

Effet préventif du chitosane : mythe ou réalité ?

L'effet curatif des spécialités à base de chitosane sur les vins contaminés par *Brettanomyces bruxellensis* est largement prouvé et documenté. Qu'en est-il de sa possible action préventive ? Avec quelle efficacité sur des périodes d'élevage de plus de six mois dans les conditions d'un chai ayant déjà connu des contaminations ? C'est le sujet de l'expérimentation menée par des œnologues du Groupe Enosens.

I. Contexte et objet de l'étude

L'effet curatif des spécialités à base de chitosane sur les vins contaminés par *Brettanomyces bruxellensis* est largement prouvé et documenté. Des études complémentaires ont permis d'identifier une possible action préventive du chitosane sans toutefois en démontrer l'efficacité sur des périodes d'élevage longues (supérieures à 6 mois) dans les conditions du chai où les sources de (re)contamination sont nombreuses.

Une des explications avancées fait le lien avec la fraction la plus fine du chitosane qui, en restant en suspension dans le milieu, inhiberait le développement des levures *B. bruxellensis*. On note par ailleurs que des essais d'entonnage avec du chitosane, à la dose de 4 g/hl de chitosane pur en barriques neuves, mettent en avant l'absence de différence d'efficacité entre les modalités bâton-

nées ou non bâtonnées, ce qui pourrait renforcer l'hypothèse évoquée précédemment.

L'objet de l'expérimentation proposée est de suivre l'évolution des populations de *B. bruxellensis* et de la teneur en phénols volatils sur des lots de vins entonnés pour une période minimum de 10 mois, avec différentes doses de chitosane dans une situation de production à risque (chai ayant connu de nombreuses contaminations en élevage lors des dernières années).

II. Matériel et Méthode

Le **tableau 1** (page 58) présente les paramètres physico-chimiques classiques, la population en levures *B. bruxellensis* (déterminée par PCR quantitative sonde Taqman) et le dosage en phénols volatils (par GC-MS) des 3 lots de vin utilisés pour cette étude.

Les 3 lots de vin sont différents et ont été choisis car ils présentent des niveaux de population de *B. bruxellensis* et des paramètres analytiques différents.

Les teneurs en acide malique sont inférieures à 0,2 g/L dans tous les lots.

Chaque lot de vin a fait l'objet d'un élevage selon les 3 modalités suivantes :

- Témoin non traité
- Chitosane à 2 g/hl aj. (moitié de la dose recommandée par le fournisseur)
- Chitosane à 4 g/hl aj. (dose recommandée par le fournisseur)

À l'entonnage, des groupes de 4 barriques par modalité et par lot ont été constitués. Les barriques utilisées étaient des barriques de deux vins préalablement lavées par nettoyage haute pression à l'eau chaude. La dose de chitosane a été pesée puis ajoutée au vin selon le protocole du fournisseur. La spécialité commerciale employée est constituée de chitosane pur.

Le SO₂ libre a été ajusté entre 25 et 30 mg/l à l'entonnage et maintenu autour de 25 mg/l pendant toute la période d'élevage.

Un suivi mensuel des paramètres suivants a été réalisé : acidité volatile, SO₂ libre/total/actif, phénols volatils et population de *B. bruxellensis* par q-PCR.

III. Résultats

1. De l'efficacité du traitement préventif au chitosane

Voir **Graphique 1** (page 58)

L'observation des concentrations en phénols volatils en fin d'expérimentation permet de donner une indication de l'efficacité du traitement mis en œuvre. Un vin ayant une concentration finale en phénols volatils < 450 µg/l (seuil de perception communément retenu pour les AOC de Gironde) sera considéré comme exempt de défaut.

Le lot C16 est le seul à présenter des concentrations finales en phénols volatils inférieures au seuil de perception pour l'ensemble des modalités. Sur ce lot, les teneurs finales sont très proches des valeurs initiales mesurées à l'entonnage, y compris pour la modalité témoin : on ne peut donc pas attribuer d'effet bénéfique au traitement au chitosane, et on peut même penser que la mise en œuvre de ce traitement était, dans ce cas, superflue.

Pour les autres lots (C14 et C27), que ce soit aux doses de 2 g/hl ou de 4 g/hl, on peut constater que le traitement préventif au chitosane n'a pas permis de maintenir une teneur moyenne en phénols volatils inférieure au seuil de perception.

Dans le détail, si on exclut le lot C16, seules 37 % des barriques traitées à pleine dose ont vu leur teneur en phénols volatils rester sous la barre du seuil de perception, bien qu'elles présentent tout de même une teneur finale conséquente (entre 270 et 382 µg/L). À demi-dose, l'efficacité du traitement n'est plus que de 12 %.

Dans le cadre de cette expérimentation, la mise en place d'un traitement préventif au

Tableau 1 - Paramètres analytiques initiaux des vins étudiés.

Lot	TAV (% vol.)	GF (g/l)	AT (g/l H ₂ SO ₄)	AV (g/l H ₂ SO ₄)	pH	SO ₂ L (mg/l)	SO ₂ a (mg/l)	SO ₂ T (mg/l)	DO280	4-EP (µg/l)	4-EG (µg/l)	Population de <i>B. bruxellensis</i> (UFC/ml)
C14	12,96	1,2	3,25	0,65	3,80	22	0,33	47	75	151	15	175
C16	14,36	0,3	3,04	0,49	3,72	23	0,45	75	69	28	10	1529
C27	13,71	1,5	3,22	0,36	3,61	28	0,68	60	70	< 26	9	7

chitosane n'apparaît pas comme une solution suffisamment efficace car il conduit à traiter des lots qui n'auraient pas présenté de déviation organoleptique finale et ne permet pas de protéger efficacement les autres lots.

Le **tableau 2** montre deux exemples de lots qui illustrent bien l'hétérogénéité possible dans le niveau de l'intensité de contamination pour un même vin contenu dans des logements proches mais différents. En effet, sur le lot C27-T, les 2 barriques les plus altérées présentent des concentrations en phénols volatils environ 40 % supérieures aux 2 barriques les moins altérées. On peut également observer le même type de comportement sur les barriques du lot C14 traitées à 4 g/hl de chitosane avec un écart proche 30 %. Ces observations permettent de rappeler, s'il le fallait, la nécessité d'effectuer un échantillonnage le plus exhaustif et représentatif possible afin de donner une image précise de la réalité. Il n'est pas possible d'extrapoler un résultat sur un en-

semble de contenants même pour un lot de vin à l'origine homogène et stocké dans des conditions similaires.

2. Autres résultats

a) Notion de risque

La démocratisation des outils de détection microbiologique a conduit de nombreux vinificateurs à baser leur stratégie de contrôle sur ce type d'analyse. Bien que ce type d'outil conserve un intérêt certain dans de fréquentes situations, cette expérimentation permet d'affirmer que le dénombrement précoce des levures *B. bruxellensis* ne constitue pas, à lui seul, un outil suffisant pour gérer le risque de déviation.

En effet, si l'on compare la population initiale sur cuve des 3 lots de vins et leur concentration finale en phénols volatils, on s'aperçoit qu'il n'y a pas de lien direct. On observe même que c'est le lot présentant la population initiale la plus élevée (lot C16) et

dont le niveau de risque associé pourrait être considéré comme très important, qui n'a pas présenté de déviation.

L'étude des paramètres physico-chimiques classiques (**Tableau 1**) fait par ailleurs ressortir un lien fort entre la présence d'une faible quantité de sucres résiduels et le risque de déviation au cours de l'élevage. Ainsi, le lot C16 qui présentait une quantité initiale de 0,3 g/l de glucose/fructose n'a pas dévié, alors que les lots C27 et C14 qui contenaient respectivement 1,5 et 1,2 g/l de glucose/fructose ont dévié.

L'étude fine de la dynamique de contamination permet également de mettre en avant le rôle clef de la température du vin. En effet, bien que nous n'ayons pas mesuré ce paramètre au cours de cette étude, on s'aperçoit que la phase active de contamination a débuté dans la moitié des cas entre les prélèvements du 18/07 et du 18/08. Or, le chai dans lequel nous avons effectué ces essais, bien que relativement bien isolé, ne possède pas de climatisation ou de système de contrôle de la température. On peut donc penser que les conditions de températures ont pu redevenir favorables au cours de la saison estivale et permettre le développement des micro-organismes.

b) Quelle stratégie de suivi choisir ?

Comme nous avons pu le voir, la mise en place d'une protection précoce des vins par le chitosane ne semble pas être une solution suffisante pour se prémunir d'une possible déviation. Nous avons également pu observer que la notion de risque n'était pas facile à appréhender; en effet, celle-ci est multifactorielle et dépend de nombreux paramètres qui ne sont pas facilement hiérarchisables.

Il apparaît dès lors que **le suivi régulier des vins, par l'analyse ou la dégustation, est une voie incontournable pour se prémunir de possibles déviations organoleptiques par *B. bruxellensis***. Cette étude expérimentale nous permet aujourd'hui d'apporter un nouvel éclairage sur la pertinence des paramètres analytiques mis à disposition du vinificateur. En effet, il est possible de détecter directement la présence de *B. bruxellensis* par l'analyse microbiologique comme la q-PCR par exemple, ou de doser la concentration en phénols volatils du vin. Ces dosages, aujourd'hui bien connus et précis, sont pertinents sur des problématiques ponctuelles, mais qu'en est-il de leur efficacité dans le cadre d'un suivi préventif au cours du temps ?

Cette étude nous permet d'observer que le suivi microbiologique utilisé seul conduit, dans cette expérimentation, aux interprétations suivantes:

Graphique 1 : Évolution de la teneur moyenne en phénols volatils (E4P + E4G) en µg/L en fonction du temps

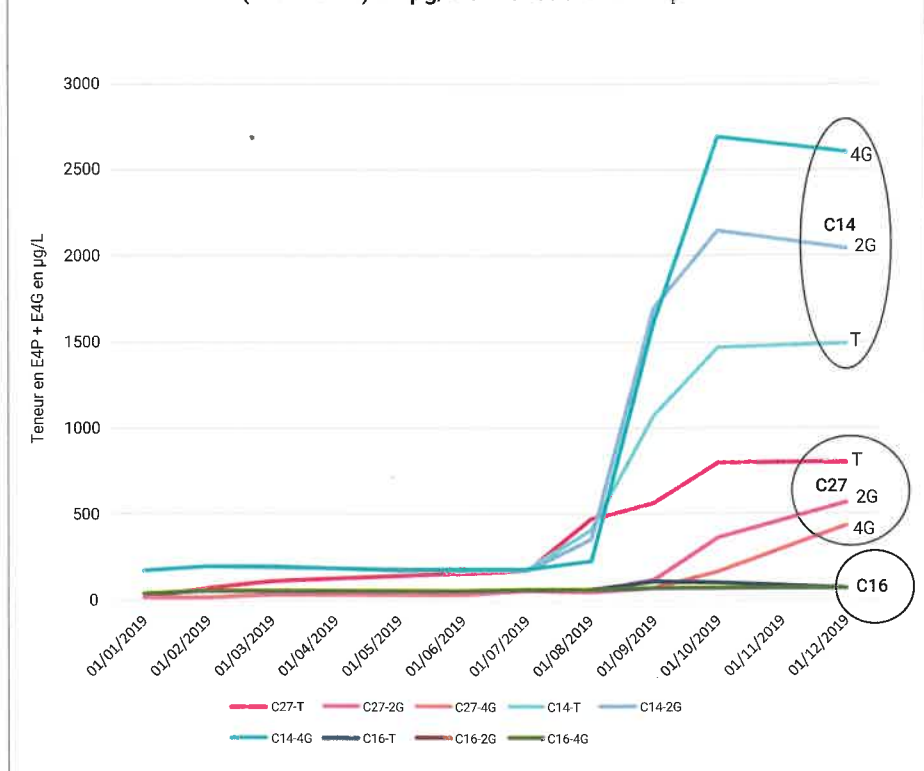


Tableau 2 : Teneur finale en phénols volatils totaux (E4P + E4G) en µg/L de 2 lots de 4 barriques

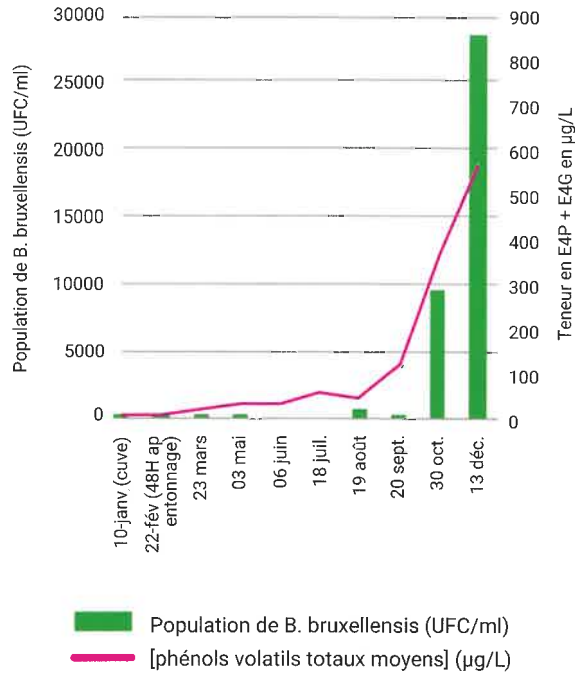
Lot	27-BQ1 T	27-BQ2 T	27-BQ3 T	27-BQ4 T	14-BQ1 4G	14-BQ2 4G	14-BQ3 4G	14-BQ4 4G
E4P + E4G (µg/L)	684	922	949	667	2 578	2 210	2 750	2 860

Dans un tiers des cas (3 modalités sur 9), il permet de détecter une attaque ayant entraîné une déviation finale significative avant que la concentration moyenne en phénols volatils du vin ne dépasse le seuil de perception moyen de 450 µg/l (voir exemple **Graphique 2**).

Dans un tiers des cas, une attaque ayant entraîné une déviation finale est détectée mais seulement après que la concentration en phénols volatils du vin ait dépassé le seuil de perception moyen de 450 µg/l. Autrement dit, malgré un suivi microbiologique régulier, ces lots de vin doivent faire l'objet d'un traitement curatif suite à une déviation organoleptique significative (voir exemple **Graphique 3**).

Dans un tiers des cas, on observe une augmentation de la population dont la présence n'engendre pas d'impact finale sur la qualité des vins. Ce type de « faux positif » est problématique car il peut conduire le vinificateur à adopter des techniques curatives de manière non justifiée, impactant ainsi de manière négative la qualité du vin (voir exemple **Graphique 4**).

**Graph 2 : Exemple de suivi :
modalité C27-2G (moyenne des 4 barriques)**



POMPES ASPICE **ENOPHILES**

technologie volumétrique du double piston à mouvement elliptique alterné

SIII EVO **PREMIUM**

COMMANDES ET PROGRAMMATION SUR ÉCRAN TACTILE



SIII EVO

COMMANDES MANUELLES

ERGONOMIE
ASEPSIE RENFORCÉE
VIDANGES FACILES
SILENCE
SANS RETOURS INTERNES
DE -50°C À 130°C

SIII EVO **PREMIUM**
modèle 50

hl/h

7
280

DÉBIT
VARIABLE

pompes-aspice-pichonneau.com

MODÈLES MINI - MAJOR - 50 À MOTEURS ÉCORESPONSABLES / STRUCTURE AUTO-PORTEUSE ERGONOMIQUE EN PROFILÉS D'INOX / CORPS DE POMPE INOX INJECTÉ HP 316L / RADIOTÉLÉCOMMANDE TOUTES FONCTIONS /

Pompes Aspice

LE RESPECT DU VIN

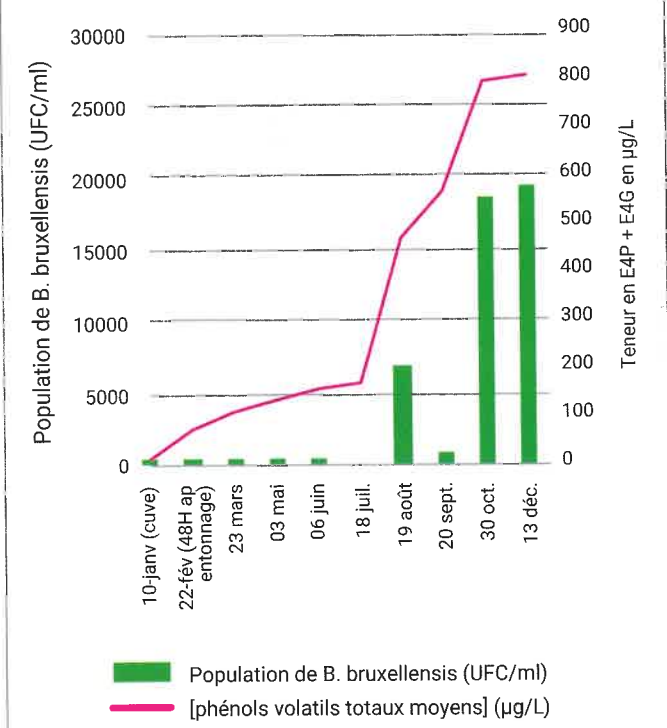
SANS
PHTALATES
NI BISPHÉNOLS
NATIFS

05 45 32 10 66 - **PICHONNEAU SAS**
CONSTRUCTEURS À COGNAC

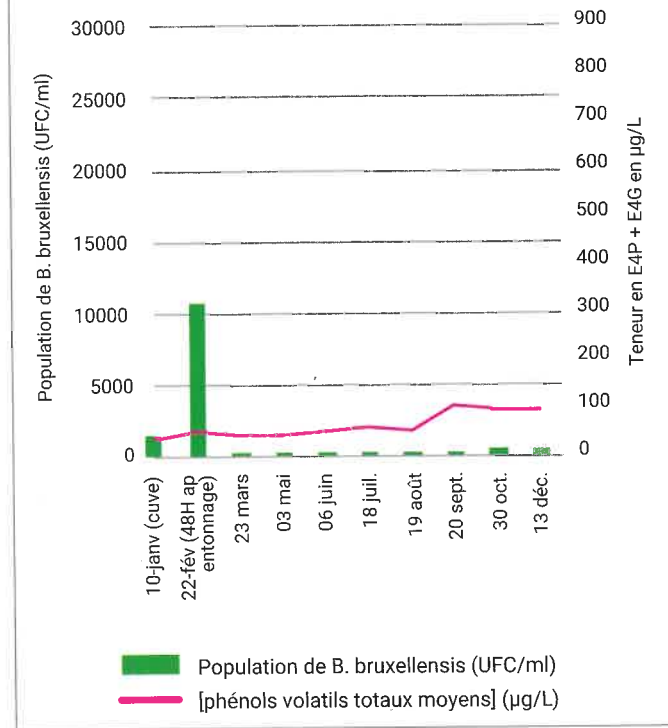
DEPUIS 1950 PARTENAIRE DES PROFESSIONS VINICOLES



**Graph 3 : Exemple de suivi :
modalité C27-T (moyenne des 4 barriques)**



**Graph 4 : Exemple de suivi :
modalité C16-T (moyenne des 4 barriques)**



Par ces 3 exemples, on voit que le suivi microbiologique seul n'apparaît pas pertinent, car il n'est efficace que dans un tiers des situations.

Sur l'ensemble des résultats, le suivi mensuel des concentrations en phénols volatils apparaît dans cette étude nettement plus efficace. En effet, il conduit aux interprétations suivantes :

- Dans 6 cas sur 9, il permet de détecter une attaque ayant entraîné une déviation finale avant que la concentration en phénols volatils du vin ne dépasse le seuil de perception moyen de 450 µg/l.
- Dans 2 cas sur 9, il permet de s'assurer de la stabilité du lot.
- Dans 1 cas sur 9, l'augmentation de la concentration en phénols volatils semble indiquer un début d'attaque au 20/09. Or, on observe que la concentration finale du lot est faible. On se retrouve ici à nouveau dans un cas de « *faux positif* » pouvant conduire le vinificateur à adopter des techniques curatives sur des vins n'en ayant pas besoin.

Dans le cadre de cette expérimentation, le suivi des concentrations en phénols volatils prouve son efficacité dans 88 % des cas.

Il faut noter que le suivi simultané des populations de *B. bruxellensis* et de la concentration en phénols volatils ne permet pas d'obtenir un niveau d'efficacité supérieur au suivi des concentrations en phénols volatils seul, car il ne permet pas d'éviter le cas du

« *faux positif* » de la modalité C16-T. Compte tenu du coût des analyses, ce suivi concomitant est également moins efficace que le suivi par dosage des phénols volatils.

IV. Conclusion

La problématique de l'altération des vins par le développement de *B. bruxellensis* est plus que jamais une préoccupation première pour nombre de vinificateurs. Elle met en jeu des mécanismes et des facteurs de risques complexes qui sont encore difficiles à appréhender et à maîtriser (sucres résiduels, SO₂ actif, efficacité du chitosane en fonction du pH, température, durée de rémanence du produit...).

La mise en œuvre d'un traitement préventif, bien que séduisante pour l'utilisateur, n'a pas démontré son efficacité au cours de notre suivi.

Le dosage régulier des phénols volatils apparaît comme l'approche la plus efficace avec une efficacité proche de 90 %. Elle présente l'avantage d'être fiable, rapide, moins onéreuse et permet au vinificateur de n'intervenir que dans les cas où un début de déviation est observé. Par analogie, on dose régulièrement l'acide acétique au cours de l'élevage et on ne fait que rarement le comptage des bactéries acétiques, qui s'avèreraient indénombrables dans de nombreux cas.

Dans une approche pratique, et dans une optique d'optimisation, il est préconisé d'espacer les prélèvements au maximum de 4 semaines dans les périodes à risque (de début juin à fin octobre) et de ne pas dépasser 6 semaines de novembre à fin mai.

Pour les lots élevés en barriques, il est recommandé de constituer un échantillon moyen par type de cuvée et par lot de barriques. Par analogie, les vins élevés en cuves pourront être suivis en constituant un échantillon moyen par lot d'assemblage, en se laissant la possibilité de réaliser un échantillonnage plus précis en cas de variation de la concentration en phénols volatils afin de mieux identifier le ou les contenants à traiter.

Enfin, il ne faut pas perdre de vue que **l'approche microbiologique reste pertinente à certains stades de l'élaboration**, notamment juste avant la mise en bouteille ou la vérification de l'absence de *B. bruxellensis* permettra de garantir au consommateur un niveau de qualité de conservation.

Le réseau *Enosens* est expert depuis onze ans dans la quantification des phénols volatils et des populations de *B. bruxellensis* afin d'assurer un suivi pertinent, fiable et économiquement viable de vos vins.