

Signification Œnologique de la Turbidité des vins rouges, et approche de la sédimentation potentielle du trouble

Hervé ROMAT¹, Vincent RENOUF², Nadine ETCHEVERY², Wilfried NABOULET², Thibaud PARAT², Yoann LEFEUVRE³,
Jeremy COHEN³

1- Herve Romat Conseil -Teuillac -France

2- Excell – Bordeaux - France

3- Formulaction – Toulouse - France

INTRODUCTION

Même si la vinification reste un point essentiel de l'élaboration des vins, il n'en demeure pas moins que le but final est de mettre en bouteilles le meilleur vin possible, et au plus près de celui que l'on a voulu élaborer. On peut assez facilement constater, que cela n'est pas si facile, et que de nombreuses dégradations qualitatives peuvent être observées au cours de l'élevage ou dans les phases de préparation à l'embouteillage, en altérant alors la qualité finale en bouteilles (H. Romat, 2005 ; J.C. Crachereau et *al*, 2017 ; H. Romat et *al*, 2019). Si le sujet clarification est très vite abordé sur les moûts et vins blancs et rosés, la préoccupation de la clarification-stabilisation des vins rouges n'intervient généralement que très/trop tardivement. Par ailleurs, s'il est assez simple de visualiser la limpidité d'un vin blanc, il est largement plus difficile pour un vin rouge de l'apprécier visuellement, et d'autant plus que la couleur sera intense et profonde.

Bien que la mesure de la turbidité soit actuellement assez largement utilisée, cependant, sait-on vraiment ce qu'elle recouvre ? Elle donne une idée de la limpidité, mais que signifie-t-elle sur les particules en présence, et les incidences œnologiques ? Il est donc important d'appréhender une certaine réalité de constitution du trouble au regard de la mesure de turbidité et sur la signification œnologique.

Enfin, en complément de la mesure de turbidité, une appréciation de la sédimentation potentielle du trouble est caractérisée, afin de donner une nouvelle approche de son évolution.

Rappels sur la Turbidité

Les premiers travaux sur la segmentation visuelle de la limpidité en œnologie et les applications sur la clarification (E. Peynaud, 1970 ; J.L. Mandrau, 1973), utilisaient des suspensions de silice pour établir un comparatif visuel, avec tous les problèmes s'y rattachant ; comme la diversité de la silice et la couleur des vins, entachant largement la caractérisation et la reproductibilité. La mise en œuvre de Turbidimètres (M. Serrano, 1981 ; H. Romat, 1986) a permis d'avoir des mesures plus fiables. Ainsi, il a été défini une classification de correspondance avec les termes visuels utilisés (Tableau 1), en définissant un Seuil de Turbidité Théorique (Romat, 1986). Il apparaît alors que la visualisation du trouble est très influencée par la couleur, et qu'il y a une relation directe et linéaire avec la couleur bleue (DO 620).

Tableau 1 - Classification du trouble en fonction de la turbidité et de la couleur des vins par le seuil de turbidité théorique St (ROMAT, 1986).

Appréciation visuel	Vin de seuil St*	Vin blanc	Vin rosé	Vin rouge 1	Vin rouge 2
DO 620		0	0.007	0.056	0.118
St		1.4	1.6	2.7	4.2
Brillant	< 0.75 x St	<1.1	1.2	< 2	< 3.15
Clair	0.75 x St à 1.5 x St	1.1 à 2.2	1.2 à 2.4	2 à 4	3.15 à 7.3
Voilé	1.5 x St à 3 x St	2.2 à 4.4	2.4 à 4.8	4 à 8	7.3 à 14.6
Trouble	> 3 x St	> 4.4	> 4.8	> 8	> 14.6

*St (seuil de turbidité théorique) = (23.4 x DO620) + 1.43

Remarques sur les exigences de turbidité des vins rouges en bouteilles : il est assez dommageable que l'on n'ait retenu généralement qu'il faut obtenir une turbidité < 1 NTU pour avoir un vin rouge brillant. Si cela est nécessaire pour un vin blanc, ce n'est pas le cas pour les vins rouges, et d'autant plus qu'ils auront une couleur bleutée profonde. Dans ce sens, un certain nombre de vins rouges mériteraient d'être moins clarifié/filtré qu'ils ne le sont parfois, ne correspondant à aucune nécessité pour être dans une impossibilité de

visualisation. Dans ce sens, sans négliger les éventuels problèmes microbiologiques, le cahier des charges de clarification/filtration des vins rouges doit être différent des vins blancs, en intégrant le calcul du Seuil de Turbidité, après mesure de la DO 620.

Remarques sur les autres méthodes de caractérisation des particules : la turbidité est très largement utilisée par la simplicité de l'analyse, sans préparation d'échantillon et avec un faible investissement matériel. Cependant, il existe d'autres caractérisations possibles, mais qui restent des analyses plus lourdes à mettre en œuvre, dans un spectre plus limité et avec des matériels plus coûteux, en général réservées au domaine de la recherche :

- **par diffraction laser :** elle utilise la théorie d'une part de diffusion de la lumière dite de « Mie » pour les plus petites particules, et d'autre part de diffraction de la lumière dite de « Fraunhofer » pour les plus grosses (> 40 µm), pour calculer la distribution granulométrique des particules entre 0.1 µm et 2 mm sur la base d'un modèle sphérique équivalent en volume. Cette technique nécessite une concentration minimale de particules de quelques dizaines de mg/L. Cependant, les grosses particules ont tendance à empêcher la bonne visualisation des plus petites. Elle donne une répartition en % par rapport à un volume total. Elle permet aussi l'applications d'ultrasons pour dissocier les agglomérats.

- **par variation d'impédance** (type « compteur Coulter ») : elle est basée sur la modification de la résistance électrique lorsque l'on fait passer un liquide contenant des particules entre 2 électrodes au travers d'une petite cellule/ouverture que l'on peut calibrer ; les particules selon leur conductivité génèrent une modification du signal. Cette variation de résistance électrique dépend directement de la taille de chaque particule comptée. Elle ne permet de détecter principalement que les particules au-dessus de 1,5 µm, et sans présence de trop grosses particules (> 300 µm) qui peuvent gêner/obturer la cellule de mesure. La distribution de taille des particules est donnée en nombre et en volume. Cette technique nécessite des dilutions car il existe une concentration maximale qui est fonction de la taille de l'orifice de la cellule.

Limite de la mesure de la Turbidité

La mesure de la turbidité d'un liquide est basée sur le principe de l'interaction entre une onde lumineuse incidente et des particules en suspension (RAYLEIGH - Loi de BEER-LAMBERT), qui engendre principalement des phénomènes de diffusion, réflexion, absorption, et diffraction (Fig. 1). Les particules selon leur taille, leur nature, leur forme, leur indice de réfraction produisent une lumière diffusée de différente intensité. D'une manière générale, la turbidité ne prend pas en compte les éléments inférieures à 0,1 µm, car ils ne diffusent que très peu de lumière, sauf s'ils sont associés entre eux ou à des particules.

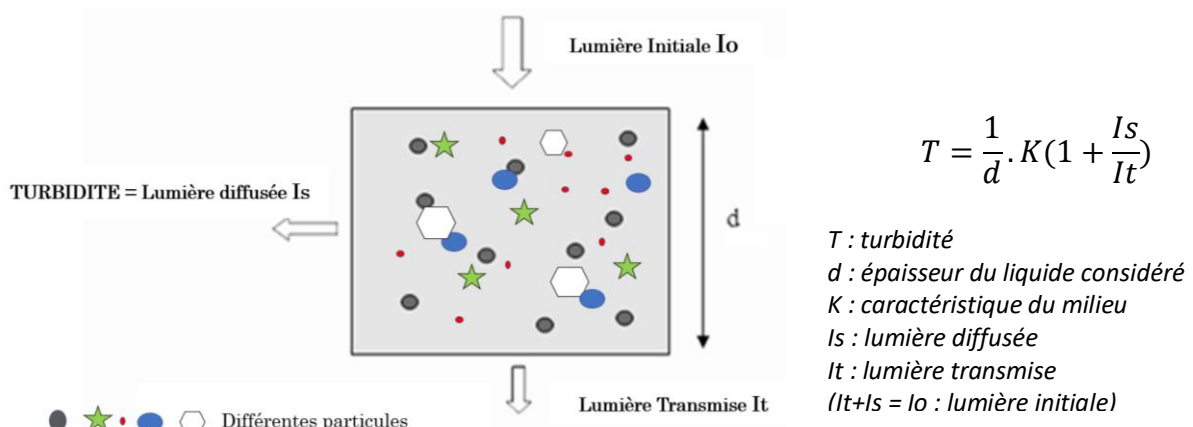


Figure 1 : principe de mesure de la Turbidité

La turbidité se mesure en NTU (Nephelometric Turbidity Units) dont la référence est une solution de Formazine (C₂H₄N₂) en suspension. La mesure de la lumière par les Turbidimètres n'est pas spécifiquement de 90° mais elle s'effectue plus généralement par plusieurs mesures sous des angles compris entre 60° et 120°. Dans le cas de la mesure spécifique à 90° il s'agit d'un Néphélomètre (très peu utilisé en Œnologie, car très coûteux, et n'apportant en fait pas beaucoup plus d'information).

Sur le seul principe de mesure, on comprend aisément que la turbidité ne sera qu'une image très globale des particules présentes. Ainsi, d'une part, sur le trajet de la lumière initiale il peut y avoir des particules qui en privent d'autres, ne pouvant alors pas émettre de diffusion ; d'autre part, la lumière diffusée par certaines particules pourra aussi être masquée par d'autres particules (les plus grosses) diminuant ainsi le signal potentiel émit. La mesure de la turbidité reste donc par principe, très imparfaite de la quantification de la masse réelle des particules, sans parler de leur diversité ou de leur pouvoir colmatant (B. Gautier, 1984 ; H. Romat, 2014 ; H. Romat et al, 2017).

Remarque sur l'Effet Tyndall et la quantité de matière en suspension (MES) : l'effet Tyndall est un phénomène de diffusion d'une lumière incidente sur des microparticules (Diffusion de RAYLEIGH). Pour l'observer, il faut que la longueur d'onde du faisceau lumineux utilisé soit supérieure au diamètre des particules impliquées dans la diffusion, et il doit y avoir un écart important entre les indices de réfraction des particules et du milieu dans lequel elles se trouvent. On peut le visualiser dans notre quotidien par la mise en évidence de particules de poussières ou de microgouttes d'eau en suspension dans un rayon de lumière. Dans le vin, on observe alors un aspect opalescent/laiteux privant le vin de brillance. Cependant, il n'y a aucune relation directe entre la quantité de matière en suspension et la turbidité. Par ailleurs, ce phénomène est plus visible pour les particules d'origines minérales que d'origine organiques, d'un indice de réfraction plus faible et diffusant moins de lumière.

Remarque sur l'appréciation de la stabilité protéique des vins blancs : le test de stabilité protéique s'apprécie par une différence de Turbidité entre le témoin et l'échantillon test (H. Romat, 1987 ; R. Marchal, 2002). Il faut alors bien comprendre la limite d'appréciation de l'instabilité et de la préconisation de la dose de bentonite, au regard de l'imperfection de la mesure.

Turbidité et Filtrabilité sur Vin Rouge, vis-à-vis de l'ajout de quelques particules et tanins

Si l'on essaye d'en savoir un peu plus sur la représentation et la signification de la mesure de turbidité, le tableau 1 montre l'incidence de l'ajout de quelques particules et tanins sur un vin rouge. Le vin rouge a préalablement été filtré sur une membrane millipore de 1.2 µm, et sulfité pour avoir un SO2 actif de 0.65mg/L. Pour les particules ajoutées à différentes concentrations, le choix s'est porté : sur des levures (*Saccharomyces cerevisiae*) ; des bactéries lactiques (*Leuconostoc oenos*) ; des cristaux de bitartrate de potassium ; pour l'ajout de tanins, sur un tanin de chêne commercial (Quertanin de la Sté Laffort). Les différents micro-organismes ont été ajoutées juste avant la mesure, afin qu'il n'y ait pas de possibilité de développement.

Tableau 1 : incidence de l'ajout de particules sur la Turbidité et la Filtrabilité

	TURBIDITE NTU	FILTRABILITE CC***/0,65µm	% évolution de Filtrabilité vis-à-vis du Témoin
Témoin	2,4	17	0 %
T + 10 ² /mL Bactéries	2,5	19	11,8 %
T + 10 ⁶ /mL Bactéries	3	23	35,3%
T + 10 ² /mL Levures	2,5	20	17,6%
T + 10 ⁶ /mL Levures	2,6	25	47,1%
T + 10 ² /mL Levures + 10 ² /mL Bactéries	2,5	20	17,6%
T + 10 ⁶ /mL Levures + 10 ⁶ /mL Bactéries	2,8	26	52,9%
T + THK* 1g/L	92	9	-47,1%
T + 10 ² /mL Levures + 10 ² /mL Bactéries +THK* 1g/L	84	13	-23,5%
T + 10 ² /mL Levures + 10 ² /mL Bactéries +THK* 1g/L + Quertanin** 4g/hL	190	42	147,1%

* THK = cristaux de Bitartrate de Potassium (hydrogénotartrate de Potassium)

** Quertanin est un tanin de Chêne (Laffort)

*** CC/0,65µm = Coefficient de Colmatage effectué à 20°C sur une membrane Millipore de 0,65µm

Il ressort de cette expérimentation :

- **Sur la turbidité**

- La contamination microbiologique levurienne ou bactérienne est très peu visible sur la mesure de la turbidité, d'autant plus en tenant compte de l'incertitude mesure, et qu'il n'y a pas de réelle linéarité entre la population et la valeur mesurée en NTU.

- L'ajout de cristaux de Bitartrate de potassium influe très fortement la mesure, par son indice de réfraction élevée vis-à-vis des microorganismes. Cependant, cette influence est diminuée par l'ajout des micro-organismes.

- L'ajout de tanins de chêne (Quertanin) dans un milieu contaminé microbiologiquement et avec la présence de cristaux augmente très largement la mesure, alors que ces tanins ne sont pas des particules, mais contribuent à former des agglomérats augmentant le trouble

- **Sur la filtrabilité**

- Les bactéries apportent une modification, avec une assez bonne linéarité, malgré leur faible taille.

- Les levures influent un peu plus fortement la filtrabilité et dans une bonne linéarité de population. Le cumul levures + bactéries est globalement plus proche de la contamination levure seule, comme s'il y avait un effet masquant des levures sur les bactéries (4 à 6 fois plus petites).

Remarques : sur un vin déjà limpide, en absence de cristaux de bitartrate de potassium, et d'une certaine filtrabilité, la filtrabilité permet donc d'appréhender une contamination levurienne et bactérienne.

- La présence seule de cristaux de bitartrate de Potassium influe fortement et positivement, dans le sens d'une amélioration proche de 50% ; cette contribution reste encore positive, même en présence de levures et de bactéries. Dans ce sens, on voit bien qu'il n'y a aucune relation directe avec la turbidité, car si l'on prend le rapport Filtrabilité/Turbidité (défini comme l'Indice Œnologique de Filtration - H. Romat, 2012), il passe de 9.3 à 0.1, soit dans un rapport quasiment de 1 à 100 ; on remarque aussi, que s'il y a un doute sur la présence de cristaux, il est impossible d'en déduire un développement microbiologique.

- L'ajout de tanins de chêne (Quertanin) dans un milieu contaminé microbiologiquement et avec la présence de cristaux modifie fortement la mesure, conduisant à un ICF de 0.2, soit la encore très inférieur d'un rapport de 50, à la seule présence des micro-organismes.

Cette expérimentation démontre et confirme que la turbidité ne retranscrit qu'une vision très partielle, voire déformée du trouble des vins. Par ailleurs, qu'il n'y a aucune relation de linéarité entre certaines particules et la turbidité, et qu'en conséquence elle est non représentative d'une quelconque capacité de filtration, ou d'appréhension de colmatage du vin. En effet, la turbidité ne détermine en rien, ni le nombre, ni la nature, ni le pouvoir colmatant des particules, et ne prend pas non plus en compte la fraction polysaccharidique (<0.1µm) la plus colmatante. Son utilisation seule en prédiction de la filtration (sans la mesure de filtrabilité) est donc illusoire, voire trompeuse, et peut donc souvent induire en erreur.

Seule la filtrabilité peut véritablement donner une parfaite appréhension du colmatage potentiel et de la plus ou moins bonne filtration à venir, en fonction de l'interprétation du Coefficient de Colmatage (H. Romat et al, 2007).

Pendant, en parallèle, cela renforce la plus forte sensibilité qualitative de la matrice vin rouge aux opérations de clarification, stabilisation et de filtration (en cours ou en fin d'élevage comme lors de la mise en bouteilles), expliquant aisément les pertes de qualité observées au cours de ces différents étapes œnologiques.

Remarque sur la stabilité phénolique des vins rouges : le test de stabilité couramment mis en œuvre (L. Lagune-Ammirati et al, 2001) utilise une différence de turbidité entre le témoin et un échantillon passé au froid (48h à 4°C). Compte tenu des résultats décrits précédemment, il y a à l'évidence une limite à l'interprétation de ce test, où peuvent donc se mélanger, précipitations de matière colorante, certains tanins instables (dont certains non colorés), des cristaux de bitartrate de potassium, des levures, des bactéries, et des polysaccharides, tel que déjà observés (H. Romat et al, 2019).

Approche de la sédimentation potentielle du trouble

La clarification d'un trouble du vin s'opère par une sédimentation des différentes particules sous l'action de la gravité terrestre. Cependant, il est très difficile pratiquement d'en prédire la cinétique, et le niveau de

clarification final. Cela dépend de très nombreux facteurs dont en particulier de la viscosité du vin, de la présence de certains polysaccharides (pectines et glucanes), et du gaz carbonique, au-delà de la seule présence des particules.

Remarque sur le CO₂ : il peut être une des causes de mauvaises sédimentations suivant sa concentration, en fonction de son état gazeux ou soluble, changeant très rapidement en fonction des variations de température, et remettant alors en cause la clarification en cours. On peut considérer que toute concentration supérieure à 500 mg/L peut entraîner des difficultés. De très nombreux vins rouges ont des concentrations supérieures à 500 mg/L durant leur élevage, limitant alors la sédimentation naturelle.

• Matériel et méthode

Le matériel choisi pour l'observation de la sédimentation potentielle est un Turbiscan* :

Principe de mesure

Sans préparation spécifique de l'échantillon, la lumière transmise et rétrodiffusée est analysée tous les 40 µm sur toute la hauteur de l'échantillon, afin de détecter et quantifier les variations de taille (coalescence, floculation) et séparations de phases (sédimentation, crémage), sur une durée déterminée.

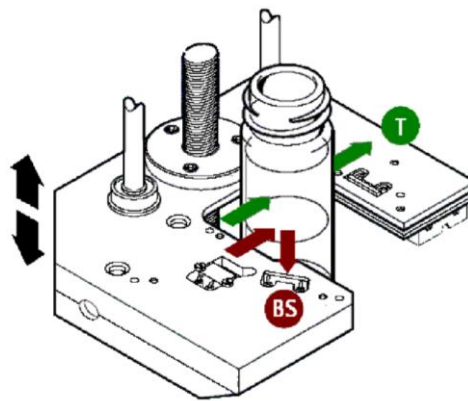


Figure 2 : principe de mesure du Turbiscan

BS : Backscattering – T : Transmission

*Turbiscan est un appareil de la société FORMULACTION

Les niveaux de rétrodiffusion (BS) et de transmission (T), dépendent de 3 principaux paramètres : taille des particules, concentration des particules, indice de réfraction. Malgré la complexité du vin, en prenant en compte la viscosité du vin, il permet d'identifier un « Turbiscan Stability Index » (TSI) qui correspond au cumul de toutes les variations du signal sur l'ensemble de la hauteur de l'échantillon. Plus le signal Turbiscan évolue rapidement, plus le TSI est élevé, moins le trouble est stable ; signifiant une cinétique de déstabilisation, et en conséquence, donnant une approche de la sédimentation potentielle.

• Résultats

Les différents échantillons utilisés dans le tableau 1 ont été analysés sur une durée de 20 min. Ce temps semble suffisant pour visualiser la cinétique de déstabilisation (fig.3).

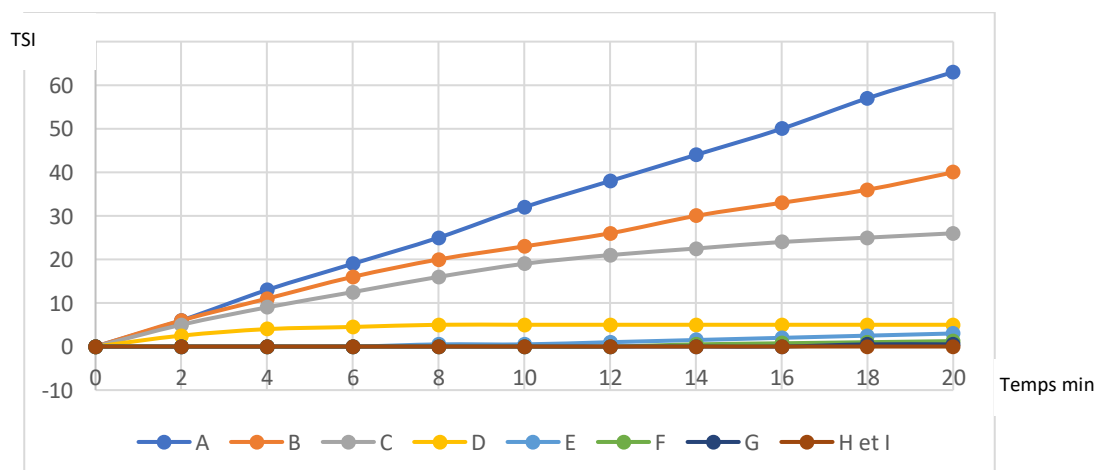


Figure 3 : Cinétique de déstabilisation globale du trouble, en fonction des particules ajoutées

A = T + 10²/mL Levures + 10²/mL Bactéries +THK* 1g/L + Quertanin** 4g/hL

B = T + 10²/mL Levures + 10²/mL Bactéries +THK* 1g/L

C = THK 1g/L

D= T + 10⁶/mL Levures + 10⁶/mL Bactéries

E = T + 10²/mL Levures + 10²/mL Bactéries

F = T + 10⁶/mL Levures

G = T + 10²/mL Levures

H = T + 10⁶/mL Bactéries

I = T + 10²/mL Bactéries

Il est intéressant d'observer que le Quertanin (tanin de chêne) accentue la sédimentation des cristaux de bitartrate de potassium additionnés de levures et de bactéries (A), en créant certainement des agglomérats plus gros et plus lourds. On a la même observation mais moins marquée sans le Quertanin, mais avec les levures et bactéries (B), qui forment des agglomérats avec le bitartrate en sédimentent aussi plus rapidement que les cristaux seuls. Cela confirme les observations faites sur la stabilité phénolique des vins rouges (H. Romat et al, 2019), ainsi que les observations visuelles où les précipitations tartriques sont toujours colorées, et plus ou moins visqueuses, pour s'agglomérer avec des micro-organismes et entraîner aussi certains polysaccharides.

Cette première expérimentation sur l'application du Turbiscan, nous permet de différencier la stabilité de différents troubles, avec une certaine approche de la cinétique qu'il faudrait préciser pour en donner des applications plus pratiques.

Par ailleurs, on peut extrapoler que de nouvelles approches de son utilisation soient possibles vis-à-vis des divers types de troubles, naturels ou provoqués (collage, enzymes, froid), et que l'on pourrait trouver des applications à différents moments de la vie du vin pour en anticiper les évolutions.

Les principales particules du vin, ne restent donc pas isolées, mais forment des agglomérats sous l'influence de diverses attractions, dont électrostatiques. Ainsi, sont principalement associés les cristaux de bitartrate de potassium, avec certains composés colloïdaux, polyphénols et/ou polysaccharides, formant des agglomérats complexes que l'on pourrait appeler globalement des « complexes tartaro-colloïdaux », où s'agglomérerait aussi des levures (plus que les bactéries d'après les observations effectuées au microscope). Ces complexes se formeraient suivant le pH du vin (modifiant les charges électrostatiques), en fonction d'une certaine disponibilité de molécules en présence (tanin, polysaccharides...), et des différentes particules (dont levures et bactéries).

Cela rejoint aussi les observations d'effet support que l'on peut constater dans le développement microbiologique, dont levurien, et particulièrement pour les Brettanomyces dans les vins rouges, maintenant un trouble important durant l'élevage. Ainsi, tout trouble peut être une source de support et de développement microbiologique. Ce que l'on constate dans les moûts blancs en positif (dans une certaine limite maximale) pour une meilleure fermentation alcoolique, devient très rapidement négatif pour les vins rouges en cours d'élevage, comme aussi pour tous les vins contenant des sucres fermentescibles.

Conclusion

La clarification des vins, et plus particulièrement des vins rouges, n'est pas un phénomène « simple », mais très complexe. Elle peut aussi potentiellement limiter ou induire des problèmes microbiologiques, suivant le niveau de trouble durant l'élevage. Cependant, on constate 3 faits essentiels : d'une part que la turbidité ne donne pas d'information précise, mais une certaine globalité approximative de la réalité ; d'autre part que la filtrabilité peut s'appliquer plus largement et apporter plus d'informations (sur l'état colloïdal et la présence de micro-organismes) que la simple anticipation des filtrations ; enfin, que les particules ne restent pas isolées, mais s'agglomèrent pour partie entre elles (dont Levures et bactéries), ainsi qu'avec une fraction colloïdale, telles que tanins et certains polysaccharides (ce que l'on peut observer aussi lors du collage). De nouvelles investigations devraient permettre d'avoir une meilleure connaissance, et le Turbiscan, pourrait certainement y contribuer.

Ainsi, la clarification des vins rouges naturelle ou provoquée (froid, enzymage, collage...), mériterait d'être beaucoup mieux anticipée (encadrée et contrôlée), pour éviter toute dégradation et mieux préparer les vins à la filtration d'embouteillage, afin de mieux respecter la matrice qualitative et d'avoir de meilleurs vins en bouteilles.