

Élimination des goûts de bouchon/moisi et de l'OTA à l'aide d'écorces de levures hautement adsorbantes

62

RÉSUMÉ Si les vins sont relativement plus stables que les autres denrées alimentaires, en raison de leur teneur en alcool, ils sont parfois altérés par des contaminants. Ces contaminants peuvent être préjudiciables à la qualité des vins comme les goûts de bouchon/moisi ou présenter un risque sanitaire comme l'ochratoxine A (OTA). Les produits œnologiques autorisés, et testés sur ces molécules, ne constituent pas un traitement curatif satisfaisant à ce jour. Les expérimentations conduites par Inter Rhône ont permis de montrer en laboratoire, l'efficacité des écorces de levure Extraferm® produites selon le nouveau procédé HALO (High Adsorption Low Odor) développé par la société DSM. Les écorces ont été ajoutées à des vins, avec agitation trois fois par jour, pendant deux jours. L'addition de 400 mg/l d'écorces a permis d'éliminer, en moyenne sur huit vins, 27 % du TCA, 55 % du TeCA et 73 % du PCA sans autre modification analytique ni organoleptique. Ces diminutions sont statistiquement significatives. Le doublement de cette dose permet d'augmenter le taux d'élimination à respectivement 45 %, 73 % et 83 %.

Ce pouvoir adsorbant exceptionnel a été vérifié en grand volume. A cette occasion il a été également montré une efficacité sur le TBA, avec un taux d'élimination de 78 %.

L'effet sur l'OTA est moins important, mais reste toutefois intéressant puisqu'en moyenne, 24 % de l'OTA a pu être éliminé par cette technique.

Désormais, afin d'optimiser ces traitements, il serait intéressant d'étudier les meilleures combinaisons mettant en jeu la dose de traitement, le temps de contact, la température et le rythme de remise en suspension des écorces de levures dans le vin. Mais d'ores et déjà, les données de cette étude fournissent aux vinificateurs une solution efficace.

MOTS CLÉS

GOÛT DE BOUCHON, MOISI, OTA, ÉCORCES DE LEVURES, ADSORPTION, CONTAMINANTS, TCA

ABSTRACT Wines, although relatively more stable than the other foodstuffs, because of their alcoholic content, are sometimes spoiled by contaminants. These contaminants can be prejudicial to the quality of the wines like musty tastes or present a medical risk like ochratoxin A (OTA). The oenological products authorized and tested on these molecules, do not constitute a curative treatment satisfying to date.

The experiments led by Inter Rhône made it possible to show in laboratory, the effectiveness of yeast hulls Extraferm® according to the new process HALO (High Adsorption Low Odor) developed by DSM Food Specialties. The hulls were added to wines with agitation three times per day during two days. The addition of 400 mg/l of hulls made it possible to eliminate on average (eight wines) 27% of the TCA, 55 % of the TeCA and 73 % of the PCA without any analytical nor organoleptic modification. These reductions are statistically significant. The doubling of this amount makes it possible to increase the rate of elimination to respectively 45 %, 73 % and 83 %.

This exceptional adsorbing capacity was verified in big volume. It was also shown effective on TBA with a rate of elimination of 78 %.

The effect on OTA is less important but remains however interesting since on average, 24 % of OTA could be eliminated by this technique.

From now on, in order to optimize these treatments, it would be interesting to study the best combinations between the dose of treatment, the time of contact, the temperature and the rhythm of handing-over in suspension of the yeast hulls in the wine. But already, the results of this study provides to the winemakers a doubly effective solution.

KEYWORDS

MUSTY, CORKED TASTES, OTA, YEAST HULLS, ADSORPTION, CONTAMINANTS, TCA

Patrick VUCHOT
Carole PUECH
Stéphane VIDAL
Inter Rhône
2260 route du grès
84100 Orange
pvuchot@inter-rhone.com
04 90 11 46 37
cpuech@inter-rhone.com
04 90 11 46 08

Olivier FERNANDEZ
Céline FAUVEAU
Patrice PELLERIN
DSM Food Specialties
Parc agropolis 2 bat 5
34397 Montpellier Cedex 5
Patrice.Pellerin@dsm.com
04 67 72 77 40



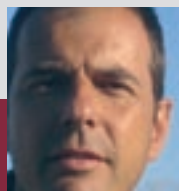
Patrick Vuchot



Carole Puech



Céline Fauveau



Patrice Pellerin



Stéphane Vidal

Removal of musty, corked tastes, using highly adsorbant yeasts hulls



Goûts de bouchon ou de moisi sont des défauts courants des vins, ce constat qui n'épargne aucune région vinicole ne date pas d'hier. En effet, ce problème était déjà évoqué par Georges Jacquemin en 1903 dans son *Traité d'œnologie moderne*... Aujourd'hui, il est établi que ces altérations ne sont pas seulement dues à une contamination par le bouchon, mais peuvent aussi provenir des produits de traitement du bois, ou de l'utilisation de produits d'entretien chlorés pour le chai. Les molécules responsables de ces défauts sont des haloanisoles, regroupant les chloroanisoles et les bromoanisoles. Aujourd'hui, malgré les efforts des bouchonniers, et les précautions d'hygiène prises au chai, ces goûts de bouchon ou de moisi constituent un grave risque commercial.

L'ochratoxine A (OTA), autre molécule indésirable, représente aussi une préoccupation importante pour de nombreux vignobles, notamment en Europe du sud. Elle contamine les raisins puis le vin sans que l'on ne dispose aujourd'hui de moyen efficace de lutte. Bien que le vin contienne beaucoup moins d'OTA que certains aliments comme les céréales, le danger que représente pour la santé l'ingestion de cette molécule a incité l'Union Européenne à fixer la concentration maximale dans les vins à un niveau très bas : 2 µg/l.

Aujourd'hui les mesures préventives, bien que nécessaires, ne permettent pas d'éviter ces contaminants des vins. Les produits œnologiques autorisés et testés, ne constituent pas un traitement curatif satisfaisant : les collages aux gélatines seraient inefficaces sur la réduction de l'OTA (Blateyron *et al.*, 2001) et la filtration aurait peu d'impact. Si l'intérêt de traitements au charbon (essais ITV France) ou de silice, charbon et gélatine combinés a été montré (Dumeau et Trione, 2000), ces opérations ont des conséquences néfastes sur la qualité du vin. Elles entraînent en particulier une diminution de l'intensité colorante et la perte d'arômes. La mise au point d'une solution curative, à l'aide d'un produit autorisé et respectueux du vin, est donc plus que jamais attendue.

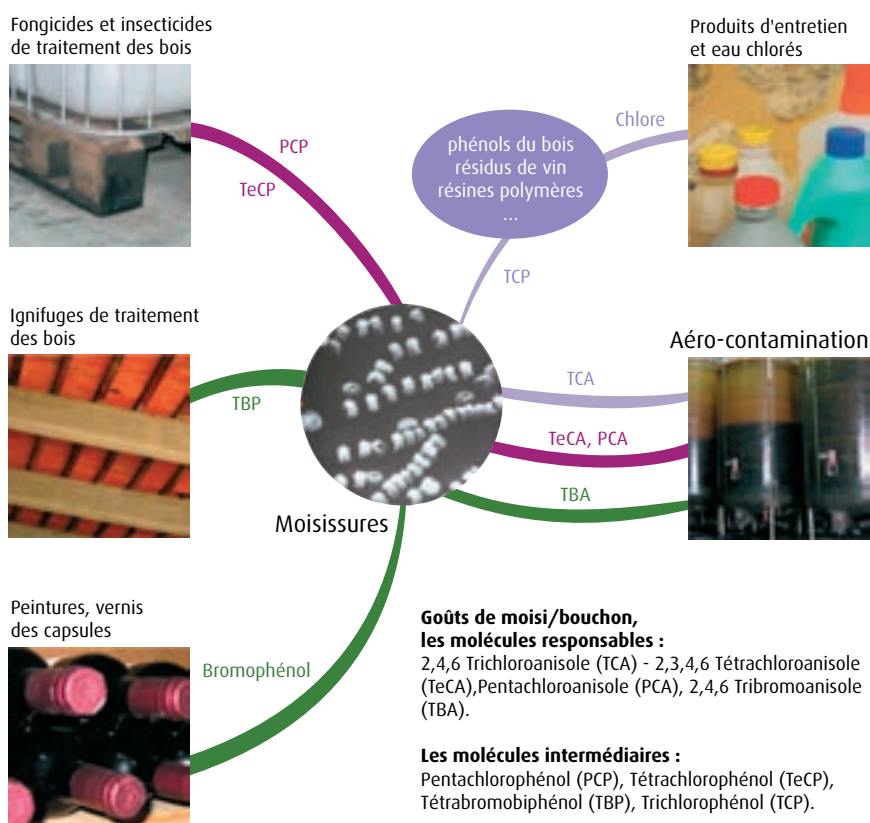
Dans ce travail, nous étudions les propriétés adsorbantes des écorces de levures développées par la société DSM Food Specialties vis-à-vis de l'ochratoxine A (OTA) et des chloroanisoles (TCA, TeCA et PCA). Au cours du procédé de fabrication développé au Food Innovation Center de DSM, les écorces Extraferm® subissent un traitement accroissant leur capacité d'adsorption. Ce procédé garantit l'obtention d'écorces HALO (High Adsorbance Low Odor), c'est-à-dire d'écorces ne transmettant aucune odeur au vin, et ce, même pour une utilisation à forte dose.

LES HALOANISOLES

LE POINT SUR LES CHLOROANISOLES (TCA, TeCA, PCA) ET LES BROMOANISOLES (TBA)

Les haloanisoles regroupent les chloro- et les bromoanisoles. Les chloroanisoles sont les principales responsables des caractères moisis et bouchonnés des vins, en particulier le 2,4,6-tri-

figure 1



Élimination des goûts de bouchon/moisi et de l'OTA à l'aide d'écorces de levures hautement adsorbantes

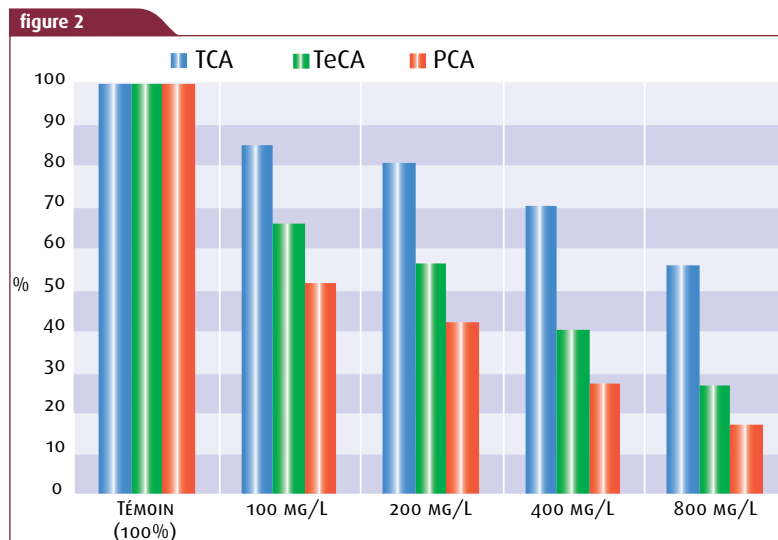
64

chloroanisole (TCA), le 2,3,4,6-tétrachloroanisole (TeCA) et le pentachloroanisole (PCA).

La présence de TCA dans le vin embouteillé provient généralement d'une contamination par le bouchon en liège, contenant lui-même du TCA. Cependant, le TCA présent dans des vins en cuves, provient soit de l'emploi de produits d'hygiène chlorés (comme l'eau de javel), ou de l'utilisation d'humidificateurs fonctionnant avec de l'eau de réseau très chlorée (Michel, 2003). Le chlore réagit rapidement au contact des phénols du bois, de résidus de vin, ou encore de certains revêtements de sols en résines polymères, pour former des trichlorophénols (TCP). Des moisissures présentes dans le chai transforment ensuite le TCP en TCA très volatile. Puis, par les mouvements d'air, la contamination peut s'étendre à l'ensemble du chai. De plus, si des traces de chlore se retrouvent dans le vin, suite à un rinçage insuffisant, il se forme du TCP au contact des phénols du vin, puis du TCA par les microorganismes présents dans le vin ou lors du contact avec le bouchon.

Par ailleurs, de nombreux produits de traitement, insecticides et fongicides des bois (charpentes, palettes, portes...), contiennent des tétra et pentachlorophénols (TeCP et PCP). Des moisissures présentes dans le chai peuvent les transformer en chloroanisoles, tétra- et pentachloroanisoles (TeCA et PCA), malodorants et très volatiles (Bonnet *et al.*, 2005 ; Maujean et Millery, 1985 ; Alvarez-Rodriguez *et al.*, 2002). La présence de ces deux dernières molécules dans le vin signe une aérocontamination. Ce mode d'altération concerne des volumes bien plus conséquents que les problèmes de TCA en bouteilles.

Élimination des chloroanisoles par des doses croissantes d'écorces de levure Extraferm® (moyenne sur deux vins), exprimée en pourcentage du taux de contaminant présent dans le vin. Résultats Inter Rhône.



D'autres molécules responsables de goûts de moisi dans les vins ont été récemment mises en évidence. Il s'agit des bromoanisoles et en particulier du 2,4,6-tribromoanisole (TBA). Comme les chloroanisoles, ils sont formés par l'action de moisissures sur des précurseurs spécifiques, le plus souvent des bromophénols. La contamination serait diffusée par l'atmosphère du chai à partir de bois traités (Chatonnet *et al.*, 2004). Elle pourrait également provenir de capsules mé-



talliques de bouchage (vernis constitués à partir de résines époxybromées), de copeaux de bois eux-mêmes contaminés et par aérocontamination à partir d'isolant ignifugé contenant des retardateurs de flamme à base de tétrabromobisphénol A (Michel, 2003).

L'ensemble des mécanismes d'aérocontamination est schématisé figure 1.

L'efficacité d'Extraferm® sur la réduction des haloanisoles a été quantifiée en deux étapes. Dans un premier temps, par des essais en laboratoire où l'effet de la dose a été mesuré, puis par des essais en grand volume, pour vérifier les résultats en conditions réelles.

	Nombre de vins traités	Témoin	Vin traité (+ 400 mg/L)	Taux de variation ±écart type	Risque global
TCA (ng/l)	8	6,0	4,4	- 27 % ±5	0,5 %
TeCA (ng/l)	6	34,0	15,2	- 55 % ±8	0,6 %
PCA (ng/l)	6	25,2	6,9	-73 % ±11	1,1 %

tableau 1

MATÉRIEL ET MÉTHODES

• Expérimentations en laboratoire

Les essais ont été conduits en 2004 et 2005, sur des vins rouges et vin doux naturel naturellement contaminés. Nous avons choisi des vins présen-



tant une teneur en TCA supérieure à 5 ng/l, et en TeCA supérieure à 25 ng/l. Ces valeurs sont les seuils de perception communément retenus pour les déviations organoleptiques respectivement de type bouchon/moisi et moisi.

Les écorces de levures Extraferm® ont été ajoutées en laboratoire à différentes doses : 0, 100, 200, 400 et 800 mg/l. Le contact entre les écorces et le vin a été maintenu pendant 48h avec 3 agitations par jour (matin, après midi et soir).

Sur tous les vins sont réalisées les analyses œnologiques classiques, analyses de chromaticité et des

Élimination des haloanisoles. Analyse de variance à deux facteurs. Résultats Inter Rhône.

haloanisoles par la méthode SBSE/GC/MS, accréditée COFRAC du laboratoire d'Inter Rhône.

• Expérimentations en grand volume

Des essais en grand volume ont été conduits afin de vérifier l'efficacité observée en laboratoire, dans des conditions où la mise en suspension des écorces de levures s'avère plus délicate à assurer.

Pour cette étude, deux sites ont été sélectionnés. Dans chacun d'eux, un vin contaminé a été traité. Le premier était un vin blanc millésime 2005 contaminé en TBA et en PCA, réparti en 2 cuves. Le second, un rouge 2004 contaminé en TeCA et PCA.

Les écorces de levure ont été ajoutées à la dose de 400 mg/l, en une seule fois. Le contact entre les écorces et le vin est maintenu pendant 48 heures, pour reprendre les conditions qui ont été validées précédemment au laboratoire. Les agitations sont faites par remontage, 3 fois par jour, à l'aide d'une pompe.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

• Efficacité du traitement en laboratoire

Pour permettre une étude statistique, nous présentons ici les résultats obtenus sur vins traités avec les écorces Extraferm® à la dose de 400 mg/l, modalité pour laquelle nous avons le plus grand nombre de résultats.

L'analyse statistique révèle que sur 8 vins traités (tableau 1), l'addition de 400 mg/l d'écorces de levures a permis de réduire le taux de TCA de

Réduction de la teneur en haloanisoles d'un vin blanc par un traitement Extraferm® en grand volume.

figure 3



Élimination des goûts de bouchon/moisi et de l'OTA à l'aide d'écorces de levures hautement adsorbantes

27 % en moyenne. Ces résultats sont significatifs au risque d'erreur de 0,5 %.

Les résultats sont encore meilleurs sur la réduction des TeCA. Le traitement aux écorces permet ici de réduire le taux de plus de 55 % par rapport aux témoins (moyenne sur 6 vins). Ces différences sont significatives au risque d'erreur de 0,6 %.

L'efficacité du traitement aux écorces est encore plus marquante vis-à-vis des PCA. Le taux de contamination est réduit de plus de 73 %, résultat statistiquement significatif compte tenu d'un risque d'erreur de 1,1 %.

• Effet de la dose de traitement en laboratoire

Afin d'optimiser l'efficacité et le coût du traitement, différentes doses d'Extraferm® ont été testées (figure 2).

L'élimination des trois types de chloroanisoles est proportionnelle à la dose d'écorces de levures utilisées.

Le traitement avec Extraferm®, dès la dose de 100 mg/l, permet de ramener le taux de TCA sous le seuil de 5 ng/l et celui de TeCA sous le seuil de 25 ng/l. Bien que ces seuils de perception soient théoriques, on peut considérer que ces écorces de levures constituent un traitement curatif plutôt efficace contre les goûts de bouchon et de moisi.

• Effet du traitement en grand volume

Sur le premier site, deux cuves de 18 et 3 hl d'un vin blanc présentaient des teneurs élevées en TBA (respectivement 5,5 et 2,8 ng/l). Ces vins ont été traités en une seule fois avec 400 mg/l d'écorces de levures DSM. Suite à ce traitement, les teneurs en TBA ont fortement diminué. Elles sont passées en-dessous du seuil de perception théorique (5 ng/l) pour atteindre respectivement 1,2 et 0,6 ng/l, ce qui correspond à une chute de 78 % dans les deux cuves (Figure 3). Lors de la dégustation par les œnologues du Service Technique d'Inter Rhône (9 juges sans répétition), les notes moisi/terreux n'étaient plus perceptibles.



De plus, le TeCA a été réduit de 23 % (passant de 2,6 à 2 ng/l) et le PCA de 68 % (passant de 21,5 à 6,8 ng/l). Ces valeurs de contamination «résiduelle» sont inférieures aux seuils de perception.

Sur le deuxième site, une cuve de vin rouge présentait des teneurs élevées en TeCA et PCA (60 et 147 ng/l). Un premier traitement test a été réalisé dans une bouteille. La dégustation, par les œnologues du Service Technique d'Inter Rhône, a donné entière satisfaction en terme d'élimination du caractère moisi, par rapport au vin témoin, ainsi que sur l'absence de goût de levure. Le traitement en grand volume a eu lieu à la cave, à 400 mg/l. Les analyses alors réalisées ont montré une réduction des TeCA et PCA respectivement de 60 et 61 %.

Résultats d'élimination de l'ochratoxine A. Analyse de variance à deux facteurs. Moyenne des huit essais. Résultats Inter Rhône.

tableau 2

	Nombre de vins traités	Témoin	Vin traité (à 800 mg/l)	Taux de variation ±écart type	Risque global
OTA (µg/l)	8	3,4	2,6	- 24 % ±12	1,2 %



Ces essais en grand volume ont permis de confirmer l'efficacité intéressante du traitement aux écorces de levures pour la décontamination des vins contenant des haloanisoles.

Un contact de 48 heures entre les écorces et le vin à traiter, assorti d'une agitation par pompage 2 à 3 fois par jour, a permis la réussite du traitement de décontamination. Et cela, même si la remise en suspension est moins aisée en grande cuve.

Nous avons pu, pour la première fois, montrer l'efficacité du traitement pour diminuer les teneurs en TBA, molécule dont le seuil de perception est aussi faible que celui du TCA et qui confère au vin le même défaut. Nous avons obtenu une réduction importante de 78 %.

CONCLUSION

Le procédé HALO permet d'obtenir des écorces de levures offrant une solution fiable pour le traitement des vins contaminés par des haloanisoles. Ce traitement, très facile à mettre en œuvre et basé sur l'utilisation d'un produit œnologique autorisé, représente un espoir pour de nombreux vinificateurs.

• Impact sur la composition des vins traités

Les analyses des paramètres œnologiques classiques indiquent que l'utilisation des écorces Extraferm® a un effet négligeable sur la composition des vins traités, et ce même à la dose maximale de 800 mg/l. La mesure des DO 280, 520, 420 et 620 nm révèle que le traitement aux écorces de levures Extraferm® affecte très faiblement les paramètres de la couleur du vin. Sur une moyenne de 6 vins traités à la dose de 400 mg/l, on constate une diminution de la DO 280 de 1,5 % et de l'Intensité Colorante (somme des DO à 420, 520 et 620 nm) de 3,1 %. Ces très faibles modifications sont anecdotiques, la décontamination ayant rendu les vins consommables.

Enfin, le traitement aux écorces paraît particulièrement efficace sur les TeCA, PCA et TBA, molécules dont la présence dans les vins résulte d'une aérocontamination dans les chais. Ainsi, lorsque ces composés sont détectés à l'analyse, le vin contaminé est encore logé en cuves. Le problème peut alors concerner de très grands volumes. A ce stade, il est plus facile de traiter

le vin concerné (en cas d'une contamination par le TCA résultant d'un conditionnement avec des bouchons de mauvaise qualité, il est nécessaire de déboucher les bouteilles pour pouvoir réaliser le traitement).

L'ŌCHRATOXINE A

RAPPELS SUR L'ŌCHRATOXINE A (OTA)

La présence d'OTA dans le vin résulte du développement d'une moisissure sur les raisins. Principalement produite par le champignon *Aspergillus carbonarius*, l'OTA aurait, selon le Comité scientifique de l'alimentation humaine, des propriétés cancérigènes et tératogènes, il serait toxique pour les reins et le système immunitaire. Aussi, même s'il en contient beaucoup moins que d'autres aliments (les céréales en particulier), le règlement européen 123/2005 de la Commission européenne a fixé la concentration maximale dans les vins à 2 µg/l, ce que préconisait l'OIV depuis 2002. Certains cahiers des charges de la grande distribution, ou des pays importateurs comme la Finlande, fixent leur propre plafond, de manière encore plus sévère. De plus, la réglementation sur la sécurité alimentaire s'est récemment renforcée. En effet, depuis l'entrée en application, le 1er janvier 2006, du nouveau règlement 852/2004 CE, tous les professionnels, depuis les viticulteurs jusqu'aux metteurs en marché, partagent la responsabilité de l'innocuité des vins. Ce texte impose d'évaluer les risques sanitaires, de maîtriser la sûreté des produits et de le prouver, à toutes les étapes de la production. La maîtrise de la teneur des vins en toxines, comme l'OTA, est donc essentielle. Dans les zones à risque (vignobles méditerranéens ayant présenté des analyses d'OTA supérieures à 0,5 µg/l sur les millésimes précédents), toutes les interventions destinées à protéger l'intégrité de la baie sont nécessaires (éviter les entassements de végétation, maîtriser parfaitement les vers de la grappe, lutter contre la pourriture grise et l'oïdium, entre autres).

Or, pour satisfaire aux exigences commerciales et réglementaires, la seule lutte prophylactique au vignoble peut ne pas suffire (Varga et Kozakiewicz, 2006). Par ailleurs, les essais de traitements des vins contaminés menés jusque là sont

Elimination des goûts de bouchon/moisi et de l'OTA à l'aide d'écorces de levures hautement adsorbantes

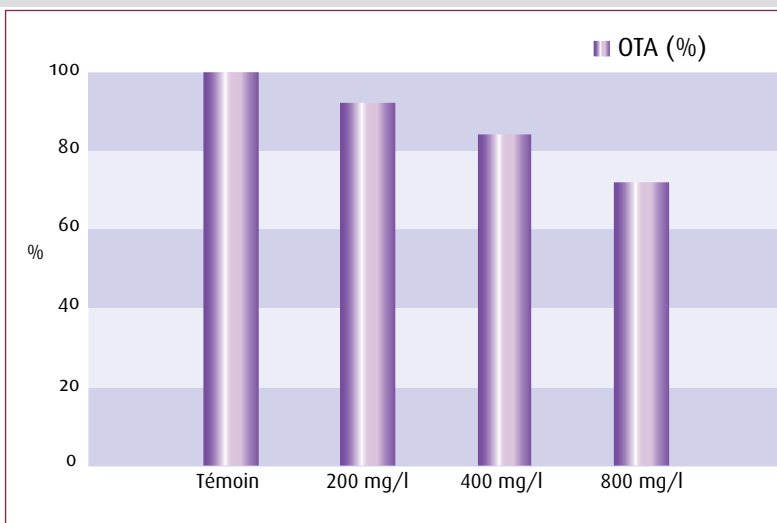


figure 4

Elimination de l'OTA par des doses croissantes d'écorces de levure Extraferm® (moyenne sur deux vins), exprimée en pourcentage du taux de contaminant. Résultats Inter Rhône.

restés insuffisants. Aussi, les producteurs de vins, en particulier ceux élaborant des vins rouges en région méditerranéenne, se voient démunis*. DSM a recherché une solution permettant de réduire l'OTA des vins et a développé un nouveau procédé de fabrication d'écorces de levures. L'efficacité de ces écorces Extraferm® a donc été testée vis-à-vis de l'adsorption de ce composé.

Pour quantifier l'efficacité d'Extraferm® sur la réduction de l'OTA, trois étapes ont été réalisées. Tout d'abord, des essais en laboratoire où l'effet dose a été évalué, puis différents modes d'apport ont été testés (ajout unique ou fractionné). Des essais en grand volume ont ensuite été menés pour vérifier les résultats en conditions réelles.

* La littérature récente rapporte l'effet adsorbant d'une biomasse levurienne sur la réduction de l'OTA (Bejaoui et al., 2004 ; Blateyron et al., 2005)

Taux d'élimination de l'OTA selon le mode d'apport des écorces de levure Extraferm®, exprimée en pourcentage du taux de contaminant présent dans le vin. Résultats Inter Rhône.

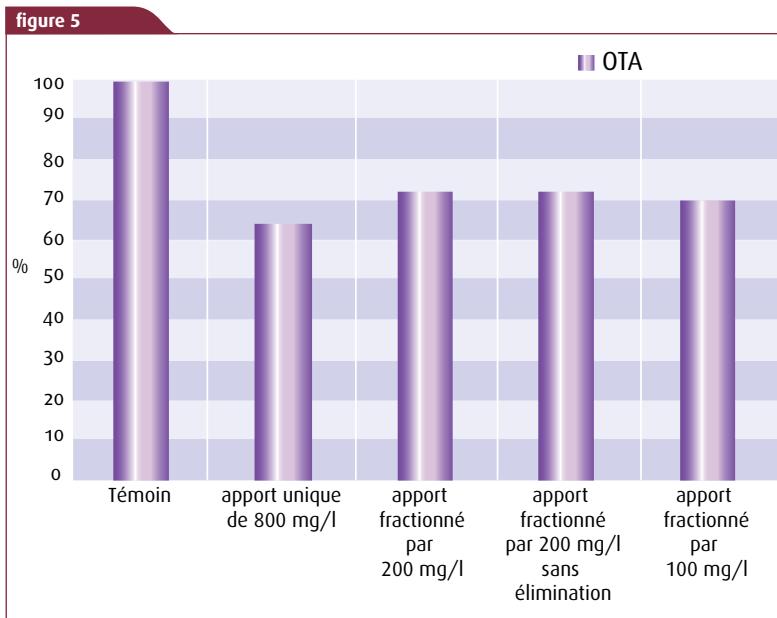


figure 5

MATÉRIEL ET MÉTHODES

• Efficacité du traitement

Les essais ont été conduits à l'échelle du laboratoire sur les millésimes 2004 et 2005, sur des vins rouges naturellement contaminés et présentant une teneur en OTA supérieure à 2 µg/l,



nouvelle limite réglementaire européenne. Les écorces de levures Extraferm® sont ajoutées à différentes doses : 0, 100, 200, 400 et 800 mg/l.

Le contact entre les écorces et le vin est maintenu pendant 48h avec 3 agitations par jour (matin, après midi et soir). Puis les écorces sont éliminées par centrifugation pour les essais en petit volume.

Sur tous les vins, les analyses œnologiques classiques sont réalisées, les paramètres de chromaticité dans le système Lab/LCh sur les vins bruts et les vins additionnés d'éthanal pour corriger la couleur de la présence du SO₂. L'OTA a été analysée par immunoaffinité/HPLC et détectée par fluorimétrie, selon une méthode automatisée



basée sur la méthode AFNOR NF EN 14133, propre au laboratoire d'Inter Rhône.

• Effet du mode d'apport unique ou fractionné

Dans le cas de l'apport de 800 mg/l en une seule fois, le contact entre les écorces et le vin

est maintenu pendant 48 heures avec 3 agitations par jour.

Les essais fractionnés ont été réalisés par ajouts successifs de 100 ou de 200 mg/l jusqu'à 800 mg/l d'écorces, dans un laps de temps de 48 heures. Dans le cas des ajouts successifs de 200 mg/l, les écorces sont ajoutées à 200 ml de vin toutes les demi-journées. Le vin est centrifugé avant chaque prélèvement pour le dosage de l'OTA. Dans un premier cas, la fraction d'écorces est éliminée par centrifugation avant d'ajouter la fraction suivante. Dans un deuxième cas, elle ne l'est pas.

Dans le cas des apports successifs de 100 mg/l, les écorces sont ajoutées à 500 ml de vin toutes les trois heures. Chaque fraction d'écorces est éliminée par centrifugation avant ajout de la suivante. Des billes de verre sont ajoutées dans les flacons, après chaque prélèvement de 10 ml pour analyses, afin de garder un volume suffisant et d'éviter ainsi toute oxydation.

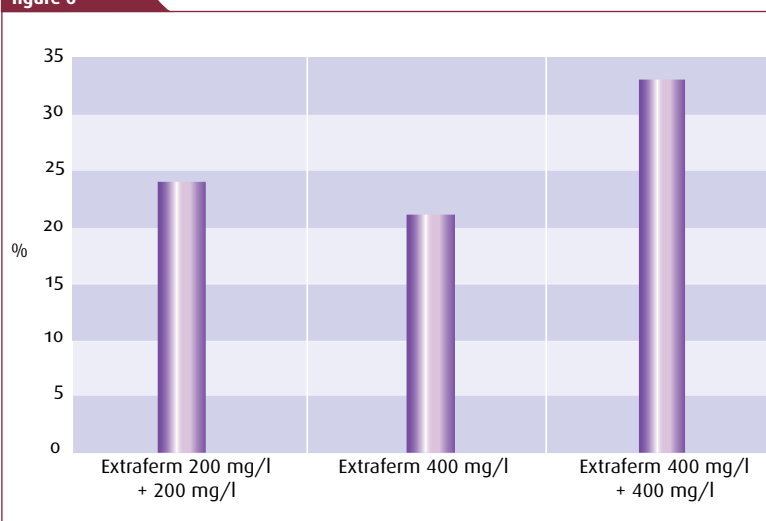
• Expérimentation en grand volume

Cet essai a été réalisé en cave coopérative sur un vin blanc contaminé en OTA avec un taux de 2,1 µg/l, juste au-dessus de la limite légale.

Le vin à traiter est séparé en 3 cuves de 300 hl. Chacune d'elles subit un traitement différent : Extraferm® à 400 mg/l en apport fractionné (200 mg/l + 200 mg/l), Extraferm® 400 mg/l en apport unique, Extraferm® 800 mg/l en apport fractionné (400 mg/l + 400 mg/l). Dans le cas des ajouts fractionnés, le deuxième apport se fait au bout de 36 h et sans élimination de la première fraction d'écorces.

Efficacité des écorces Extraferm® sur la réduction du taux d'OTA d'un vin blanc en cuves de 300 hl. Résultats DSM.

figure 6



Élimination des goûts de bouchon/moisi et de l'OTA à l'aide d'écorces de levures hautement adsorbantes

Le temps de contact est de 72 h (prélèvement de l'échantillon pour analyse au bout de ce temps), avec deux remontages pour maintenir les produits en suspension dans la cuve.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

• Efficacité du traitement

L'analyse statistique des résultats pour l'ensemble des vins traités au laboratoire (tableau 2) révèle que le traitement aux écorces de levures Extraferm® a un effet statistiquement significatif, au risque d'erreur de 1,2 %. En moyenne sur 8 vins, l'apport de 800 mg/l d'écorces permet de réduire la teneur en OTA de 24 %.

La diminution des teneurs en OTA est d'autant plus importante que la dose d'écorces de levures augmente. La dose 800 mg/l n'a ici pas permis de passer en dessous de 2µg/l. Le pouvoir adsorbant de ces écorces permet de « corriger » un vin, dont la teneur en OTA est légèrement au-dessus de la teneur réglementaire. Ce traitement peut aussi permettre de diminuer suffisamment les concentrations d'OTA, pour passer en dessous du seuil légal par assemblage avec un vin sain.

Il a été observé une certaine variabilité de l'efficacité du traitement, sans doute due à la composition du vin, qui influence l'efficacité des écorces de levures. En effet, contrairement aux anisoles, l'adsorption d'OTA est non spécifique et il est possible qu'il existe une compétition pour les sites de fixation sur les écorces. Selon la composition des vins, d'autres composés aptes à se fixer peuvent influencer sur le taux de décontamination.

• Effet du mode d'apport

Pour compléter les résultats obtenus, l'apport en une seule fois a été comparé à des apports successifs d'écorces de levure (figure 5).

Lors d'un apport unique (800 mg/l), une diminution de la concentration en OTA de 23 % a pu être observée 12 heures après le début de l'ajout,



pour atteindre 36 % au bout de 48 heures. Le vin est passé de 6,1 à 3,9 µg/l.

Comme le montre la figure 5, les trois autres protocoles ont permis une baisse du taux d'OTA respectivement de 28, 28 et 30 % au bout de 48 heures à la dose finale de 800 mg/l.

Les apports fractionnés apparaissent ici moins efficaces qu'un apport unique de 800 mg/l. Cependant, le traitement statistique des données révèle qu'aucun mode d'apport des écorces n'apparaît significativement différent des autres.

En effet, les décontaminations obtenues après traitements fractionnés ne sont pas plus importantes que celle obtenue par apport de 800 mg/l

Résultats d'élimination des haloanisoles et de l'ochratoxine A. Dose 400 mg/l pour les TBA, TeCA, PCA et TCA et 800 mg/L pour l'OTA.

tableau 3

Réduction de la contamination (%)	TBA	PCA	TeCA	TCA	OTA
En laboratoire	-	-72,5 %	-55,2 %	-26,6 %	- 23,6 %
En cave	-78,4 %	-68 %	-23 %	-	- 33 %



en une seule fois. De plus, les apports fractionnés, avec élimination des écorces entre deux apports, semblent difficiles de mise en œuvre à l'échelle d'une cave. L'ensemble de ces résultats montre qu'il n'est pas avantageux de traiter les vins par apports successifs.

• Expérimentation en grand volume

Les résultats des essais menés en cave coopérative sont cohérents avec ceux obtenus dans les conditions contrôlées du laboratoire. L'efficacité de décontamination augmente avec la quantité d'écorces ajoutées (Figure 6). Les traitements par apport unique ou par ajouts fractionnés donnent des résultats comparables sur l'élimination de l'OTA.

CONCLUSION

Ces essais en grands volumes confirment l'intérêt du traitement aux écorces de levures Extraferm® pour réduire partiellement le taux d'OTA dans les vins contaminés. Ce type de traitement est tout à fait envisageable. Il est facile à mettre en œuvre à grande échelle et son efficacité est comparable à celle observée en laboratoire.

Le traitement aux écorces Extraferm® constitue une solution, simple et accessible, pour réduire le taux d'ochratoxine A des vins. Selon le taux initial de contamination, des mesures complémentaires peuvent s'avérer nécessaire pour passer en-dessous du seuil légal. Les analyses œnologiques classiques révèlent qu'il n'a aucune conséquence notable sur la couleur ou la nuance des vins traités.

CONCLUSION GENERALE

Les séries d'expérimentations et d'analyses réalisées ont permis de mettre en évidence la capacité d'un type d'écorces de levure à fixer les haloanisoles et l'ochratoxine A.

Nous pouvons classer les molécules selon leur aptitude à être adsorbées par ces écorces, dans un ordre décroissant (tableau 3).

Pour les chloroanisoles, l'efficacité est d'autant plus élevée que le nombre d'atomes de chlore est élevé. L'augmentation du nombre d'atomes de chlore sur le noyau anisole augmente l'apolarité



Élimination des goûts de bouchon/moisi et de l'OTA à l'aide d'écorces de levures hautement adsorbantes

de la molécule. Il semblerait que le mécanisme de fixation de ces molécules repose, au moins en partie, sur des adsorptions hydrophobes. Cette hypothèse est renforcée par le niveau d'efficacité moindre vis-à-vis de l'OTA, molécule plus polaire que les anisoles.

Les essais en grands volumes, où la mise en suspension des écorces est moins aisée qu'en laboratoire, notamment en grande cuve, confirment la faisabilité du traitement en cave.

En fonction du niveau de contamination initial du vin, et de la dose de traitement, il est envisageable de diminuer la contamination jusqu'à rendre les vins propres à la consommation et à la commercialisation. Un apport unique de 400 mg/l d'écorces paraît le plus judicieux pour réduire le taux des haloanisoles, tandis qu'un traitement unique à 800 mg/l semble plus indiqué pour éliminer l'OTA.

La littérature rapporte que le niveau d'OTA est susceptible de remonter lorsque le vin reste en contact prolongé de plusieurs semaines avec la biomasse levurienne (Blateyron *et al.*, 2005), en raison de relargage possible du contaminant. Afin de prévenir ce risque, et d'optimiser le résultat du traitement, il est donc conseillé de soutirer le vin dans les jours qui suivent le traitement.

Les résultats globaux indiquent clairement que le traitement aux écorces Extraferm® n'a pas d'impact négatif sur la couleur ou la nuance des vins. Il n'apporte pas non plus de mauvais goûts.

Cette étude a été menée sur un grand nombre de vins, rouges, blancs et vins doux naturels, de deux millésimes. Le nombre de répétitions de ces expérimentations a permis de réaliser des analyses statistiques pour confirmer la validité des résultats obtenus. De plus, l'ensemble des données de laboratoire a été confirmé par des essais en grand volume.

Le procédé de fabrication HALO, mis au point par la société DSM pour les écorces Extraferm®, s'avère performant.

En effet, le pouvoir d'adsorption des écorces DSM permet de détoxifier les vins, en réduisant le taux d'ochratoxine A. Cette propriété constitue également un véritable traitement curatif contre les mauvaises odeurs du type moisi et bouchon, dues aux haloanisoles. Les résultats novateurs de ce programme sont encourageants.

Désormais, afin d'optimiser ces traitements, il serait intéressant d'étudier les meilleures combinaisons mettant en jeu la dose de traitement, le temps de contact, la température et le rythme de remise en suspension des écorces de levures dans le vin. Mais d'ores et déjà, les données de cette étude fournissent aux vinificateurs une solution efficace.

BIBLIOGRAPHIE

- Alvarez-Rodriguez M. L., Lopez-Ocana L., Lopez-Coronado J. M., Rodriguez E., Martinez M., Larriba G., Coque J. R., 2002. Cork taint of wines : role of the filamentous fungi isolated from cork in the formation of 2,4,6-trichloroanisole by O-methylation of 2,4,6-trichlorophenol. *Applied and environmental microbiology*. USA, **68** (12) 5860-5869.
- Bejaoui H., Mathieu F., Taillandier P., Lebrihi A., 2004. OTA removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological saccharomyces strains. *Journal of applied microbiology*, **97**, 1038-1044.
- Blateyron L., Granes D., Julien-Ortiz A., 2005. Impact d'ajouts contrôlés de biomasse levurienne sur la teneur en ochratoxine A. *Revue française d'œnologie*, **215**, 54-56.
- Blateyron L., Michel G., Delteil D., 2001. Maîtrise des contaminants dans les vins : cas de l'OTA. In : 26^e congrès mondial de la vigne et du vin, OIV, Adélaïde.
- Bonnet M.-L., Vuchot P., Riou C., Vidal S., 2005. Impact des alcalins chlorés sur la teneur en 2,4,6-trichlorophénol des vins. *Revue des œnologues*, **116**.
- Chatonnet P., Bonnet S., Boutou S., Labadie M.-D., 2004. Identification and responsibility of 2,4,6-tribromoanisole in musty, corked odors in wine. *J. Agric. Food Chem.*, **52** (5), 1255-1262.
- Dumeau F., Trione D., 2000. Influence de différents traitements sur la concentration en ochratoxine A des vins rouges. *Revue des œnologues* **95**, 37-38.
- Fernandez O., Bajard-Sparrow C., Pellerin P., Lankhorst P., 2005. Arrêts de fermentation, une solution efficace. *Revue des œnologues*, **116**.
- Maujean A., Millery P., 1985. Goût de bouchon - goût de moisi : une confusion bien légitime. Approche de moyens de prévention. *Vigneron Champenois*, Epernay **106**, 133-137.
- Michel G., 2003. Les goûts de bouchon, mise au point. *Revue française d'œnologie*, **202**, 20-22.
- Mirabel M., Beaugard D., Riquier L., Bertrand A., 2006. Traitement des vins moisis, bouchonnés : le point sur la question. *Revue des œnologues*, **119**, 31-33.
- Varga J., Kozakiewicz Z., 2006. OTA in grapes and grape-derived products. *Trends in food science & technology*, **17**, 72-81.