

Conception d'un système de production de moût de raisin en atmosphère inerte pour analyse ou suivi de cinétique d'oxydation

Yannick Sire¹

Résumé. Le système décrit dans cet article permet de produire un moût de raisin (ou de tout autre fruit à jus) en absence totale d'oxygène. Couplé aux méthodes d'analyses physico-chimiques appropriées, on peut ainsi aisément obtenir la composition native des baies ou connaître l'état d'évolution du moût en conditions d'oxygénation définies. L'appareillage est constitué d'un pressoir de type frontal en inox, totalement clos, relié à un système de mise au vide et d'inertage par un gaz neutre. Le moût ainsi produit est ensuite collecté, toujours protégé de l'oxygène, dans un réacteur en verre à architecture variable offrant à l'opérateur, selon la configuration choisie, la possibilité d'y pratiquer différents types d'expérimentations en conditions physico-chimiques totalement contrôlées : analyse simple, ajouts d'intrants, stockage, cinétique d'évolution. La mise en œuvre de cet outil a principalement été sollicitée par les responsables d'essais sur les procédés œnologiques qui souhaitaient comprendre plus en détail les phénomènes liés à l'oxydation au cours des différentes étapes de la vinification.

Mots clés : moût de raisin, oxygène, pressoir, inertage, oxydation, analyse physico-chimique, cinétique, vinification

Introduction

L'amélioration qualitative des vins passe par une meilleure connaissance des divers phénomènes physiques, chimiques ou biologiques ayant lieu au cours de leur élaboration. La précocité des vendanges, l'élévation de la température de récolte et la réduction d'intrants sont autant de raisons qui ont poussé les œnologues à porter plus particulièrement leur attention sur les phénomènes d'oxydation du moût. En effet, la maîtrise de l'état d'oxydation de ce dernier va directement impacter les qualités organoleptiques du vin fini. L'Unité expérimentale de Pech Rouge se positionnant sur cette thématique, il était nécessaire de repenser et de développer un nouvel outil d'obtention et de caractérisation du moût à l'échelle du laboratoire.

Tant que les baies de raisins sont intègres, il n'y a pas de phénomènes d'oxydation. Dès que la baie est abîmée, ou la pellicule fendue, l'oxygène de l'air est en contact avec la pulpe et les phénomènes d'oxydation se déclenchent. Lors du pressurage, le moût obtenu est donc directement en contact avec l'oxygène de l'air et très sensible à l'oxydation. Le pressurage de baies de raisins intègres, à l'abri de l'air et de l'oxygène est donc indispensable pour pouvoir étudier tous les phénomènes d'oxydation qui interviennent dès les débuts de l'élaboration des moûts.

Un système de presse avait déjà été mis en place à l'UMR SPO (Rigaud et al., 1988), le raisin était alors pressé dans une poche souple étanche, puis récupéré par différence de pression dans un réacteur en verre. Mais le développement d'un nouveau mini-prototype rigide au laboratoire (au départ sur quelques baies), et les quelques essais préliminaires qui ont suivi, ont mis en avant une différence remarquable de la qualité du moût obtenu par chacune des méthodes.

En effet, malgré toutes les précautions prises pour presser les baies de raisin sous gaz inerte, l'utilisation d'une poche souple comme « outre/chambre de presse » ne permettait pas une protection totale vis-à-vis de

¹ INRA, UE Pech Rouge, 11430 Gruissan, France
yannick.sire@inra.fr ; 04 68 49 72 72

l'oxygène : les réactions d'oxydation avaient déjà lieu en amont de la récupération du moût. C'est l'absence systématique d'acide ascorbique qui nous a amené à cette hypothèse. Car, a contrario, de l'acide ascorbique était retrouvé dans la totalité des moûts issus du nouveau mini-prototype.

C'est en effet une molécule très sensible aux phénomènes d'oxydation, en particulier en présence d'oxydants puissants tels que les quinones produites par l'activité enzymatique de la polyphénoloxydase (PPO) dans le moût de raisin.

La réflexion a donc porté prioritairement sur la possibilité de développer un nouvel outil sur la base de ces observations. La principale contrainte étant de pouvoir inerte totalement et presser un lot conséquent de baies entières (de 500 g à 2 kg) en préservant leur intégrité structurale tout au long du processus, permettant ainsi l'extraction de moût en s'affranchissant des réactions d'oxydations.

Dans un second temps, le réacteur en verre de réception du moût a lui aussi été amélioré de manière à pouvoir le rendre plus polyvalent, facilement nettoyable et adaptable aux contraintes liées aux divers types d'expérimentations, de l'analyse simple du moût produit (avec ou sans ajout d'intrants) jusqu'à la réalisation de cinétiques d'oxydation contrôlée (prélèvements, agitation...).

Description du matériel

Premier outil : le presseur inerté

La partie « presseur » du système (**Figure 1 et 2**) a été totalement confectionnée sur l'Unité par les agents chargés de la chaudronnerie, à partir des plans et dimensionnements préalablement définis avec eux. Les matériaux proviennent d'anciens appareils ou tuyauteries, seul le vérin hydraulique et sa pompe manuelle ont été achetés neufs. La contrainte étant d'avoir une enceinte rigide, étanche, permettant de supporter un vide poussé (à l'inverse de la poche souple utilisée sur le précédent système).

La première partie du presseur est constituée du couvercle sur lequel est disposé le vérin hydraulique. Ce dernier est maintenu par un étrier soudé au couvercle et sur lequel un boulon permet d'assurer la stabilité de l'ensemble. Ce système permet aussi d'exercer une pression suffisante sur le joint en caoutchouc naturel situé à la base du vérin et d'assurer une parfaite étanchéité. Une plaque ronde en inox (diamètre = 14,5 cm), désolidarisée de la tête du vérin et montée de façon à être légèrement mobile, répartit la pression développée par le vérin sur la surface la plus grande possible.

Le couvercle, amovible, est fixé à la seconde partie du presseur par six boulons. Un joint épais en caoutchouc naturel, situé à la jointure du couvercle et de la cuve, assure l'étanchéité de l'ensemble. L'absence de fuite (ou de prise d'air) a été testée grâce à un vacuomètre branché sur la vanne de purge du couvercle et à une pompe à vide raccordée au tuyau d'évacuation du moût.

L'enceinte du presseur permet d'accueillir une cage de presse perforée, facilitant l'écoulement du moût. Pour améliorer au maximum le rendement d'extraction, les raisins y sont disposés en doubles couches séparées par des entretoises.

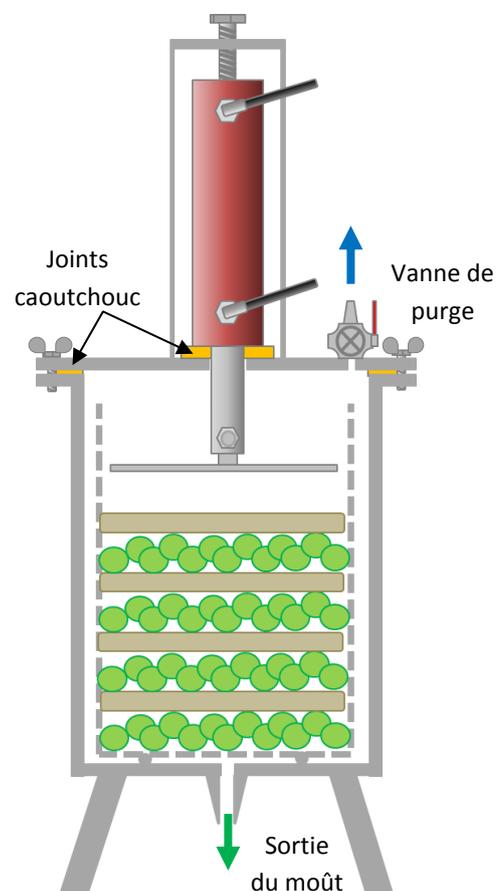


Figure 1. Schéma descriptif du presseur inerté.

Le Cahier des Techniques de l'INRA 2017 (92)

Le vérin est un modèle à double action (montée et descente) utilisé avec une pompe hydraulique manuelle sur laquelle est monté un manomètre permettant de suivre la pression exercée par le vérin.



Figure 2. Vues d'ensemble du presseur inerté : pompe hydraulique, cuve, cage et couvercle + vérin-piston (photo : Y. Sire).

Second outil : le réacteur en verre

Le réacteur en verre est une enceinte confinée qui va être directement reliée au presseur, permettant ainsi la récupération du moût en atmosphère inerte (anoxie). Toutes les pièces composant ce réacteur sont originales et ont été conçues pour nos applications spécifiques. La réalisation sur-mesure, d'après nos plans, a été confiée à un artisan-verrier de la région.

La base du réacteur est un bol en verre équipé d'un piquage, lui-même muni d'une vanne-pointeau de régulation, par lequel va s'effectuer l'arrivée du moût. Un second piquage, avec pas de vis GL18, permet de placer un septum étanche par lequel pourront s'effectuer ajouts d'intrants et/ou prélèvements à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille.

Sur cette base, il va ensuite être possible de monter deux types de couvercles :

- le premier, ne comportant qu'une vanne pointeau sur le haut, servira à obtenir un moût que l'on gardera dans l'enceinte le temps d'une expérimentation, ou bien que l'on pourra stabiliser chimiquement pour analyse par ajout d'intrants en pré ou post pressurage (**Figure 3**) ;

- un second couvercle, de type « cheminée-piston », permettra quant à lui la réalisation de cinétiques d'oxydation contrôlée. Les cinétiques d'oxydation contrôlée consistent à placer un volume de moût défini, obtenu par le presseur, en contact avec une quantité connue d'oxygène (ou d'air) pendant plusieurs heures, sous agitation. Des prélèvements sont régulièrement réalisés afin d'analyser l'évolution physico chimique du moût à différents stades d'oxydation. Le volume de gaz (air ou oxygène) sera piégé sous le piston et sera donc en contact avec le moût sur une surface donnée et constante. Grâce à sa mobilité, le piston étanche va pouvoir ensuite compenser les variations de volume dues aux prélèvements, maintenant ainsi une pression constante dans l'enceinte pour permettre de ne pas créer un biais vis-à-vis de l'expérimentation (**Figure 4**).

L'ensemble [base + couvercle] est maintenu par un système de bride et l'étanchéité est assurée par un joint torique logé dans la gorge du bol.

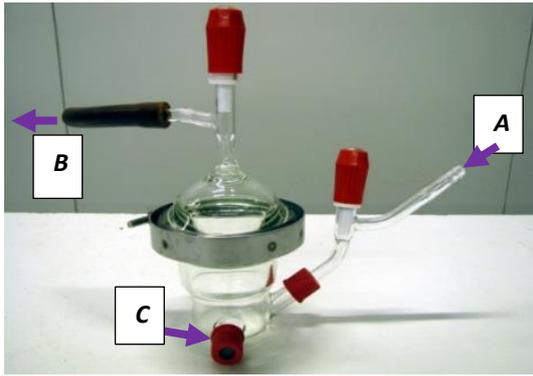


Figure 3. Réacteur en verre en configuration « classique » (photo : Y. Sire).

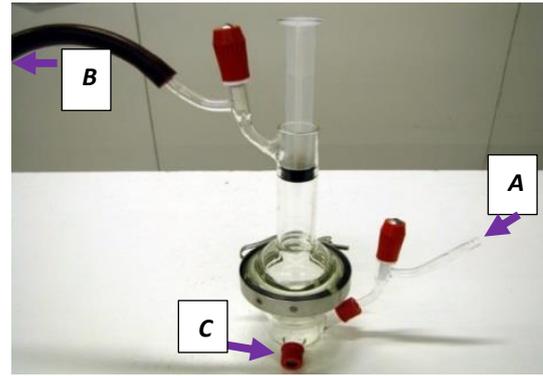


Figure 4. Réacteur en verre en configuration « cinétique d'oxydation » (photo : Y. Sire).

A = arrivée du moût

B = vers pompe à vide

C = prélèvement et/ou ajout d'intrants (septum)

Branchements et mise en œuvre de l'ensemble

Les deux outils précédemment décrits sont destinés à être raccordés de manière à pouvoir créer une atmosphère anoxique dans l'ensemble du système, ceci grâce à l'utilisation du vide et à l'ajout d'azote. Le principe étant de pouvoir alterner un vide poussé, suivi d'un balayage des enceintes à l'azote, et répéter ce cycle autant de fois que nécessaire. Une fiole à vide, située entre le réacteur en verre et la pompe à vide, va servir à la fois d'arrivée d'azote et de sécurité en cas de sur-production de moût. Un jeu d'ouvertures et de fermetures des six vannes va ensuite permettre de maintenir l'ensemble du système dans un état donné (Figure 5).

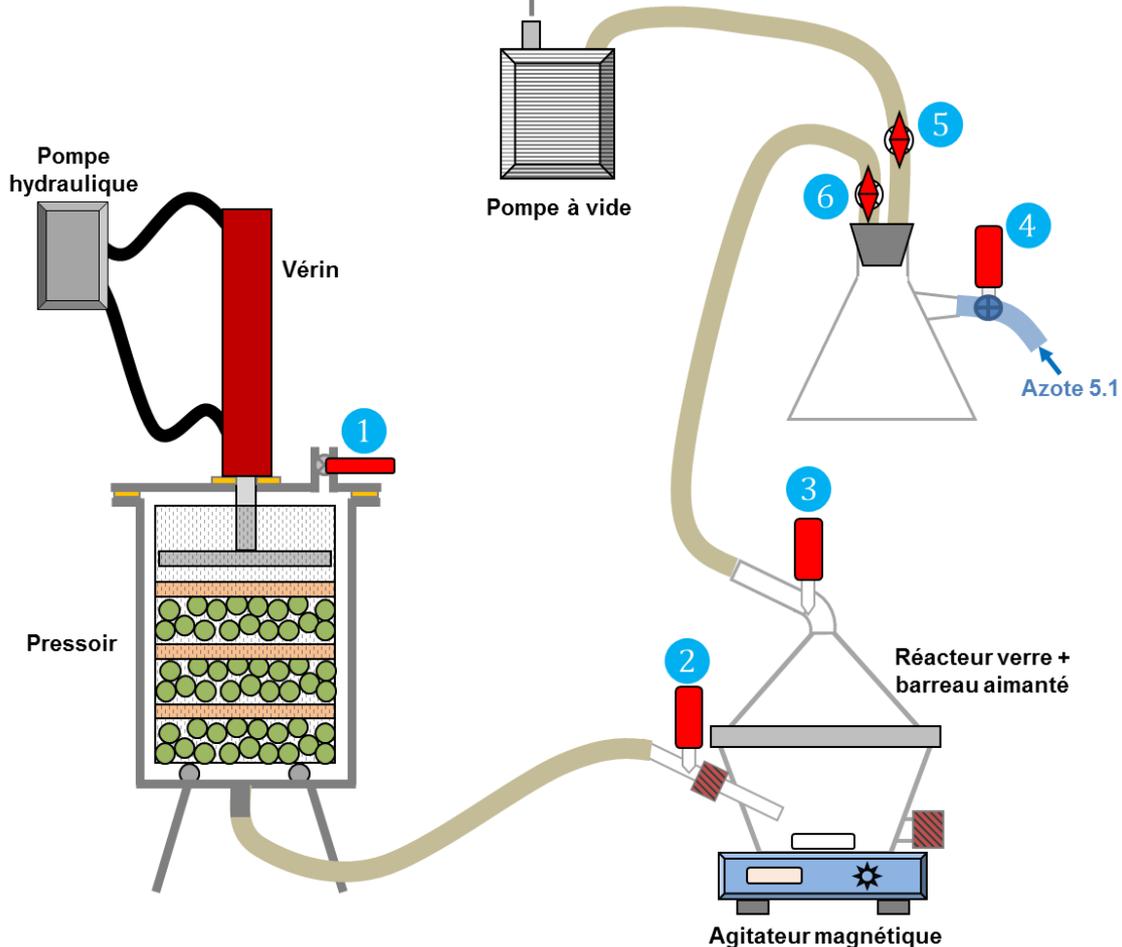


Figure 5. Schéma de montage du système complet (échelle non respectée)

Nous avons ensuite fixé les paramètres de temps liés aux cycles de vide/inertage, par le suivi de la concentration en O₂ de l'enceinte (**Figure 6**). Cette concentration a pu être mesurée par électroluminescence au moyen de pastilles-capteurs sensibles et réactives à l'oxygène (sonde PreSens®), placées sur la paroi intérieure du bol du réacteur (**Figure 7**). Les mesures ont été effectuées pour chacune des configurations (« normale » et « cinétique d'oxydation ») :

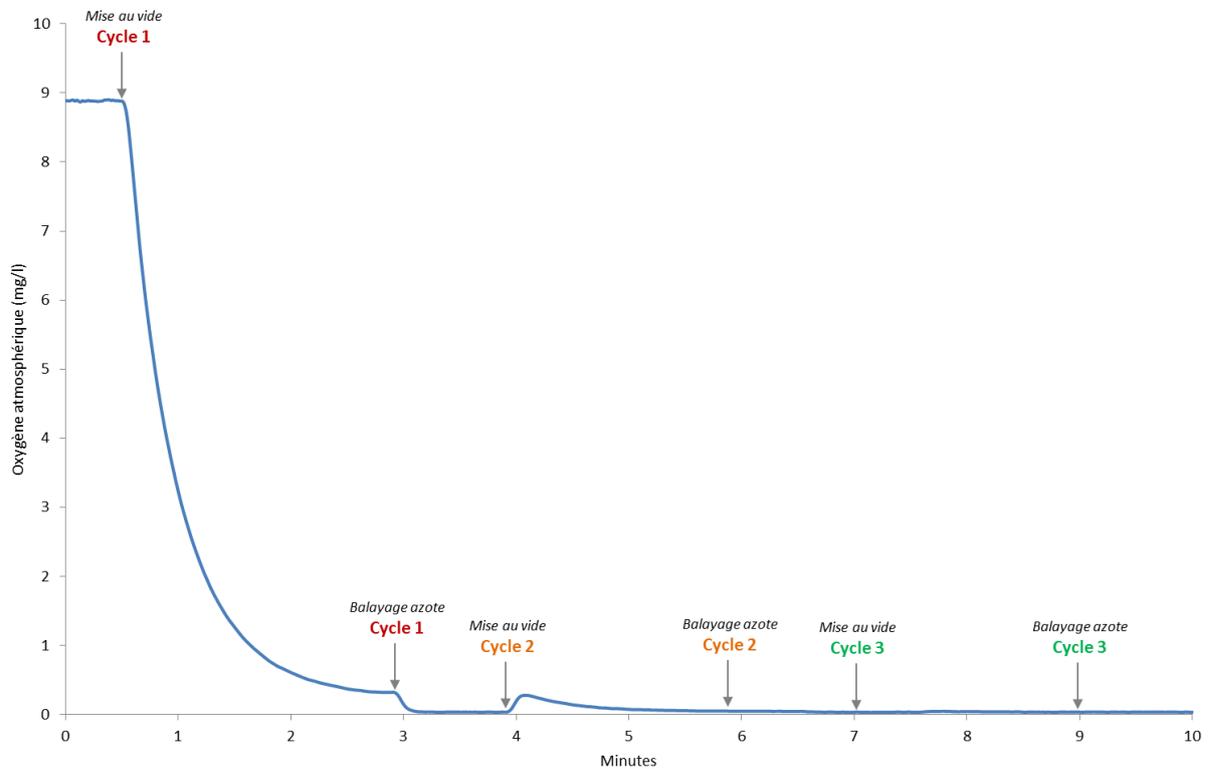


Figure 6. Suivi de la concentration en oxygène atmosphérique dans le réacteur au cours de la procédure d'inertage.

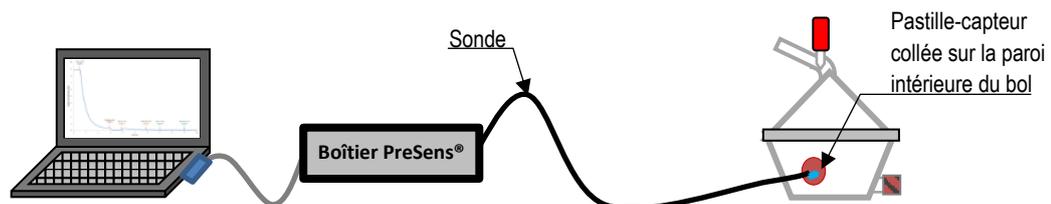


Figure 7. Dispositif de mesure non destructif de l'oxygène dans l'atmosphère du réacteur par électroluminescence (PreSens®).

Malgré le fait que le système soit complètement exempt d'oxygène après deux cycles d'inertage, un troisième cycle est effectué par précaution. Avant la presse, l'enceinte du pressoir sera laissée en légère surpression d'azote (0,05 bar) tandis que le réacteur en verre sera maintenu sous vide, permettant de cette manière le transfert du moût produit.

Rendement de pressurage

La pression appliquée dans le vérin lors de la presse manuelle des raisins par l'utilisateur est comprise entre 50 et 60 bars. D'après les spécifications techniques du vérin, et la surface du disque/piston, ceci correspond à une pression exercée sur la vendange comprise entre 1,5 et 1,8 bars.

Cette valeur correspond aux valeurs retrouvées sur les différents types de pressoirs couramment utilisés dans la profession.

Dans notre cas, la différence majeure avec un pressoir de plus grande échelle (pneumatique ou mécanique) va être l'impossibilité d'effectuer le rebêchage de la vendange (rupture de la pression et homogénéisation). En effet, cette étape permet d'obtenir de meilleurs rendements en jus par l'enchaînement de plusieurs cycles presse/rebêchage.

Le rendement en jus étant donc significativement affecté (**Figure 8**), nous avons dû nous assurer que la presse sans rebêchage était tout de même suffisante pour produire un moût représentatif quelle que soit la qualité des baies.

Vis-à-vis de la dureté des baies pressées, le bilan des données accumulées au cours des vendanges 2013, 2014, 2015, 2016 et 2017 a permis de valider la reproductibilité du système, la maturité des baies n'ayant aucun impact sur le rendement de pressurage. (**Figure 9**).

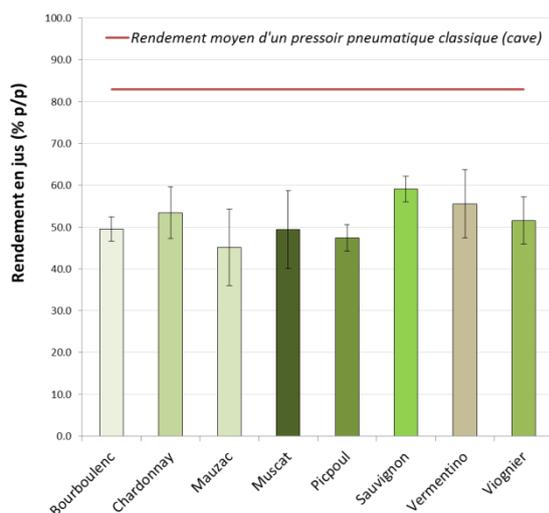


Figure 8. Rendements moyens du pressoir hydraulique de laboratoire sur quelques cépages de référence.

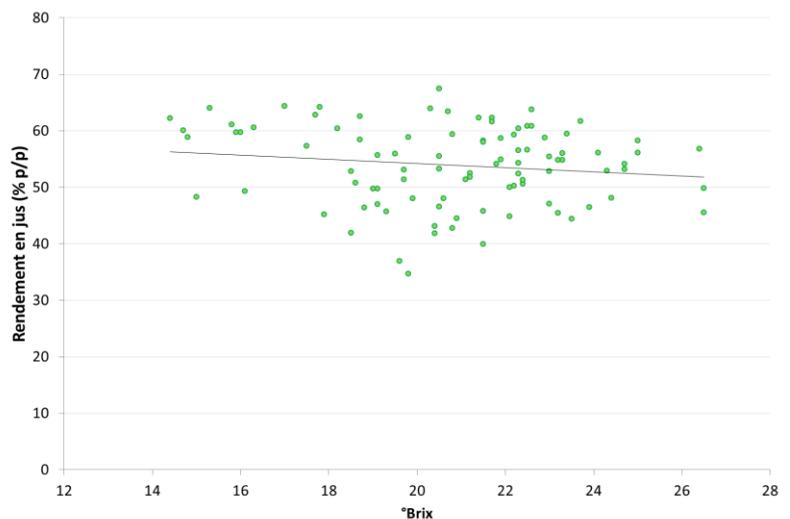


Figure 9. Rendements du pressoir hydraulique de laboratoire et maturité des baies (exprimée en °Brix).

Test de robustesse

Un test a été effectué pour savoir si un moût produit par ce système, et dans ces conditions, pouvait être considéré comme stable dans le temps. Cette donnée était particulièrement nécessaire pour valider les résultats des cinétiques d'oxydation de moût au cours desquelles une étanchéité vis à vis l'oxygène est primordiale.

Durant la cinétique, le moût est maintenu dans le réacteur et est soumis à des ajouts précis et connus d'oxygène. Par conséquent la moindre entrée d'air, ou fuite d'oxygène, apporterait un biais impactant et faussant les bilans matière.

Pour ce faire, un moût a été produit dans le réacteur « cheminée-piston » (**Figure 4**), selon le protocole défini. Des prélèvements ont ensuite été effectués au cours du temps et stabilisés de manière à pouvoir quantifier par chromatographie liquide (HPLC) toutes les molécules-marqueurs des réactions d'oxydation qui auraient pu avoir lieu : acide ascorbique, acides hydroxycinnamiques et GRP (Grape Reaction Product = combinaison d'une molécule de quinone, issue de l'oxydation de l'acide caftarique, avec une molécule de glutathion) - (**Figure 10**).

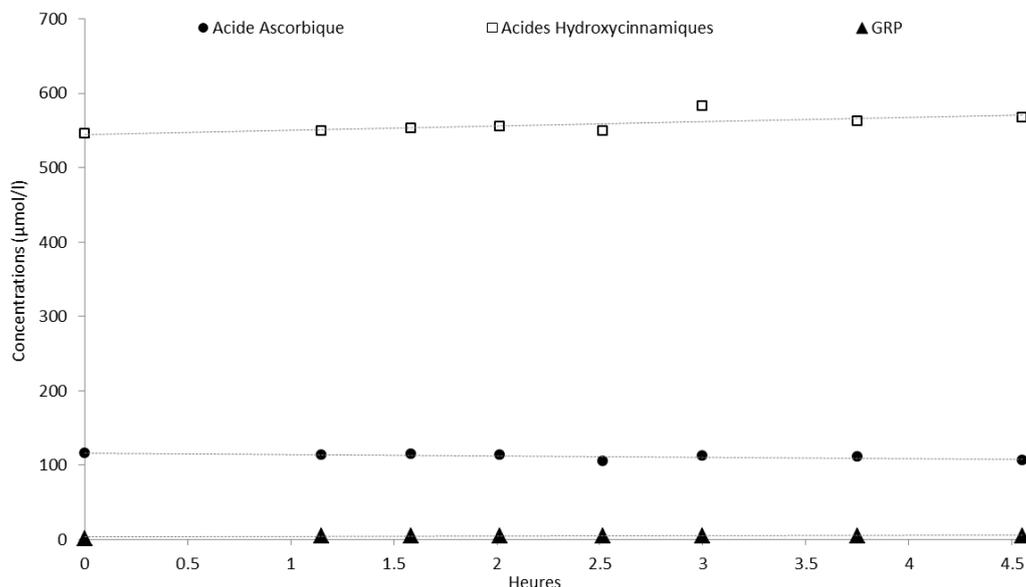


Figure 10. Test d'étanchéité du réacteur par le suivi des molécules-marqueurs de réactions d'oxydation sur moût de Chardonnay.

Comme on peut l'observer, la qualité du moût est stable durant plus de 4 heures. La moindre trace d'oxygène qui aurait pu diffuser de par la perméabilité des matériaux ou par une fuite (vannes, septum...), aurait eu un impact rapide et direct sur la diminution de la concentration en acide ascorbique et sur l'apparition de GRP, le système est donc étanche vis-à-vis de l'oxygène.

Modélisation de la dissolution de gaz en configuration « cinétique d'oxydation »

Préalablement à nos essais de cinétique d'oxydation des moûts, nous avons dû déterminer la vitesse de dissolution d'oxygène dans le réacteur en mode « cinétique » de manière à pouvoir connaître précisément la quantité d'oxygène qui se dissout (et qui donc va réagir) dans le moût en fonction du temps et dans des conditions bien définies.

Cette valeur de coefficient de transfert (exprimée en $\text{mg.L}^{-1}/\text{min}$), sera ensuite reliée aux analyses de chaque échantillon prélevé au cours de l'expérimentation, permettant ainsi d'établir la relation entre la composition du moût et la quantité d'oxygène qui aura réagi à un instant donné.

Cette étape de calibration du système a pu être possible grâce à l'obtention d'un modèle de dissolution du gaz dans le réacteur. La mise en œuvre des mesures a donc été effectuée dans les conditions opératoires bien définies : milieu modèle, agitateur magnétique et barreau aimanté spécifiquement dédiés à ces expérimentations.

Y. Sire

Pour cela, nous avons dû travailler sur un moût synthétique qui, contrairement à un moût naturel, est complètement exempt d'activité oxydative enzymatique (**Tableau 1**).

| | | |
|---|-----|------|
| Glucose | 180 | g/l |
| Acide malique | 6 | |
| KH_2PO_4 | 760 | mg/l |
| K_2SO_4 | 500 | |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 260 | |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 160 | |
| NaCl | 200 | |
| NH_4Cl | 280 | |

Tableau 1. Composition du moût synthétique (Bely et al., 1990).

Ce dernier a tout d'abord été complètement désoxygéné par barbotage à l'azote. Les mesures ont ensuite été déclenchées après l'ajout d'un volume de 10 mL d' O_2 pur dans le réacteur (**Figure 11**).

La mesure d'oxygène par électroluminescence (système PreSens® - **Figure 7**) a été réalisée au moyen de deux spots (pastilles-capteurs) placés à l'intérieur du réacteur : le premier dans le bol (capteur BAS) et le second dans la partie haute de la cheminée-piston (capteur HAUT).

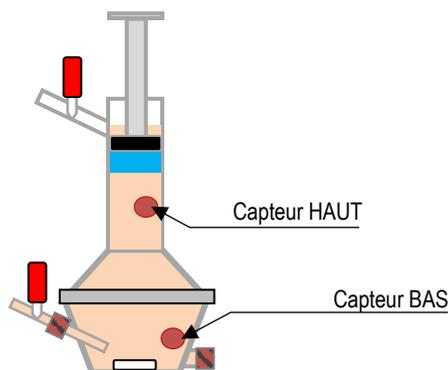


Figure 11. Schéma du réacteur équipé des deux spots de mesure d'oxygène.

Plusieurs conditions de températures et d'agitation ont aussi été testées de manière à observer leur incidence sur le système :

- agitation à 600 et 1000 rpm,
- température du moût synthétique à 22°C et 25,5°C.

La vitesse de dissolution en solution modèle a ensuite été calculée, pour chacune des conditions opératoires, à partir du graphique de suivi de la concentration en O_2 dissous en fonction du temps (**Figure 12**).

De plus, la pose de deux capteurs a permis de valider l'homogénéité de l'agitation dans le réacteur puisque dans chaque cas les courbes des capteurs HAUT et BAS se confondent.

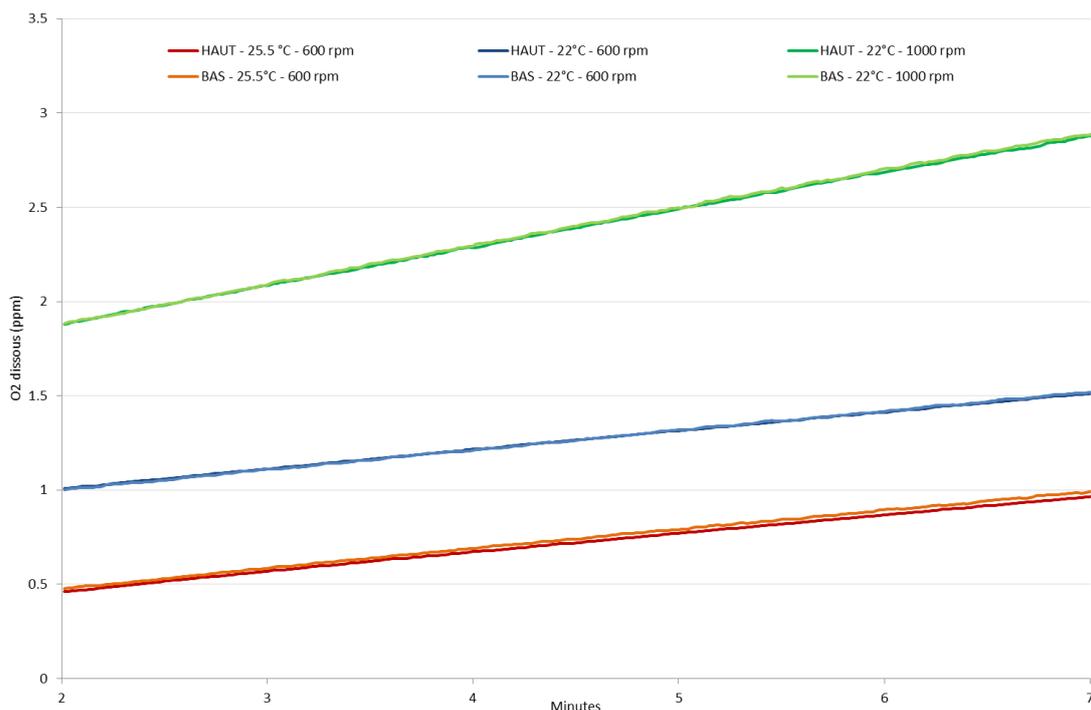


Figure 12. Suivi de la vitesse de dissolution d'oxygène en solution modèle (moût synthétique).

Ces mesures nous ont permis de montrer que la vitesse d'agitation a un impact non négligeable sur la vitesse de dissolution de l'oxygène dans le système. À l'inverse, un écart de température léger, correspondant à des variations courantes retrouvées dans le laboratoire ($\pm 3^\circ\text{C}$), n'aura qu'une influence minimale et négligeable sur la mesure.

Le bilan des coefficients de dissolution de l'oxygène dans un moût synthétique, en $\text{mg.L}^{-1}/\text{min}$ est présenté dans le **Tableau 2** ci-dessous.

| Vitesse d'agitation | 600 rpm | | 1000 rpm |
|---|---------------|---------------|---------------|
| Température | 25,5 °C | 22°C | |
| Coefficient de transfert capteur HAUT | 0,1001 | 0,1008 | 0,2025 |
| Coefficient de transfert capteur BAS | 0,1026 | 0,1037 | 0,1998 |
| Moyenne ($\text{mg.L}^{-1}/\text{min}$) | 0,1014 | 0,1023 | 0,2012 |

Tableau 2. Bilan des coefficients de dissolution d'oxygène.

Usages et mise en œuvre du système

Production de moût en configuration « classique »

L'analyse du moût obtenu dans l'enceinte du réacteur en configuration « classique » et en conditions anoxiques (**Figure 3**), va permettre de connaître la composition native des baies avant que toute réaction d'oxydation n'ait eu lieu.

Le moût produit est alors directement stabilisé chimiquement dans le réacteur par ajout préalable de benzosulfinate de sodium et de métabisulfite de sodium en poudre (1,5 mg de chaque / mL de moût). Dans ce

cas, le réacteur peut ensuite être ouvert afin de prélever le moût en vue d'une analyse directe, ou de le congeler dans le cas d'une analyse différée (**Figure 13**).

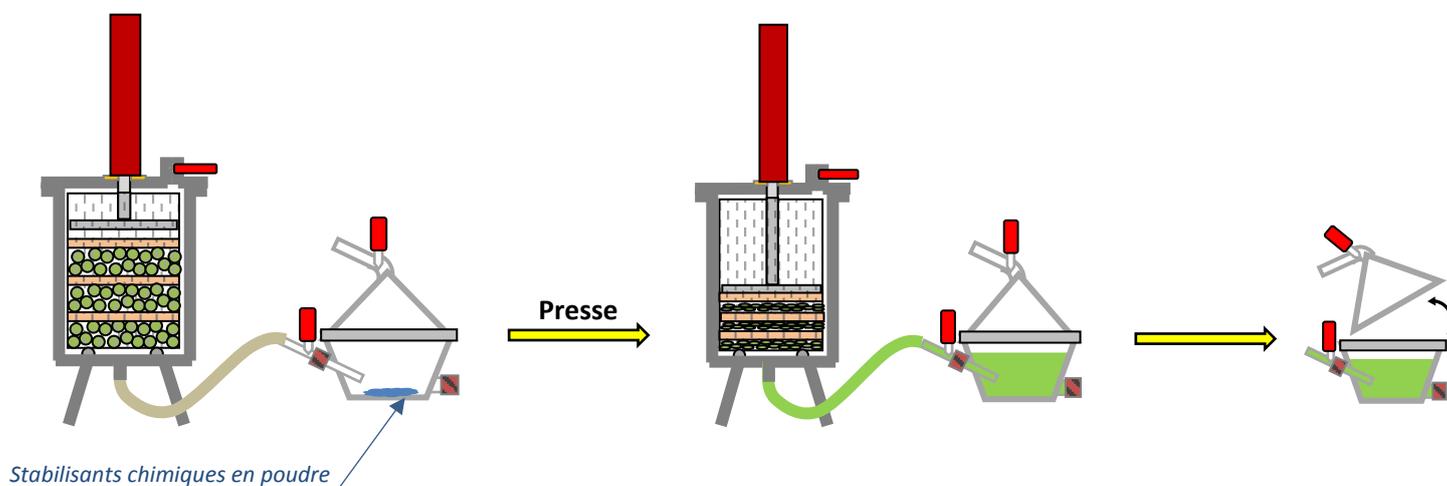


Figure 13. Schéma de production de moût stabilisé pour analyse

Si nécessaire, le moût produit peut aussi être conservé dans le réacteur pour être prélevé directement, sans stabilisation chimique, à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille, à travers le septum (**Figure 14**).

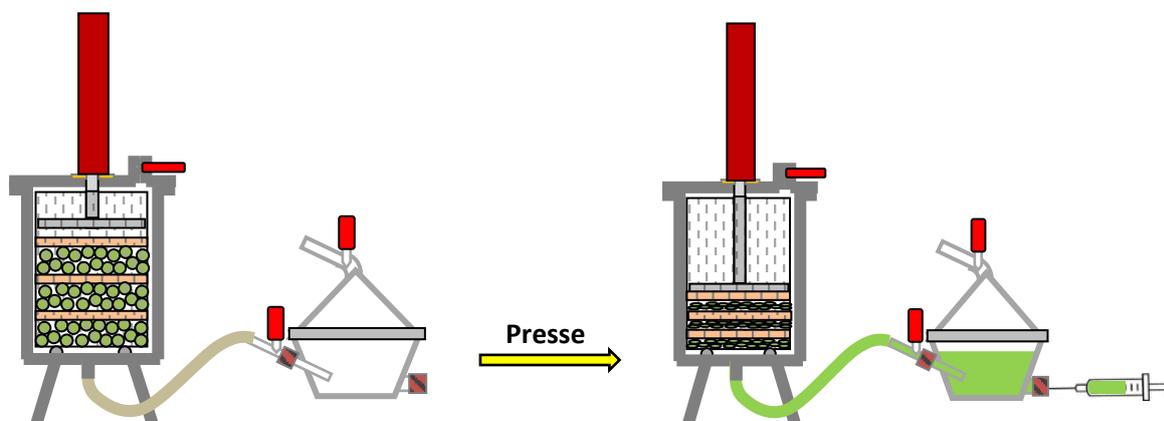


Figure 14. Schéma de production de moût non stabilisé

Production de moût en configuration « cinétique d'oxydation »

La seconde possibilité offerte par un tel système est de pouvoir réaliser des cinétiques d'oxydation contrôlées. En effet, la configuration du réacteur en verre avec le couvercle piston-cheminée (**Figure 4**) va permettre d'injecter une quantité de gaz connue qui sera directement en contact avec le moût sous une agitation définie, la bulle de gaz allant se loger dans la partie haute du couvercle.

Lors des phases d'inertage du système, le piston va être maintenu par des cales en bois au-dessus de la cheminée, de manière à ce qu'il ne soit pas aspiré lorsque le réacteur est sous vide (une bague métal permet de les solidariser). Les cales seront ensuite délicatement retirées une fois le réacteur totalement rempli et lorsque les pressions sont à l'équilibre (**Figure 15**).

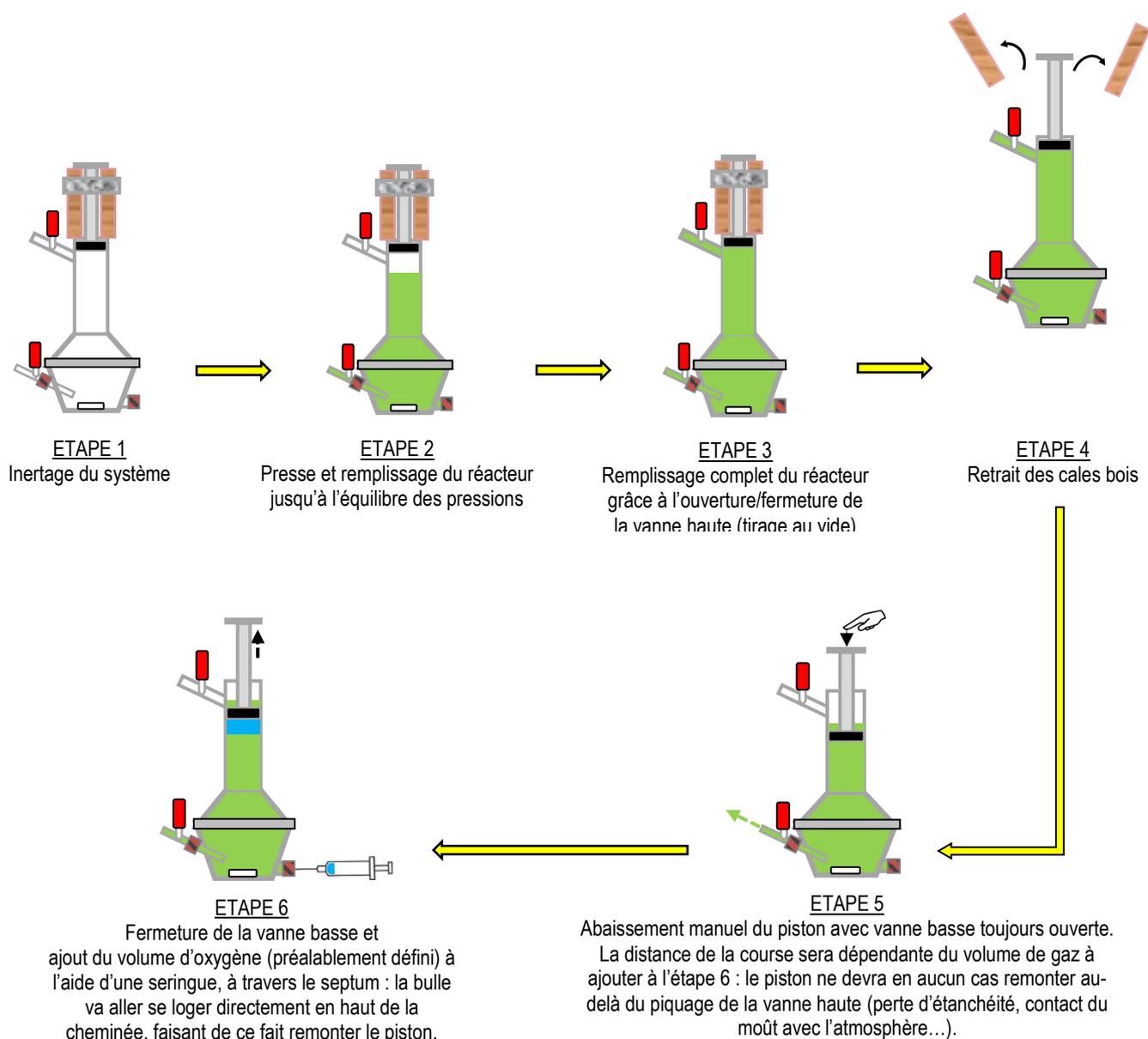


Figure 15. Schéma de production de moût et injection d'oxygène, pour la réalisation d'une cinétique d'oxydation contrôlée.

Des prélèvements pourront ensuite être réalisés au cours du temps à travers le septum, grâce à une seringue préalablement inertée à l'azote, pour être instantanément stabilisés chimiquement puis analysés.

L'intérêt de ce type de couvercle en cheminée est de pouvoir conserver la même surface de transfert liquide/gaz au fur et à mesure des prélèvements. De plus, le piston (mobile et étanche) va suivre les variations du niveau de liquide, permettant ainsi de maintenir un volume d'atmosphère à pression constante. De ce fait, on s'affranchit des biais relatifs à la vitesse de dissolution du gaz dans le liquide tout au long de l'expérimentation.

Cette configuration en conditions bien définies, et couplée au suivi analytique adéquat par HPLC, va donc permettre de pouvoir connaître l'évolution des composés oxydables du moût en fonction de l'oxygène qui aura réagi (Figure 16).

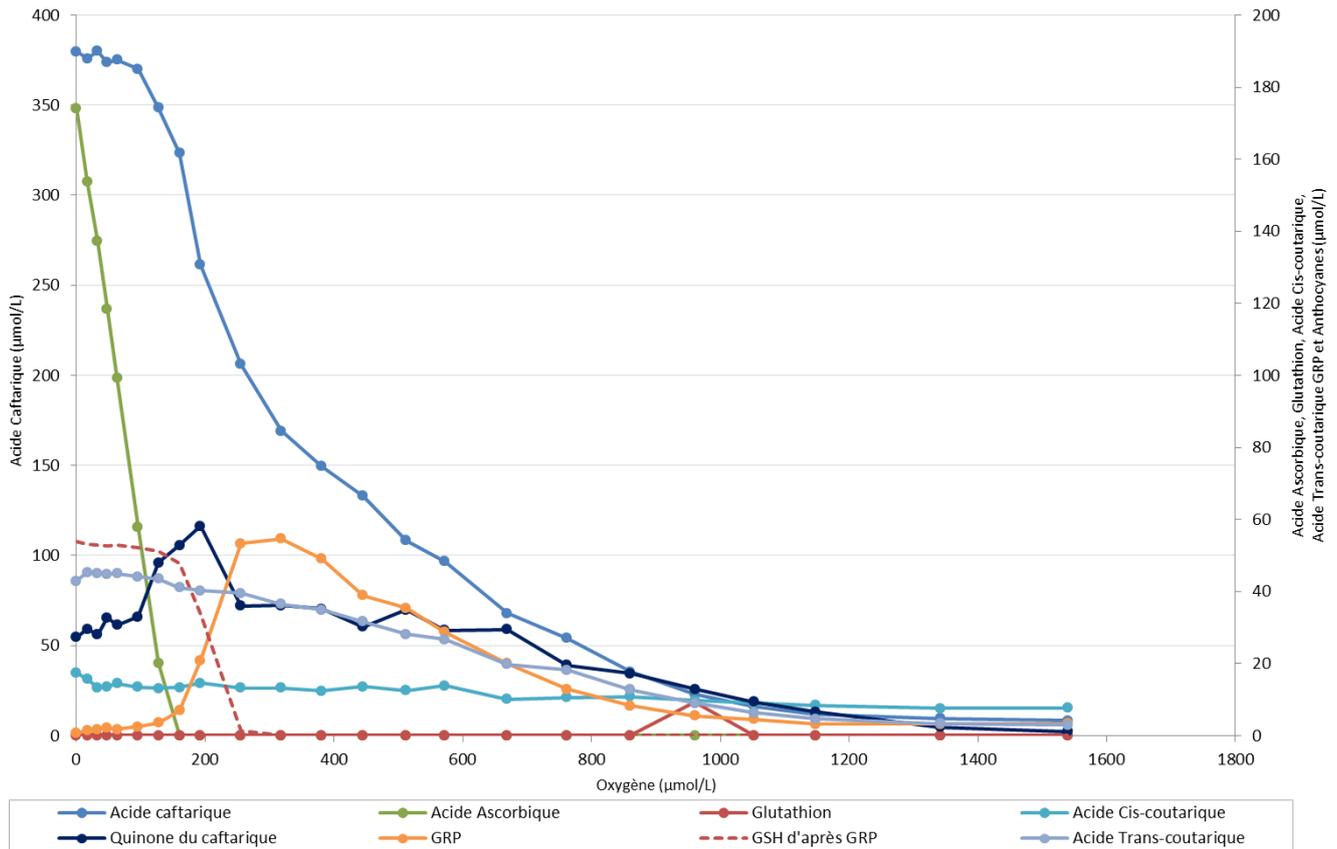


Figure 16. Exemple de cinétique d'oxydation contrôlée sur moût (cépage Mauzac).

Conclusion

Cet appareillage a été développé sur l'Unité pour répondre aux besoins spécifiques des divers programmes de recherches liés aux phénomènes d'oxydation des moûts. Il a été mis en œuvre dans ce cadre durant cinq saisons (vendanges 2013 à 2017) et a permis d'aboutir à de nombreux résultats utilisés par les chercheurs de l'Unité pour la rédaction d'articles scientifiques ou pour le développement de nouveaux axes de recherche.

En effet, toutes les analyses nécessaires permettant la caractérisation précise de l'état d'oxydation d'un moût deviennent possibles avec ce système. La maîtrise complète des conditions physico-chimiques (température, inertage, gaz dissous...) en font un outil idéal permettant de compléter la panoplie analytique mise en œuvre lors du suivi d'un procédé de vinification à grande échelle.

De plus cet outil va être amené à évoluer pour élargir le champ d'applications s'inscrivant dans les travaux des autres équipes de l'Unité : discrimination de qualité de cépage, détermination de la composition native des baies à un moment précis de leur évolution (véraison, vendanges, sur-maturité...), compréhension de voies de biosynthèses de précurseurs...

Enfin, la conception a permis d'impliquer les agents chargés de la chaudronnerie sur le site, qui ont conçu et levé tous les verrous techniques liés à la partie « pressoir inox », et qui nous ont permis d'obtenir un outil à la fois simple et robuste pour un investissement inférieur à 500€ (1200 € pour le système complet « pressoir + réacteurs verre »).

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre des expérimentations menées sur les phénomènes d'oxydation des moûts. Je tiens à remercier Jean-Luc Carquet et Franck Boussuge, chaudronniers de l'Unité, pour leurs compétences techniques et leur savoir-faire sans qui le pressoir n'aurait jamais vu le jour. Un merci particulier à Nicolas Holfeltz (Société NH-Verre) qui a su être à l'écoute et disponible pour réaliser des pièces en verre uniques et de qualité, avec un cahier des charges rempli de contraintes. Merci à Evelyne Aguera, Amélie Roy et Delphine Bouissou pour le temps précieux qu'elles ont consacré à la relecture de cet article (sans oublier Erwan Daine et Justine Garcia, jeunes stagiaires, pour la mise en scène des photos !). Et pour finir, un grand merci à Michel Moutounet et Marie-Agnès Ducasse pour leur gentillesse et pour tout le savoir qu'ils ont pu me transmettre sur l'oxydation et les polyphénols.

Références bibliographiques

Rigaud J, Moutounet M, Cheynier V (1988) Relation entre la consommation d'oxygène et la composition en composés hydroxycinnamiques de quatre moûts de raisins blancs. *Sci Alim* **8**, 467-477.

Bely M, Sablayrolles J-M, Barre P (1990) Automatic detection of assimilable nitrogen deficiencies during alcoholic fermentation in oenological conditions. *J Ferment Bioeng* **70**, 246-252.