est soulignée depuis longtemps. Cependant, le développement de travaux de recherches fondamentaux dans le domaine reste relativement récent. Si les connaissances quant à cet état colloïdal ont progressé et permettent de mieux appréhender leur impact technologique et qualitatif, de nombreuses questions demeurent en suspens. Il paraît important au stade actuel de décrire, même brièvement, ce qui définit cet état colloïdal, de préciser la nature des interactions physico-chimiques impliquées dans ces équilibres colloïdaux et de souligner l'impact déterminant des caractéristiques structurales et physico-chimiques de ces composés et de la composition de la matrice vin. Les conséquences pour l'œnologie de cet état colloïdal et des interactions physico-chimiques dans lesquelles il est impliqué seront abordées dans un second temps. Les difficultés rencontrées dans ce contexte particulier seront soulignées, ainsi que les progrès réalisés et les évolutions susceptibles de répondre aux questions pratiques posées par la profession.

### I - COLLOÏDES DANS LES MOÛTS ET LES VINS – INTERACTIONS COLLOÏDALES

#### 1.1 : Colloïdes – interactions colloïdales

Sont considérés comme des colloïdes les constituants ayant une dimension linéaire comprise entre 1 nm et 1 µm [1]. Dans les moûts et les vins, ceci fait référence aux macromolécules (polysaccharides, protéines, composés phénoliques oligomères et polymères) et aux petites particules, et ce quelle que soit leur origine : débris cellulaires, agrégats de (macro)molécules, particules minérales,.... Alors que les macromolécules, en tant que composés dissous, forment une solution colloïdale (une seule phase) les particules colloïdales forment des systèmes bi-phasiques appelés dispersions. Ces particules colloïdales, du fait de leur taille, ne sédimentent pas spontanément et développent des surfaces importantes qui les rendent, comme les macromolécules, très sensibles au mouvement brownien et aux interactions physico-chimiques. Le mouvement brownien, directement relié à la température, confère aux composés de taille colloïdale une énergie cinétique qui leur permet de se rapprocher dans le milieu. Lorsque les distances de séparations deviennent suffisamment faibles, des interactions physico-chimiques interviennent, qui vont définir la stabilité ou l'instabilité des solutions et suspensions colloïdales ainsi que le comportement de ces colloïdes aux interfaces.

##### 1.1.1 – Interactions colloïdales : stabilité des systèmes colloïdaux et interactions aux interfaces

Les systèmes colloïdaux peuvent être stables ou instables. D'un point de vue thermodynamique, une molécule ou une macromolécule colloïdale, en solution vraie dans un milieu, est stable indéfiniment en l'absence de toute modification chimique ou physico-chimique (pH, température, potentiel redox, force ionique... ). Ces modifications chimiques ou physico-chimiques sont cependant des à-côtés qui sont souvent impossibles à négliger dans l'étude des systèmes colloïdaux et qui sont inhérents à l'œnologie. Les particules colloïdales sont thermodynamiquement instables : des dispersions finement subdivisées de deux phases distinctes ne se forment pas spontanément lorsque ces deux phases sont mises en contact.

Par contre, ces dispersions peuvent être cinétiquement stables (métastables), c'est à dire rester inchangées dans des conditions physico-chimiques données durant un temps plus ou moins long et ce du fait de l'existence d'un potentiel d'interaction répulsif entre particules.

### 1.1.1 – Stabilité des particules colloïdales – théorie D.L.V.O. étendue.

Le cas plus simple des particules colloïdales sera abordé en premier lieu. Le système considéré est celui de deux particules sphériques, séparées par une distance de séparation  $d$  (figure 1). La théorie D.L.V.O., ainsi dénommée à partir des noms de ses quatre auteurs (Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek), est très largement utilisée pour l'étude des systèmes colloïdaux. Cette théorie permet de prévoir l'évolution, en fonction de la distance de séparation, du potentiel d'interaction total qui se développe entre deux particules colloïdales lorsque ces particules s'approchent l'une de l'autre. Selon cette théorie, ce potentiel total est la somme des potentiels liés aux forces de van der Waals et aux interactions électrostatiques. Son application a été étendue pour prendre également en compte les interactions polaires, très importantes en milieu aqueux [2, 3].

Les forces de van der Waals, d'origine électrodynamique, sont généralement attractives et faibles en milieu aqueux. Les forces de London, universelles, sont celles qui sont prépondérantes. Le potentiel d'interaction attractif entre particules associée à ces forces est maximal au contact puis diminue quand la distance entre colloïdes augmente (Figure 1).

Les interactions électrostatiques interviennent dans le cas de particules colloïdales portant des charges de surface. L'existence de cette charge, liée à la présence de groupements ionisables ou à une adsorption d'ions, entraîne une accumulation de contre-ions dans la phase aqueuse entourant les particules. Cette accumulation se traduit par l'existence d'une double couche électrique dans laquelle l'excès en contre-ions diminue progressivement lorsque l'on s'éloigne de la surface, et ce jusqu'à ce que l'équilibre ionique de la phase aqueuse soit retrouvé. Les interactions électrostatiques sont liées au recouvrement de ces doubles couches électriques lorsque les particules chargées s'approchent l'une de l'autre (Figure 2). Elles sont attractives si les particules portent des charges de signe opposés et répulsives dans le cas contraire. La force ionique du milieu, déterminée par la concentration et la valence des ions présents, joue un rôle prépondérant sur l'importance de ces interactions électrostatiques et notamment sur leur portée. L'impact de ces interactions diminue lorsque la force ionique du milieu augmente, et des forces ioniques très élevées permettent de les masquer totalement. Sur la base de leur composition en ions, la force ionique des vins se situe dans la gamme 0.01 à 0.1 M. Dans cette gamme, des variations de forces ioniques sont susceptibles de modifier les interactions électrostatiques et donc les équilibres colloïdaux.

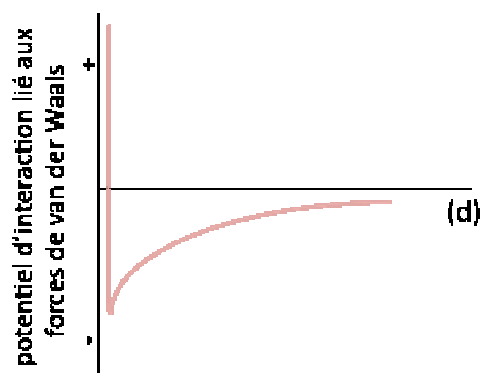


Figure 1 - Evolution du potentiel d'interaction lié aux forces de van der Waals en fonction de la distance de séparation  $d$  entre particules colloïdales.

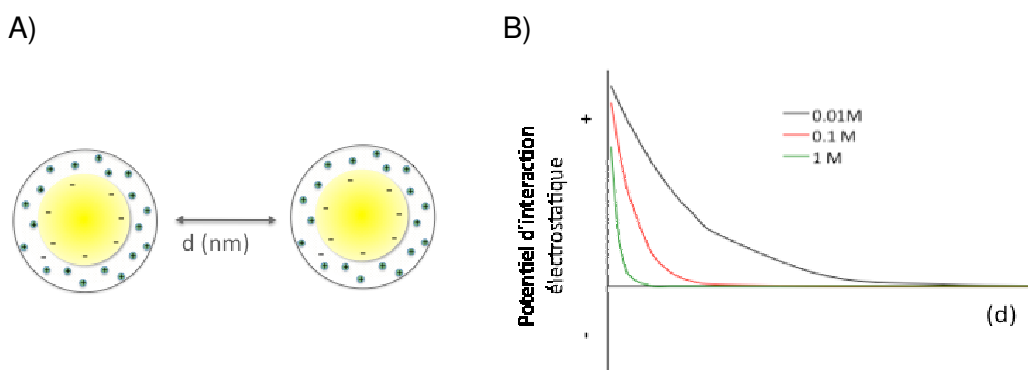


Figure 2  
A) Double-couche électrique entourant une particule chargée en solution, liée à un excès de contre-ions.  
B) Evolution du potentiel d'interaction électrostatique entre deux particules (cas de deux particules portant des charges de même signe) et impact de la force ionique du milieu.

En milieu aqueux, les forces polaires sont liées à la capacité du solvant à former des liaisons hydrogène. Ces interactions restent les plus mal comprises d'un point de vue théorique. Un composé donné (molécule, macromolécule, particule, surface,...) peut être hydrophile, c'est à dire capable d'intervenir dans des liaisons hydrogène, ou hydrophobe. Les colloïdes hydrophiles ont une forte affinité pour l'eau, qui se traduit par l'existence d'une couche d'eau liée à la surface. Quand les deux surfaces hydratées s'approchent l'une de l'autre, la présence de cette eau liée se traduit par une « répulsion hydrophile », qui varie avec la distance de séparation selon une loi exponentielle. Dans le cas d'une particule hydrophobe, l'eau va s'orienter autour de la particule d'une façon défavorable d'un point de vue thermodynamique (plus ordonnée que dans la masse de la phase aqueuse). Elle va donc tendre à s'« éliminer » de ce type de surface, ce qui se traduit par une « attraction hydrophobe ». Dans le cas des vins, la présence d'éthanol module l'impact de ces interactions polaires.

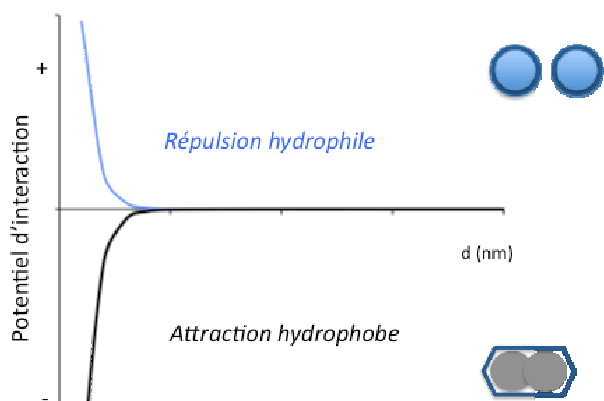
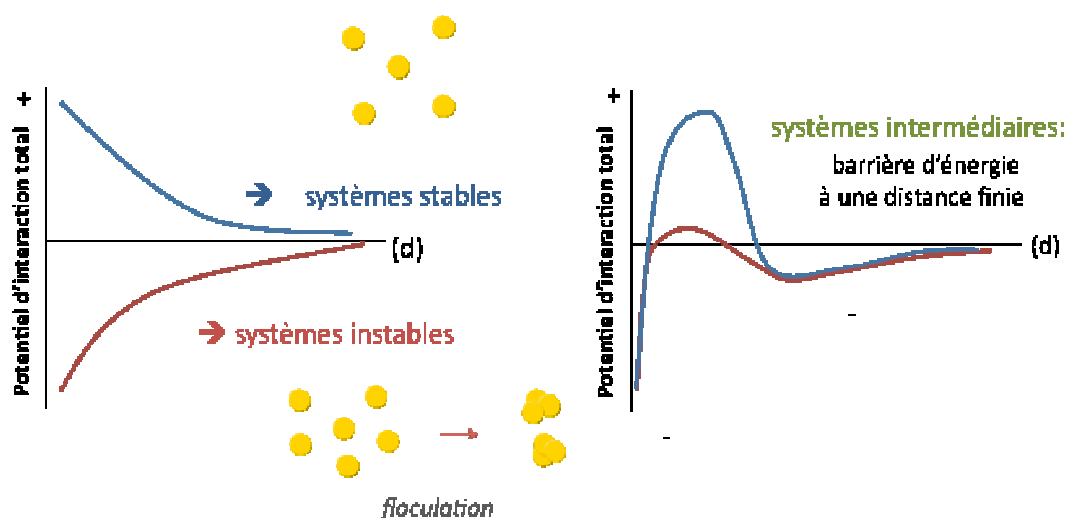


Figure 3 : Evolution des potentiels d'interaction liés à une répulsion hydrophile ou à une attraction hydrophobe.

Pour des colloïdes et un milieu donnés, le potentiel total d'interaction sera donc la somme des potentiels liés aux interactions précédemment décrites, en ce en tenant compte de leur évolution en fonction de la distance de séparation. En fonction des caractéristiques physico-chimiques des particules colloïdales (charge, caractère hydrophile/hydrophobe), de leur diamètre et du milieu (pH, force ionique, teneur en éthanol), qui vont déterminer l'impact respectif des différents types d'interactions le résultat peut être (Figure 4): (i) une attraction quelle que soit la distance de séparation, conduisant à une agrégation entre macromolécules ou à une floculation; (ii) une répulsion et donc un système stable; (iii) un potentiel d'interaction plus complexe avec l'existence d'un minimum d'attraction faible à une distance finie, une barrière d'énergie plus ou moins haute à une distance finie et un minimum d'attraction à très faible distances.

Dans ce cas la stabilité du système et, dans le cas de systèmes instables, les cinétiques d'agrégation, seront fonction de l'importance de cette barrière d'énergie et de la capacité des particules colloïdales à la surmonter sous l'effet du mouvement brownien. Ces mêmes interactions physico-chimiques, décrites ici dans le cas de deux particules, se développent également entre particules et surfaces et vont conditionner l'adhésion ou non de ces particules à un matériau donné.

Figure 4 Exemple d'évolutions possibles du potentiel d'interaction total entre deux particules en fonction de la distance de séparation. Ce potentiel d'interaction total est la somme des potentiels liés aux différentes interactions de van-der Waals, électrostatiques et polaires.



### 1.1.2 – Interactions impliquant des macromolécules : importance des caractéristiques structurales

Les mêmes types d'interactions sont responsables du comportement colloïdal (agrégation, adsorption aux interfaces) des macromolécules, mais il est difficile dans ce cas là de parler de « surface ». Le comportement physico-chimique de ces macromolécules sera lié à l'existence de « sites » ou de « zones » d'interaction (zones hydrophiles/hydrophobes, chargées ou non), ainsi qu'à leurs caractéristiques structurales. Parmi ces caractéristiques structurales les dimensions (dimensions linéaires, masse moléculaire), la forme (macromolécule linéaire ou globulaire, plus ou moins branchée) et la conformation en solution (plus ou moins étendue, plus ou moins flexible) jouent un rôle déterminant dans les interactions impliquant les macromolécules. Les interactions entre macromolécules peuvent conduire à la formation de « complexes macromoléculaires », ou d'agrégats qualifiés de particules colloïdales, la frontière entre les deux n'étant pas aisée à définir. De même que l'adsorption de co-solutés peut, dans un milieu donné, venir modifier les propriétés de surface de particules, des interactions entre petites molécules et macromolécules peuvent modifier le comportement physico-chimique de ces dernières.

### 1.1.3 Cas de milieux contenant à la fois des macromolécules et des particules.

Dans des systèmes contenant à la fois des macromolécules et des particules, les interactions entre macromolécules et particules peuvent avoir des conséquences très différentes. Ces interactions peuvent conduire à stabiliser les particules, les macromolécules jouant alors le rôle de « colloïde protecteur », ou au contraire provoquer leur floculation dans le milieu. De nombreux cas de figures sont possibles, en fonction des caractéristiques structurales des macromolécules, de leur capacité ou non à s'adsorber sur les particules, des concentrations respectives en macromolécules et particules .... Un exemple peut être le cas où co-existent dans le milieu des particules et des macromolécules colloïdales en bon solvant, capables de s'adsorber à la surface de la particule par l'intermédiaire de plusieurs sites d'interaction. Dans ce cas particulier, l'impact de ces interactions sur la stabilité du système sera très dépendant du ratio macromolécules/particules. Dans le cas d'un ratio élevé, ces interactions vont conduire à la formation d'une couche adsorbée entourant la globalité de la particule. Les macromolécules étant en bon solvant (elles se repoussent), la présence de cette couche adsorbée va se traduire par une répulsion (répulsion stérique) qui stabilise ces particules et prévient leur floculation (Figure 5A). Dans le cas d'un ratio faible, une macromolécule interagit avec plusieurs particules et provoque au contraire leur floculation et leur précipitation dans le milieu (Figure 5B).

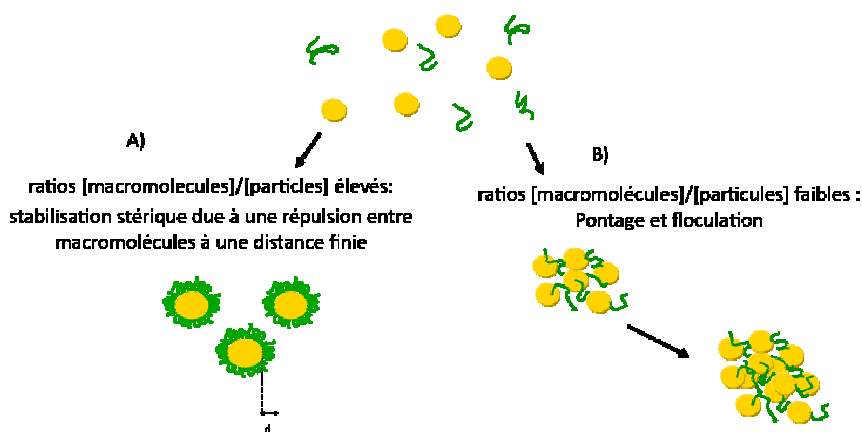


Figure 5 : interactions macromolécules/particules - conséquences dans le cas de macromolécules en bon solvant, capables de former des interactions multiples avec les particules.

## 1.2 – Etat colloïdal dans les moûts et des vins

Le vin est un système colloïdal complexe, où co-existent des macromolécules présentant une grande diversité structurale et des particules colloïdales dont l'origine peut être diverse et dont les propriétés restent mal définies. Des interactions physico-chimiques peuvent se développer entre macromolécules, entre particules mais aussi entre macromolécules et particules. Ces interactions peuvent intervenir en solution comme aux interfaces. Ces interactions, comme cela a été souligné précédemment,

seront très dépendantes des propriétés physico-chimiques de ces composés colloïdaux et dans le cas des macromolécules de leurs caractéristiques structurales. Elles seront également très influencées par la matrice. Le pH et la force ionique du vin auront une influence déterminante sur les interactions électrostatiques alors que les interactions polaires seront modulées par la présence d'éthanol. La présence de co-solutés (acides organiques, composés phénoliques simples, osides, ...) peut également influencer ces interactions.

### 1.2.1 - Macromolécules

Les macromolécules colloïdales présentes dans les moûts et les vins sont des protéines, des polysaccharides et des composés phénoliques oligomères et polymères. Ces macromolécules, décrites très brièvement par la suite, constituent dès l'origine un ensemble de composés de propriétés structurales (unités constitutives, masse moléculaire, conformation) et physico-chimiques (caractère hydrophile/hydrophobe, charge) très variables. La composition initiale en macromolécules sera dépendante de la matière première et de son degré de maturité, ainsi que des choix technologiques effectués par le vinificateur. Les durées de macération, l'utilisation d'enzymes pour la clarification et l'extraction, les thermo-traitements de la vendange sont par exemple autant d'opérations qui vont fortement moduler cette composition. Par ailleurs, cette dernière évolue lors de l'élevage et du stockage des vins, du fait de la réactivité chimique des composés ou d'activités biologiques (action de micro-organismes et d'enzymes). Ces évolutions, souvent indispensables au développement de la qualité, contribuent à augmenter la diversité structurale et la complexité des équilibres colloïdaux existant dans les vins. Cette diversité est encore accrue par l'utilisation de produits œnologiques visant à améliorer leur stabilité et/ou leur qualité.

La composition en protéines des vins est relativement simple. Ceci est lié au fait que seules quelques unes des nombreuses protéines de la baie de raisin sont solubles dans les moûts et résistent ensuite à la vinification. Ces protéines sont des thaumatine-like – protéines, des chitinases, des  $\alpha$ -glucanases et des invertases [4, 5]. On les retrouve essentiellement dans les vins blancs, où leur concentration peut varier entre 15 à 300 mg/L. En vinification en rouge, l'extraction des tanins durant la fermentation conduit à la précipitation de la plupart d'entre elles. Ces protéines ont des masses moléculaires comprises entre 19 et 70 kDa et sont pour la plupart acides, avec des points isoélectriques compris entre 4,5 et 5. Une analyse plus détaillée montre cependant que la simplicité de la composition en protéines des vins n'est qu'apparente. Il existe en fait, au sein d'une même famille, une grande diversité de polypeptides similaires mais présentant des propriétés physico-chimiques (charge, hydrophobicité) distinctes [4, 6]. Cette diversité est attribuée au fait que ces protéines sont synthétisées sous des formes diverses dans les baies, et ce dès le début de la maturation [7].

Les polysaccharides provenant du raisin et retrouvés dans les moûts et les vins sont issus de la dégradation enzymatique des pectines pariétales. Le terme de polysaccharide pectique recouvre en fait un ensemble de structures très diverses : arabinogalactanes (AG) et arabinogalactane-protéines (AGP), arabinanes et rhamnogalacturonanes I et II (RG I et II) [8]. Arabinogalactanes, arabinogalactane-protéines et RGII sont majoritaires. AG et AGP sont caractérisés par une structure très ramifiée. Leur masse moléculaire peut varier d'environ 130 à 250 kDa et si ils sont majoritairement neutres, certaines fractions ont une charge négative significative, liée à leur teneur en acides uroniques. Les RG-II sont des polysaccharides complexes de petite masse (5 kDa et 10 kDa pour les formes monomère et dimère, respectivement), caractérisés par la présence de monosaccharides spécifiques et qui portent une charge négative très importante [9]. Les teneurs en polysaccharides pectiques, plus élevées dans les vins rouges que dans les vins blancs, peuvent varier de 100 à quelques centaines de mg/L. Les vins contiennent également des mannoprotéines, issues des parois de cellules de levures [10]. Leur masse moléculaire peut varier de 30 à 400 kDa et leur concentration dans les vins est généralement comprise entre 100 à 200 mg/L. Les teneurs finales en polysaccharides, ainsi que les proportions respectives des différentes familles, seront très dépendantes de l'utilisation ou non de préparations enzymatiques (enzymes de clarification ou d'extraction) et des conditions d'extraction (temps de contact avec les parties solides de la baie de raisin ou avec les lies) [10-12]. Dans le cas des mannoprotéines, la souche de levure utilisée pour la fermentation comme l'utilisation de produits dérivés de levures introduisent un facteur supplémentaire de

variabilité [13, 14]. Les polysaccharides pectiques sont également sujets à des remaniements au cours de la vinification, du fait d'activités enzymatiques attribuables aux micro-organismes [15, 16].

Les tanins natifs, extraits du raisin, sont des oligomères et de polymères d'unités flavane-3-ols, principalement liés par des liaisons C4-C8. Ils présentent une structure étendue et flexible et diffèrent entre eux par leur degré de polymérisation moyen (DPM) ainsi que par la nature de leurs unités constitutives : catéchine, épicatechine, épigallocatechine et épicatechine-gallate. Du fait de leur réactivité chimique, ces tanins évoluent au cours de la vinification et du vieillissement des vins pour donner une très grande diversité de tanins et de pigments (réactions anthocyanes/tanins) dérivés. Les différentes voies réactionnelles à l'origine de ces évolutions, ainsi que les structures dérivées qui en sont issues, ont été identifiées dans le cas de composés phénoliques simples (flavanols monomères et dimères, anthocyanes), accessibles à l'analyse [17, 18]. Ces voies réactionnelles seront dépendantes de différents paramètres, parmi lesquels ont été identifiés la composition initiale en tanins et en anthocyanes et les proportions de ces deux types de composés, le pH et la gestion de l'oxygène [18]. Il n'existe en revanche que très peu d'information quant à ces évolutions structurales dans le cas où des tanins oligomères et polymères sont impliqués. Ces derniers constituent cependant la majorité des composés phénoliques initialement présents dans les vins rouges et il est clair que ces évolutions ont un impact déterminant sur leurs propriétés et la qualité finale des vins. Cette absence d'information est liée aux difficultés rencontrées dans le fractionnement et l'analyse des structures dérivées qui en sont issues. Si la réactivité chimique de ces tanins doit être similaire à celle des composés simples, des spécificités sont attendues du fait de leur caractère polymérique [19]: compétition entre réaction intra et intermoléculaire, qui va avoir une influence sur leur degré de polymérisation moyen, et dans le cas de réactions intermoléculaires compétition entre unités terminales et intermédiaires, qui va définir le type de structure dérivée formée (polymères linéaires ou branchés, le type de sites et de liaisons). Ces spécificités vont avoir une incidence sur la conformation en solution et la flexibilité de ces polymères. A l'échelle moléculaire cette réactivité, liée à des réactions d'oxydation, entraîne également des modifications de la structure chimique de leurs unités constitutives. Ces évolutions vont donc modifier les propriétés physico-chimiques des tanins telles que leur solubilité et leurs interactions avec d'autres biopolymères (protéines et polysaccharides).

### 1.2.2 - Particules colloïdales

La présence de particules de taille colloïdale dans les moûts et les vins est mise en évidence par granulométrie lazer, diffusion dynamique de la lumière et observations au microscope électronique à balayage. Dans l'ensemble, ces analyses montrent une polydispersité très importante, avec des tailles variant de quelques dizaines de nanomètres au micron. Ces particules peuvent avoir différentes origines et diffèrent très certainement entre les moûts et les vins. Il peut tout d'abord s'agir de débris de cellules végétales. Il peut également s'agir d'agrégats de molécules ou de macromolécules, formés pendant les opérations d'extractions par des structures peu solubles dans le milieu, ou au cours de la vinification du fait de modifications des conditions physico-chimiques (teneur en éthanol, température, ...) et/ou de modifications structurales liées à des réactions chimiques ou biologiques. Comme cela a été précisé précédemment, le vin est un système complexe soumis à de nombreuses évolutions, évolutions qui auront un impact déterminant sur la solubilité et les caractéristiques physico-chimiques de ses différents composés. Du fait de leurs différentes origines, ces particules sont susceptibles de présenter des propriétés très différentes en termes de charge et de caractère hydrophile/hydrophobe. Ces propriétés sont liées aux groupements présents à la surface des particules, et donc dépendantes de leur composition. Elles peuvent par ailleurs être modulées par l'adsorption à la surface de ces particules de solutés ou d'ions présents dans le milieu. Ces particules colloïdales, du fait de leur taille, ne sont pas affectées par les traitements de décantation et ne sont pas éliminées dans leur totalité par la centrifugation. Elles devront donc être éliminées par des traitements de clarification tels que la filtration ou le collage.

## II - ROLE DES COLLOÏDES ET DES PHENOMENES COLLOÏDAUX EN ŒNOLOGIE:

Les colloïdes et les interactions colloïdales ont des conséquences très diverses en œnologie, qui peuvent être positives ou négatives et qui sont décrites dans ce qui suit. Ces conséquences concernent la

composition même des moûts et des vins, leur stabilité, les opérations de clarification et de stabilisation et enfin la qualité des produits.

## **2.1 – Interactions composés phénoliques – parois cellulaires : Impact sur la composition en tanins des moûts et des vins**

L'existence d'interactions physico-chimiques entre tanins natifs et parois de cellules végétales a été démontré [20]. Ces parois sont majoritairement constituées de polysaccharides et contiennent également des protéines. Des travaux de recherche récents ont permis de mettre en évidence une interaction préférentielle des tanins de haut degré de polymérisation avec le matériel pariétal insoluble. Ils soulignent également l'incidence de la composition et de la structure de la paroi, liées au degré de maturité de la baie, sur cette adsorption. Au cours des opérations de macération, cette structure et cette composition pourront également être affectées par l'utilisation d'enzymes. Ces interactions vont moduler la composition initiale en tanins natifs et donc leur évolution dans les vins. Cette adsorption se produit également entre composés phénoliques et parois de cellules de levures, au cours de la fermentation et lors de l'élevage des vins. Il a été montré que les composés adsorbés sont outre des anthocyanes [21, 22], des polyphénols polymères natifs et dérivés [23, 24].

## **2.2 – Stabilité colloïdale des vins et traitements physico-chimiques de stabilisation**

Le développement d'interactions physico-chimiques peut, une fois le vin embouteillé, entraîner la formation de troubles et de précipités préjudiciables à la qualité des produits. Les macromolécules généralement mises en cause dans le développement de troubles et de précipités sont les protéines dans le cas des vins blancs et les composés phénoliques (« matière colorante colloïdale ») dans le cas des vins rouges. Les polysaccharides sont généralement considérés comme des « colloïdes protecteurs », capables de stabiliser le milieu. Ces troubles et précipités peuvent cependant être de compositions diverses et ne sont pas forcément attribuables à un seul type de constituant. Les traitements de collage proposés pour remédier à leur développement mettent également en jeu des phénomènes physico-chimiques. Ils consistent à introduire dans le vin un adjuvant (macromolécule ou particule colloïdale) susceptible d'interagir de façon sélective avec les espèces à éliminer, interactions conduisant à leur agrégation puis à leur floculation dans le milieu, permettant de les éliminer par soutirage.

L'instabilité protéique des vins blancs est liée à une dénaturation plus ou moins lente des protéines du fait de températures de stockage trop élevées. Cette dénaturation, en modifiant leur structure tridimensionnelle initiale, expose des zones hydrophobes et entraîne leur précipitation dans le milieu. Le collage des vins à la bentonite, qui élimine ces protéines par adsorption, permet de remédier au problème et d'assurer la stabilité des vins. Cette adsorption est due essentiellement à des interactions électrostatiques attractives entre les protéines, chargées positivement au pH du vin, et la surface des particules d'argile, chargées négativement [25]. Les travaux de recherches entrepris ces dernières années ont montré que le développement de troubles liés à ces protéines est influencée par la composition du vin, et notamment sa composition en polyphénols et en polysaccharides [5, 26]. La matrice va donc jouer un rôle déterminant dans la stabilité des vins, donc l'impact exact n'est pas élucidé. En revanche, il est maintenant clairement établi que toutes les protéines présentes dans les vins n'ont pas la même stabilité et ne présentent pas les mêmes risques vis-à-vis de ces problèmes d'instabilité [26-28]. Or les tests de stabilité actuellement utilisés, dont le plus répandu est le test à la chaleur, ne sont pas sélectifs : ils conduisent à induire la précipitation dans les vins de la quasi-totalité des protéines présentes. Les doses de bentonites utilisées pour stabiliser les vins étant déterminées à partir de ces tests, ce traitement de stabilisation, si il est très efficace, est vraisemblablement excessif. Les doses utilisées induisent d'importantes pertes de volumes (de 3 à 10 %) et une altération de la qualité organoleptique des vins (pertes d'arômes, altération de la couleur). De plus, la manipulation de ces bentonites comme le devenir des bentonites usagées doivent être pris en considération (santé et sécurité du personnel, environnement) [5]. Dans ce contexte il existe donc un intérêt de la filière pour le développement d'outils prédictifs plus fiables, permettant la mise en œuvre de traitements de stabilisation moins poussés ou encore le développement de procédés alternatifs à la bentonite. Pour cela, une connaissance approfondie des

mécanismes mis en jeu et de l'impact de la composition du vin est nécessaire. Les progrès actuels de la recherche dans ce domaine devraient permettre de pouvoir proposer ces outils à relativement court terme.

L'origine du développement d'instabilités colloïdales dans les vins rouges est beaucoup moins bien comprise. Ceci est vraisemblablement dû aux difficultés rencontrées dans l'analyse des composés phénoliques dérivés formés lors de la vinification et de l'élevage des vins, qui ne permet pas à l'heure actuelle l'identification précise des structures impliquées. En œnologie, ces problèmes sont le plus souvent attribués à une augmentation du degré de polymérisation moyen des tanins, seuls ou associés à des anthocyanes (pigments dérivés), qui conduit à leur précipitation. Les polysaccharides sont généralement considérés comme des colloïdes protecteurs vis-à-vis de ces précipitations de matière colorante colloïdale. Ni la nature exacte des évolutions conduisant à ces pertes de solubilité, ni l'impact de la composition des vins n'ont cependant été clairement élucidés. Des travaux de recherches entrepris ces dernières années ont permis de progresser dans l'identification:

- des relations existant entre les caractéristiques structurales des tanins, les propriétés du solvant (teneur en éthanol, force ionique, présence de co-solutés) et leur comportement colloïdal (solubilité, auto-agrégation pour former des particules colloïdales, stabilité ou non de ces dispersions) [19, 29-31] ;
- de l'impact respectif de différents polysaccharides dans ces équilibres [32, 33].

Ces travaux, menés en solutions modèles, ne permettent cependant pas à l'heure actuelle de prendre en compte la complexité des vins. Les connaissances restent très fragmentaires du fait de la diversité structurale des macromolécules impliquées, tant pour les polyphénols que pour les polysaccharides.

La stabilisation des vins avant embouteillage peut être obtenue par traitement au froid ou collage (collage protéique ou collage mixte protéine/bentonite). L'efficacité de ces traitements est cependant très aléatoire. Une autre solution est l'utilisation d'un additif, la gomme arabique, qui agit par stabilisation stérique.

### 2.3 - Composés colloïdaux et cristallisation des sels d'acide tartrique

Les macromolécules colloïdales des vins ont une incidence déterminante sur leur stabilité vis-à-vis de la cristallisation des sels d'acide tartrique. Elles interviennent sur la nucléation comme sur la croissance des cristaux. Polyphénols et polysaccharides ont généralement un effet stabilisant : ils augmentent le domaine de sursaturation et donc la solubilité des sels et la stabilité des vins et ont également un effet inhibiteur sur la croissance, lié à leur adsorption à la surface des cristaux [34-39]. L'identification du rôle joué par les polysaccharides et les polyphénols des vins sur la cristallisation des sels d'acide tartrique a permis le développement de tests rapides et fiables pour évaluer la stabilité des vins et définir les traitements de stabilisation nécessaires. Cet effet stabilisant, qui peut avoir un impact négatif sur les opérations de stabilisation par le froid, est également mis à profit dans le développement de nouveaux procédés de stabilisation par le biais d'additifs tels que des mannoprotéines [40] ou des carboxyméthylcelluloses. Ces traitements de stabilisation sont efficaces mais on ajoute dans un système colloïdal déjà complexe, particulièrement dans le cas des vins rouges, des macromolécules qui sont elles-mêmes susceptibles d'interagir avec des composés présents dans les vins. Le développement de ces additifs, dont l'efficacité est liée à une structure spécifique, doit donc également prendre en compte les évolutions susceptibles de se produire dans les vins, ainsi que leurs cinétiques, de façon à éviter d'introduire un facteur d'instabilité.

### 2.4 - Clarification des vins par collage

Le collage des vins peut avoir différents objectifs : leur stabilisation, l'amélioration de leurs caractéristiques organoleptiques et leur clarification. Dans les deux premiers cas, on recherche une interaction spécifique entre l'adjuvant de collage et certaines des molécules/macromolécules des vins. Dans le cas de la clarification, on cherche une élimination des particules colloïdales et des micro-



organismes. Cette élimination peut être liée à des interactions directes entre l'adjuvant de collage et les particules, provoquant leur floculation et leur sédimentation, ou à un effet d'entraînement : les interactions entre adjuvants et composés présents dans les vins (par exemple entre protéines et polyphénols) conduisent à la formation de floccs qui en sédimentant entraînent ou piègent les particules. Différents mécanismes peuvent être impliqués et coexister, selon les caractéristiques des particules et des adjuvants de collage considérés. La pratique de ce traitement reste pour l'instant très empirique en œnologie, basée sur l'expérience. L'œnologue dispose d'un ensemble d'adjuvants organiques et inorganiques de propriétés très différentes (gélatines, caséines, ovalbumine ou blanc d'œuf, ichtyocolle, polyvinylpolypyrrolidone, sol de silice, bentonites, tanins,...) sur lesquelles il peut jouer pour obtenir le résultat souhaité, notamment en termes de clarification. Il recherche en général des cinétiques d'interactions et de floculation rapides, ainsi qu'une sédimentation également rapide et complète des floccs, avec des hauteurs de lies les plus faibles possibles. Ces deux derniers paramètres seront fonction de la structure des floccs formés, notamment de leur taille et de leur densité.

La nécessité de trouver des adjuvants alternatifs aux protéines de collage traditionnelles a entraîné ces dernières années le développement de travaux de recherche sur le sujet [41-46]. La demande d'adjuvants alternatifs a dans un premier temps concerné les gélatines, et ce à la suite de l'émergence de l'encéphalopathie spongiforme bovine. Elle s'est ensuite étendue à l'ensemble des protéines présentant un risque allergène potentiel. Ces travaux, qui sont développés par comparaison avec les adjuvants traditionnels, ont déjà conduit au développement de nouvelles protéines, d'origine végétale. Ils devraient permettre à plus long terme de progresser dans l'identification des mécanismes physico-chimiques mis en jeu dans le collage des vins et d'identifier les points clefs impliqués dans la réussite de ces traitements, tels que l'impact des caractéristiques structurales des protéines (masse moléculaire moyenne, charge, hydrophobicité, conformation en solution) et de la matrice vin sur la composition en polyphénols et la clarification.

## 2.5 - Interactions aux interfaces et efficacité des procédés de séparation

Des interactions physico-chimiques peuvent également se développer aux interfaces solide/liquide. Si ces interactions sont parfois directement impliquées dans le bon déroulement d'opérations de séparation, elles peuvent avoir un impact négatif. C'est le cas notamment pour de nombreuses opérations de séparation par membranes. Ces procédés de séparation doivent concilier : une bonne productivité et une bonne sélectivité, une qualité accrue des produits, en réponse à des cahiers des charges précis, une maîtrise des rejets et des effluents et une minimisation de la consommation énergétique. Outre un impact direct sur les flux et la sélectivité, les interactions qui se développent aux interfaces matériaux/vins induisent des problèmes dans la régénération de ces matériaux, à l'origine de surcoûts et générateurs de rejets comme de consommations accrues en eau et en énergie. Des modifications de sélectivité sont également susceptibles d'influencer la qualité des produits. L'identification des mécanismes impliqués est donc indispensable pour l'optimisation et la maîtrise des procédés existants comme pour l'implantation de nouveaux procédés.

Un exemple peut être celui de la microfiltration tangentielle. En dépit de ses avantages certains par rapport aux opérations classiques de clarification et de stabilisation microbiologique des vins, ce procédé a eu du mal pendant de nombreuses années à s'implanter dans la filière. Ceci était lié à une inadéquation entre les matériaux initialement utilisés, la mise en œuvre du procédé (choix des conditions de pression transmembranaire et de circulation tangentielle) et les caractéristiques des vins. Cette inadéquation conduisait à un colmatage rapide et en grande partie irréversible des membranes. Ce colmatage avait différentes conséquences : (i) une diminution importante des flux et des problèmes de régénération des matériaux, ayant un impact négatif sur la rentabilité économique du procédé et (ii) des rétentions importantes en macromolécules colloïdales, en particulier en polysaccharides, et ce alors que ces macromolécules ne devraient pas a priori être affectées par ce procédé [47-49]. Ces problèmes ont conduit au développement de travaux de recherche qui ont permis de mieux comprendre le rôle que peuvent jouer les composés présents dans le vin dans son développement. Ces travaux ont conduit à adopter des matériaux et des mises en œuvre du procédé adaptées au cas des vins et répondant au cahier des charges défini.

Une des premières observations a été le rôle joué par des composés organiques dans le développement du colmatage irréversible des membranes. Des observations au microscope électronique à balayage des membranes de microfiltration après microfiltration tangentielle d'un vin rouge montrent la formation d'un dépôt de surface organique, hétérogène et adhérent au matériau (non éliminé par l'annulation de la pression transmembranaire). Des analyses effectuées sur des membranes après microfiltration montrent que ce colmatage est lié aux polysaccharides et aux composés phénoliques (notamment composés phénoliques polymères) présents dans les vins. Ce colmatage « organique » pouvait avoir deux origines: (i) une accumulation, à la surface de la membrane, d'agrégats macromoléculaires (particules colloïdales) présents dans le vin à clarifier et non affectés par la contrainte de cisaillement tangentielle, et/ou (ii) des interactions entre macromolécules à l'origine en solution et matériaux membranaires.

Des essais de filtration réalisés avec des vins parfaitement pré-clarifiés (absence de toute particule détectable par diffusion dynamique de la lumière) ou avec des solutions modèles de polysaccharides et/ou de polyphénols purifiés à partir de ces mêmes vins ont permis de montrer que les polysaccharides et les composés phénoliques, bien que de taille très inférieure à la taille des pores des membranes de microfiltration, sont susceptibles d'induire des diminutions importantes de flux [50-52]. L'observation des membranes après filtration montre la formation d'un dépôt organique à la surface de la membrane. La formation de ce dépôt a été attribuée à une première étape d'interaction entre macromolécules du vin et matériau, rapidement suivie par des interactions entre macromolécules conduisant à une agrégation à l'entrée des pores. Cette agrégation est favorisée par le flux de perméation et l'apport de constituants. Elle conduit finalement à la restriction du diamètre de certains de ces pores et à la formation d'un dépôt de macromolécules à la surface de la membrane (Figure 6) [53, 54]. Des essais réalisés avec différents matériaux soulignent l'impact des propriétés de surface des membranes sur la nature des structures impliquées et la réversibilité du colmatage.

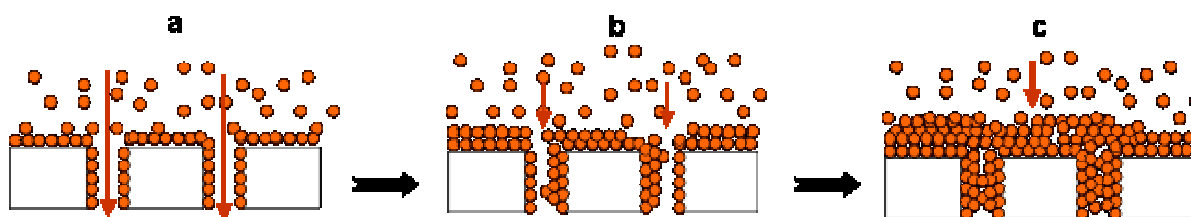


Figure 6: mécanismes impliqués dans le colmatage des membranes de microfiltration par des macromolécules. a) première interaction entre certaines des macromolécules présentes dans le vin et la membrane. b) interactions entre les macromolécules adsorbées et d'autres macromolécules du vin, favorisée par l'apport de ces constituants du fait du flux de perméation et c) agrégation à l'entrée des pores conduisant à la constriction (diminution du diamètre) de certains de ces pores et à la formation d'un dépôt de matière organique à la surface.

Ces interactions physico-chimiques impliquant les macromolécules et la membrane ne permettent cependant pas de rendre compte des diminutions de flux observées dans le cas de la filtration d'un vin trouble, chargé en particules. Les diminutions de flux liées à ces interactions sont plus faibles et se développent sur des temps beaucoup plus longs. Elles ne permettent pas non plus de rendre compte des rétentions importantes observées lors des premiers essais de transfert du procédé. Des analyses réalisées avant et après filtration ne permettent pas de mettre en évidence de différences entre perméat et rétentat. Les éléments responsables du trouble jouent donc un rôle essentiel dans le colmatage des membranes.

En microfiltration tangentielle, la formation d'un dépôt d'épaisseur croissante à la surface de la membrane est prévenue par la circulation tangentielle du fluide, qui exerce une contrainte permettant de contrebalancer l'effet du flux de perméation. Ce flux, lié à l'application d'une pression transmembranaire, tend quand à lui à amener les particules vers cette surface. Les particules de petite taille, beaucoup moins affectées par la contrainte tangentielle, se déposent de façon préférentielle lors de la microfiltration de fluides complexes [55-58]. Les éléments responsables du trouble ont été caractérisés sur différents vins par analyse granulométrique, diffusion dynamique de la lumière (technique adaptée aux particules sub-

microniques) et observations en microscopie électronique à balayage. Ces analyses ont permis de mettre en évidence la présence dans les vins troubles, à côté des levures et des bactéries lactiques, d'agrégats ou particules de taille colloïdale [59, 60]. Ces particules constituent des suspensions très polydisperses, avec des dimensions variant de la centaine de nm au micron. Leur dépôt à la surface de la membrane ne peut être évité que pour des pressions transmembranaires très faibles (inférieures à 0,2 bars), et donc des flux de perméation également très faibles, difficilement compatibles avec le mode d'utilisation du procédé dans la filière. L'application de pressions plus élevées non seulement ne permet pas d'améliorer les flux mais engendre un colmatage de surface rapide [59, 60]. Ce dépôt, dense et compressible, évolue dans le temps. Il conduit à la formation d'une « seconde membrane », ayant sa propre sélectivité et donc susceptible d'engendrer des phénomènes de rétention. Son caractère irréversible, lié à des interactions entre particules et membrane, peut entraîner des difficultés de régénération.

La solution adoptée en œnologie pour permettre l'obtention de flux compatibles avec la rentabilité économique du procédé a été l'introduction de rétrofiltrations (ou backpulses). Cette technique, basée sur une inversion très brève et périodique des flux, permet de déstructurer régulièrement le dépôt formé en surface, les particules et agrégats qui le constituent étant alors éliminés dans le rétentat grâce à la circulation tangentielle du fluide. En œnologie, cette technique permet d'augmenter les débits de filtration moyens d'un facteur 2 à 3. Associée à l'utilisation de pressions trans-membranaires raisonnables (le plus souvent inférieures à 1 bar) et à la sélection de matériaux membranaires adéquats, permettant de limiter les phénomènes d'interactions, cette technique a également permis de lever le verrou représenté par les rétentions en colloïdes totaux (polysaccharides), en les abaissant à des niveaux comparables à ceux observés pour d'autres techniques de filtration. En parallèle, des progrès ont été réalisés dans la gestion des modalités et des cycles de régénération des membranes. Une voie d'amélioration qui reste à explorer est celle du développement d'un outil prédictif simple, automatisé, pour gérer au mieux les cycles de filtration dans le cas de chaque vin et augmenter sa productivité en termes de débits moyens. En effet, des situations très différentes et la variabilité existant dans la composition en colloïdes des vins rendent parfois difficile la prévision et l'optimisation du déroulement de la filtration (durée du cycle, débits moyens, optimisation des rétro-filtrations, ...).

## 2.6 - Composés colloïdaux et qualité des vins

Si le rôle exact joué par ces interactions physico-chimiques et les équilibres colloïdaux qui en découlent sur les caractéristiques organoleptiques des vins n'est pas encore clairement identifié, il est généralement considéré que « l'équilibre colloïdal du vin » joue un rôle essentiel dans l'appréciation de sa qualité organoleptique et que des traitements de clarification ou de stabilisation trop poussés, en modifiant cet équilibre, nuisent à cette qualité. Ce rôle fait l'objet de travaux de recherche dans différents domaines : sensation d'astringence et « rondeur » en bouche des vins rouges, caractéristiques aromatiques des vins [10, 61-63] et qualité de la mousse des vins effervescents [64, 65].

L'astringence par exemple constitue un critère essentiel de la qualité des vins rouges. Elle correspond à une sensation de rugosité, de dessèchement des muqueuses buccales associée à la consommation d'aliments ou de boissons riches en tanins. Son origine physiologique n'est pas clairement établie à l'heure actuelle. L'existence d'interactions entre protéines salivaires riches en proline et tanins a été largement étudiée et démontrée [66-69]. Elle conduit à la formation d'agrégats et de précipités. Ces particules, dont la présence dans la salive modifie les forces de frictions entre les muqueuses buccales, peuvent par elles-mêmes être à l'origine de cette sensation. D'autres travaux soulignent le fait que des interactions directes entre les tanins, ou les complexes tanins-protéines salivaires et muqueuses buccales interviennent également dans son développement [70]. Cette complexité des processus physiologiques impliqués, associée à celle de la matrice vin, rend très difficile l'identification des relations existant entre la composition des vins et leurs caractéristiques en bouche.

Les travaux de recherches visant à identifier ces relations le font soit par le biais d'études sensorielles sur des vins ou des solutions modèles de composition définie, soit par le biais d'études physico-chimiques visant à étudier ces interactions et à mettre en évidence les structures et les mécanismes impliqués. Ces différentes approches soulignent l'importance des caractéristiques

structurales des tanins sur leur interaction avec les protéines salivaires et l'astringence. L'astringence augmente avec degré de polymérisation moyen et la galloylation des tanins [71, 72], tout comme leur interaction avec les protéines. Si il est clair dans la pratique que les évolutions structurales des composés phénoliques, de même que la présence de certains polysaccharides, modulent cette sensation, les mécanismes impliqués ne sont pas identifiés.

## CONCLUSION : EVOLUTION DES CONNAISSANCES ET DIFFICULTES EN ŒNOLOGIE.

Des progrès significatifs ont été effectués ces vingt dernières années dans l'analyse et la caractérisation structurale des macromolécules des vins, ainsi que dans l'identification des voies réactionnelles dans lesquelles sont impliquées les composés phénoliques. Ces progrès ont été permis par l'évolution des outils analytiques disponibles dans les laboratoires de recherches. Ils rendent possible la mise en place d'approches physico-chimiques. Ceci se traduit par un développement croissant d'études visant à déterminer les mécanismes impliqués dans les phénomènes colloïdaux et les relations entre les caractéristiques structurales de ces macromolécules et leurs propriétés. Cette identification constitue un préalable indispensable pour : (i) déterminer les liens existant entre la composition des vins, leurs propriétés organoleptiques et leur stabilité; (ii) développer de nouveaux produits et procédés alternatifs, ou des matériaux peu sensibles au colmatage, pour l'élaboration, la clarification et la stabilisation des vins.

Si les implications pratiques que peuvent avoir ces connaissances pour la filière sont claires, la recherche se heurte dans le cas de l'œnologie à différentes difficultés. La première difficulté est la variabilité de composition des vins et la diversité structurale des macromolécules en présence, et ce au sein d'une même famille. Associée à celle de la matrice, cette variabilité multiplie les systèmes à considérer. Le développement d'études en solutions modèles, avec toutes les limites que cela implique, est nécessaire pour appréhender cette complexité. Ces études doivent être confrontées aux résultats obtenus en milieux réels, que ce soit pour choisir des modèles pertinents ou pour valider les modèles proposés. Si les connaissances restent fragmentaires, il est cependant important de rappeler que le développement de recherches fondamentales dans le domaine est récent. Ces recherches permettront vraisemblablement à terme de les compléter, de les recouper et d'identifier les paramètres qui, dans les vins, jouent un rôle déterminant dans ces phénomènes colloïdaux. Une autre difficulté, et non des moindres, concerne l'analyse et la caractérisation structurale des composés phénoliques dérivés polymères. L'évolution des méthodes et des outils analytiques, déjà amorcée, sera nécessaire pour pouvoir les étudier de façon approfondie.

## Références Bibliographiques

1. Hiemenz, P.C., *Principles of colloids and surface chemistry*. 2d edition ed1986, New York and Basel.
2. Israelachvili, J., *Intermolecular and surface forces*, ed. J. Israelachvili1992, London: Academic Press.
3. Van Oss, C.J., *Interfacial forces in aqueous media*, ed. C.J. Van Oss1994, New York: Marcel Dekker Inc.
4. Ferreira, R.B., et al., *The wine proteins*. Trends in Food Science and Technology, 2002. **12**: p. 230-239.
5. Waters, E.J., et al., *Preventing protein haze in bottled white wine*. The Australian Journal of Grape and Wine Research, 2005. **11**: p. 215-225.
6. Marangon, M., et al., *Grape and wine proteins: their fractionation by hydrophobic interaction chromatography and identification by chromatographic and proteomic analysis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009. **57**(10): p. 4415-4425.
7. Monteiro, S., et al., *The wide diversity of structurally similar wine proteins*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001. **49**(8): p. 3999-4010.
8. Vidal, S., et al., *The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterization*. Carbohydrate Polymers, 2003. **54**(4): p. 439-447.
9. Vernhet, A., et al., *Charge properties of some grape and wine polysaccharide and polyphenolic fractions*. American Journal of Enology and Viticulture, 1996. **47**(1): p. 25-30.
10. Feuillat, M., *Yeast macromolecules: Origin, composition, and enological interest*. American Journal of Enology and Viticulture, 2003. **54**(3): p. 211-213.

11. Doco, T., P. Williams, and V. Cheynier, *Effect of flash release and pectinolytic enzyme treatments on wine polysaccharide composition*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007. **55**(16): p. 6643-6649.
12. Ducasse, M.A., et al., *Effect of macerating enzyme treatment on the polyphenol and polysaccharide composition of red wines*. Food Chemistry, 2010. **118**(2): p. 369-376.
13. Caridi, A., *New perspectives in safety and quality enhancement of wine through selection of yeasts based on the parietal adsorption activity*. International Journal of Food Microbiology, 2007. **120**(1-2): p. 167-172.
14. Pozo-Bayon, M.A., I. Andujar-Ortiz, and M.V. Moreno-Arribas, *Scientific evidences beyond the application of inactive dry yeast preparations in winemaking*. Food Research International, 2009. **42**(7): p. 754-761.
15. Doco, T., et al., *Structural modification of wine arabinogalactans during aging on lees*. American Journal of Enology and Viticulture, 2003. **54**(3): p. 150-157.
16. Dols-Lafargue, M., et al., *Changes in red wine soluble polysaccharide composition induced by malolactic fermentation*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007. **55**(23): p. 9592-9599.
17. Cheynier, V., et al., *Structure and properties of wine pigments and tannins*. American Journal of Enology and Viticulture, 2006. **57**(3): p. 298-305.
18. Fulcrand, H., et al., *Phenolic reactions during winemaking and aging*. American Journal of Enology and Viticulture, 2006. **57**(3): p. 289-297.
19. Poncet-Legrand, C., et al., *Tannin Oxidation: Infra- versus Intermolecular Reactions*. Biomacromolecules, 2010. **11**(9): p. 2376-2386.
20. Hanlin, R.L., et al., *Review: Condensed tannin and grape cell wall interactions and their impact on tannin extractability into wine*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2010. **16**(1): p. 173-188.
21. Morata, A., et al., *Adsorption of anthocyanins by yeast cell walls during the fermentation of red wines*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. **51**: p. 4084-4088.
22. Vasseroy, Y., S. Caillet, and A. Maujean, *Study of anthocyanin adsorption by yeast lees. Effect of some physico-chemical parameters*. American Journal of Enology and Viticulture, 1997. **48**: p. 433 - 437.
23. Mazauric, J.P. and J.M. Salmon, *Interactions between yeast lees and wine polyphenols during simulation of wine aging: I. Analysis of remnant polyphenolic compounds in the resulting wines*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. **53**(14): p. 5647-5653.
24. Mazauric, J.P. and J.M. Salmon, *Interactions between yeast lees and wine polyphenols during simulation of wine aging: II. Analysis of desorbed polyphenol compounds from yeast lees*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006. **54**(11): p. 3876-3881.
25. Moine-Ledoux, V., C. Arfeuille, and S. Bonhomme, *Stabilité protéique des vins et mécanisme d'action de différents types de bentonite*. Revue des oenologues, 2008. **127**: p. 18-21.
26. Marangon, M., et al., *Effects of ionic strength and sulfate upon thermal aggregation of grape chitinases and thaumatin like proteins in a model system*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011. **59**: p. 2652-2662.
27. Dufrechou, M., et al., *Protein Aggregation in White Wines: Influence of the Temperature on Aggregation Kinetics and Mechanisms*. JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY 2010. **58**(18): p. 10209-10218
28. Falconer, R.J., et al., *Thermal stability of thaumatin-Like protein, chitinase and invertase isolated from Sauvignon blanc and Semillon juice and their role in haze formation in wines*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010. **58**(2): p. 975-980.
29. Poncet, C., et al., *Flavan-3-ol aggregation in model ethanolic solutions : incidence of polyphenol structure, concentration, ethanol content and ionic strength*. Langmuir, 2003. **19**: p. 10563-10572.
30. Saucier, C.d., et al., *Characterization of (+)-Catechin, à Acetaldehyde Polymers: A Model for Colloidal State of Wine Polyphenols*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997. **45**(4): p. 1045-1049.
31. Zanchi, D., et al., *Grape seed tannins in hydroalcoholic solutions*. Langmuir, 2007. **23**: p. 9949-9959.
32. Poncet-Legrand, C., et al., *Inhibition of grape seed tannin aggregation by wine mannoproteins: Effect of polysaccharide molecular weight*. American Journal of Enology and Viticulture, 2007. **58**(1): p. 87-91.
33. Riou, V., et al., *Aggregation of grape seed tannins in model - effect of wine polysaccharides*. Food Hydrocolloids, 2002. **16**: p. 17-23.
34. Gerbaud, V., et al., *Effet des polysaccharides et des polyphénols du vin sur la cristallisation de l'hydrogénotartrate de potassium*. Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin, 1997. **31**(2): p. 65-83.
35. Maujean, A., L. Sausy, and D. Vallée, *Détermination de la sursaturation en bitartrate de potassium d'un vin. Quantification des effets colloïdes protecteurs*. Revue Française d'Oenologie - Cahier Scientifique, 1985. **100**: p. 39-49.
36. Rodriguez-Clemente, R., I. Correa-Gorrospe, and J.J. de Castro, *Structural, morphological and kinetic aspects of potassium hydrogen tartrate precipitation from wines and model ethanolic solutions*. American Journal of Enology and Viticulture, 1988. **39**: p. 169-177.
37. Tanahashi, H. and Nishino, *Nucleation and cristal growth of potassium bitartrate in wine*.
38. Vernhet, A., et al., *Composition of tartrate precipitates deposited on stainless steel tanks during the cold stabilization of wines. Part I. White wines*. American Journal of Enology and Viticulture, 1999. **50**(4): p. 391-397.
39. Vernhet, A., et al., *Composition of tartrate precipitates deposited on stainless steel tanks during the cold stabilization of wines. Part II. Red wines*. American Journal of Enology and Viticulture, 1999. **50**(4): p. 398-403.

40. Moine-Ledoux, V. and D. Dubourdiou, *Une mannoprotéine à ancre GPI responsable de la stabilisation tartrique des vins*. . Revue Française d'Oenologie - Cahier Scientifique, 2002. **193**: p. 32-35.
41. Cosme, F., J.M. Ricardo-Da-Silva, and O. Laureano, *Protein fining agents: Characterization and red wine fining assays*. Italian Journal of Food Science, 2007. **19**(1): p. 39-56.
42. Cosme, F., J.M. Ricardo-Da-Silva, and O. Laureano, *Effect of Various Proteins on Different Molecular Weight Proanthocyanidin Fractions of Red Wine during Wine Fining*. American Journal of Enology and Viticulture, 2009. **60**(1): p. 74-81.
43. Iturmendi, N., D. Duran, and M.R. Marin-Arroyo, *Fining of red wines with gluten or yeast extract protein*. International Journal of Food Science and Technology, 2010. **45**(2): p. 200-207.
44. Maury, C., et al., *Influence of fining with plant proteins on proanthocyanidin composition of red wines*. American Journal of Enology and Viticulture, 2003. **54**(2): p. 105-111.
45. Sarni-Manchado, P., et al., *Analysis and characterization of wine condensed tannins precipitated by proteins used as fining agent in enology*. American Journal of Enology and Viticulture, 1999. **50**(1): p. 81-86.
46. Tschiersch, C., et al., *Degree of hydrolysis of some vegetable proteins used as fining agents and its influence on polyphenol removal from red wine*. European Food Research and Technology, 2010. **231**(1): p. 65-74.
47. Gaillard, M. and J.L. Berger, *Ultrafiltration et microfiltration tangentielle. Résultats d'essais sur moûts et sur vins*. . Revue Française d'Oenologie, 1984. **95**: p. 39-62.
48. Ludemann, A., *Wine clarification with a crossflow microfiltration system*. American Journal of Enology and Viticulture, 1987. **38**: p. 228-235.
49. Serrano, M., A.C. Vannier, and P. Ribéreau-Gayon, *Etude de différentes membranes de microfiltration tangentielle. Comparaison avec la filtration sur précouche de diatomées*. . Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1992. **26**: p. 97-116.
50. Belleville, M., et al., *Differential roles of red wine colloids in the fouling of a cross-flow microfiltration alumina membrane*. Vitic. Enol. Sci, 1991. **46**: p. 100-107.
51. Riou, V., et al., *Aggregation of grape seed tannins in model wine - effect of wine polysaccharides*. Food Hydrocolloids, 2002. **16**: p. 17-23.
52. Vernhet, A., et al., *Relative impact of major wine polysaccharide on the performances of an organic microfiltration membrane*. American Journal of Enology and Viticulture, 1998(50): p. 51-56.
53. Bowen, W.R., J.I. Calvo, and A. Hernandez, *Steps of membrane blocking in flux decline during protein microfiltration*. J. Membr. Sci., 1995. **101**: p. 153-165.
54. Vernhet, A. and M. Moutounet, *Fouling of organic microfiltration membranes by wine constituents: importance, relative impact of wine polysaccharides and polyphenols and incidence of membrane properties*. Journal of Membrane Science, 2002. **201**(1-2): p. 103-122.
55. Altmann, J. and S. Ripperger, *Particle deposition and layer formation at the cross-flow microfiltration*. Journal of Membrane Science, 1997. **124**: p. 119-128.
56. Chen, V., et al., *Particle deposition during membrane filtration of colloids : transition between concentration polarization and cake formation*. Journal of Membrane Science, 1997(125): p. 109-122.
57. Li, H., et al., *Observation of deposition and removal behaviour of submicron bacteria on the membrane surface during crossflow microfiltration*. Journal of Membrane Science, 2003. **217**: p. 29-41.
58. Ripperger, S. and J. Altmann, *Cross-flow microfiltration - state of the art*. Separation and Purification Technology, 2002. **26**: p. 19-31.
59. Boissier, B., et al., *Particle deposition during the cross-flow microfiltration of red wines - incidence of the hydrodynamic conditions and of the yeast to fines ratio*. Chemical Engineering and Processing, 2008. **47**: p. 276-286.
60. Vernhet, A., D. Cartalade, and M. Moutounet, *Contribution to the understanding of fouling build-up during microfiltration of wines*. Journal of Membrane Science, 2003. **211**(2): p. 357-370.
61. Chalier, P., et al., *Interactions between aroma compounds and whole mannoprotein isolated from Saccharomyces cerevisiae strains*. Food Chemistry, 2007. **100**(1): p. 22-30.
62. Jones, P.R., et al., *The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine*. Food Quality and Preference, 2008. **19**(6): p. 596-607.
63. Lambri, M., et al., *Effect of Bentonite Fining on Odor-Active Compounds in Two Different White Wine Styles*. American Journal of Enology and Viticulture, 2010. **61**(2): p. 225-233.
64. Marchal, R. and G. Liger-Belair, *Mousse et effervescence des vins de champagne : bilan de 15 années de recherche champenoise*. Revue des oenologues. **107 S**: p. 41-50.
65. Pozo-Bayon, M.a., et al., *Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology*. Trends in Food Science & Technology, 2009. **20**(6-7): p. 289-299.
66. Lu, Y. and A. Bennick, *Interaction of tannin with human salivary proline-rich proteins*. Archives of Oral Biology, 1998. **43**: p. 717-728.
67. Luck, G., et al., *Polyphenols, astringency and proline-rich proteins*. Phytochemistry, 1994. **37**(2): p. 357-371.
68. Murray, N.J., et al., *Study of the interaction between salivary proline-rich proteins and a polyphenol by 1H-NMR spectroscopy*. European Journal of Biochemistry, 1994. **219**: p. 923-935.

69. Sarni-Manchado, P., V. Cheynier, and M. Moutounet, *Interactions of grape seed tannins with salivary proteins*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999. **47**: p. 42-47.
70. Payne, C., et al., *Interaction of astringent grape seed procyanidins with oral epithelial cells*. Food Chemistry, 2009. **115**: p. 551-557.
71. Vidal, S., et al., *The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2003. **83**(6): p. 564-573.
72. Vidal, S., et al., *Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine*. Analytica Chimica Acta, 2004. **513**(1): p. 57-65.