



# FLASH INFO



Boutou Stéphane - sboutou@labexcell.com  
Renouf Vincent - vrenouf@labexcell.com

## ***Le Laboratoire EXCELL en 2021 : 3 informations clefs en ce premier trimestre !***

Une mission essentielle de notre métier d'analystes est de pouvoir concentrer les innovations techniques afin d'établir des analyses permettant d'identifier et de solutionner des problématiques de terrain. En guise de bilan de ce premier trimestre 2021, vous trouverez dans cet écrit trois illustrations de ces travaux, la première concerne un aspect microbiologique, la deuxième concerne l'analyse des résidus de pesticides et la dernière la problématique de la filtrabilité et de la stabilité colloïdale des vins.

### ***Lactobacillus hilgardii : un intrus enfin démasqué !***

L'inexorable baisse des niveaux de SO<sub>2</sub> dans les vins, associée à d'autres facteurs (l'élévation des pH...), concourent à de nombreux dérèglements microbiologiques. Depuis quelques temps, de nombreux partenaires des vignobles les plus méridionaux nous alertent sur des montées surprenantes de caractères « lactiques » dans les vins.

Pour comprendre la problématique, nous avons utilisé des techniques de séquençage combinées à des techniques d'isolements et d'observations plus classiques (milieux gélosés, microscopie). Les résultats ont été sans appel : dans près de 80% des cas, la bactérie identifiée est l'espèce *Lactobacillus hilgardii*. Cette espèce fait partie de la catégorie des bactéries lactiques hétérofermentaires ; cela signifie qu'en utilisant des hexoses, elle produit à la fois de l'acide lactique et de l'acide acétique. Les travaux de référence du professeur Aline Lonvaud Funel sur les bactéries du vin ont permis de bien décrire cette espèce. Ces caractéristiques sont :

- Une forte résistance aux degrés alcooliques élevés : les *Lactobacillus hilgardii* sont fréquemment décrites lors de problématiques de stabilité microbienne des vins de liqueur et des mistelles avec pour conséquence une hausse de l'acidité volatile de ces produits.

- La capacité de dégrader le glycérol (voie de la glycérol déshydratase) aboutissant parfois à la maladie dite de l'amertume que le dosage de l'acroléine permet d'attester (quelques  $\mu\text{g/L}$  d'acroléine suffisent).

- La capacité de produire de façon significative les composés impliqués dans les goûts de souris notamment lorsqu'il subsiste des traces de fructose non dégradées par les levures (ce qui est fréquemment le cas lorsque la fin de la fermentation alcoolique a été chaotique et lorsque le TAV est relativement élevé).

- La capacité à former des troubles relativement conséquents dans les vins du fait d'une capsule pariétale vraisemblablement riche en polysaccharides entraînant aussi fréquemment des problèmes de filtrabilité.

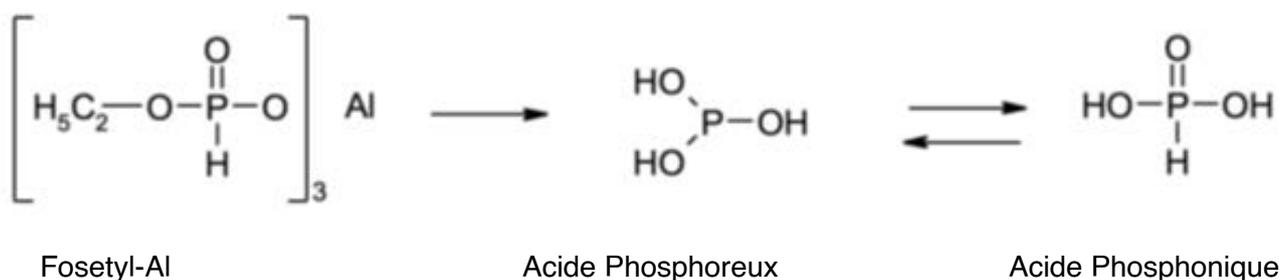
- L'incapacité (ouf, il en faut bien une) à utiliser l'acide citrique.

Au laboratoire et en caves, nous avons mené de nombreux essais pour contrecarrer la présence de ces bactéries. Sans surprise, le  $\text{SO}_2$  est un moyen possible mais il faut généralement monter à des niveaux très élevés de  $\text{SO}_2$  moléculaire ( $> 0,8 \text{ mg/L}$ ) ce qui est évidemment difficilement réaliste aux pH actuels des vins. Le lysozyme fonctionne relativement bien mais à doses élevées (30 g/hL). Il peut aussi être efficacement associé au chitosane qui seul ne suffit pas. Les températures basses ne suffisent pas non plus à freiner le développement de ces bactéries (dans certains vins même à  $4^\circ\text{C}$  nous avons observé une hausse des populations). A l'inverse, des traitements thermiques à hautes températures semblent relativement efficaces. Du fait du dernier point évoqué lors de l'itération ci-dessus, les filtrations sont généralement moins efficaces. Finalement, la prévention est très certainement la meilleure voie pour éviter le développement de ces bactéries. Pour cela une gestion des flores lors des phases pré-fermentaires est certainement la piste la plus probante et notamment la concurrence entre flores par bio-protection. Plus en aval, nous avons également constaté qu'une fois la FML achevée, la mise en place d'une étape de clarification précoce (passage au froid ou léger collage associé à un soutirage assurant une sévère séparation des différentes fractions : lies, « vin de dessus lies » et vin) limitait les développements à venir, les bactéries se retrouvant préférentiellement dans les fractions les plus troubles.

## **L'acide phosphoreux, aussi à d'autres égards peut avoir des origines surprenantes...**

Les résidus de pesticides dans les vins font l'objet d'une attention toujours plus précise de tous les intervenants de la filière viti-vinicole.

Un exemple très singulier de l'accompagnement que peut proposer le laboratoire porte sur les résidus d'acide phosphoreux, métabolite du Fosetyl d'Aluminium (molécule de synthèse), un fongicide largement employé au vignoble pour lutter contre le mildiou notamment, qui se dégrade rapidement en acide phosphoreux.



L'acide phosphoreux ( $P(OH)_3$ ) est un acide en équilibre tautomérique avec l'acide phosphonique ( $HPO(OH)_2$ ), ces deux formes étant indissociable analytiquement. Cet équilibre est en faveur de la forme phosphonique, mais le terme « acide phosphoreux » sera couramment employé dans la littérature pour le mélange tautomérique d'acide phosphoreux et d'acide phosphonique. Il ne faut pas confondre ces acides avec l'acide phosphorique ( $H_3PO_4$ ), additif utilisé notamment dans l'industrie agroalimentaire (E338) pour contrôler le pH de certains sodas, et complètement différencié analytiquement de l'acide phosphoreux.

L'acide phosphoreux est un métabolite (produit de dégradation) du fosétyl-Al, la réglementation Européenne demandant le dosage de ces molécules pour exprimer le résidu de fosétyl. Mais l'acide phosphoreux peut aussi avoir d'autres origines.

Ces dernières années, la présence d'acide phosphoreux dans des vins issus de raisins n'ayant jamais été traités avec du fosétyl a pu être associée à l'usage de phosphites ou phosphonates au vignoble ou encore, dans des vins, à la suite de l'usage de phosphate de diammonium (DAP) comme nutrition azotée lors du levurage. Cependant, certains résidus d'acide phosphoreux restaient inexplicables.

Outre les problématiques d'une contamination environnementale, du temps nécessaire à l'élimination des résidus d'acide phosphoreux par le vignoble, une première piste d'explication a été identifiée et cible les amendements issus de la valorisation de produits dont la filière maîtrise insuffisamment les résidus d'acides phosphoreux.

Nos investigations nous ont aussi permis de comprendre certaines autres pollutions de vins. Le laboratoire est intervenu tout au long du processus de la cave, en analysant des raisins, du moût et le vin en cours d'élevage après différentes interventions. Cette démarche nous a permis d'identifier la présence de résidus d'acide phosphoreux à un certain moment dans le vin alors que celui-ci ne contenait ni fosétyl ni acide phosphoreux précédemment. Cette présence d'acide phosphoreux dans le vin a été associée à l'usage de produits de nettoyage ou détergents utilisés couramment à la cave pour la désinfection.

En effet, les dosages d'acide phosphoreux dans ces différents produits nous ont permis de quantifier des niveaux très significatifs pour certains d'entre eux :

	<b>Acide Phosphoreux en mg/kg</b>
<b>Produit désinfectant A</b>	120,0
<b>Produit désinfectant B</b>	Non Détecté
<b>Détergent C</b>	0,9
<b>Détergent D</b>	0,4

Pour le produit désinfectant A à base de peroxyde d'hydrogène et d'acide peracétique, la présence dans la Fiche de Données de Sécurité (FDS) d'agent chélatant diphosphonique inhibiteur de la corrosion pouvait alerter sur un risque de présence d'acide phosphoreux (comme produit de dégradation ou impureté de synthèse), ce qui a été confirmé par l'analyse. Pour les autres produits analysés, rien ne laissait présager d'une éventuelle présence d'acide phosphoreux dans ces produits à base de soude, de potasse ou de peroxyde d'hydrogène (aucune mention dans la FDS, pas de « constituant douteux ») mais nous avons pourtant quantifié de l'acide phosphoreux de manière significative dans deux d'entre eux (produit C et D).

L'impact de l'utilisation de ces produits dans la cave n'est pas neutre car nous avons quantifié des augmentations de quelques centaines de  $\mu\text{g/L}$  d'acide phosphoreux dans les vins ayant été exposés à ce type de produits. La multiplication de l'usage de désinfectant ou détergent en oenologie pour maîtriser certains microorganismes d'altération, *Brettanomyces* en tête, avec des volumes importants (par exemple, tuyaux laissés en contact prolongé avec un désinfectant entre deux utilisations), associé à la difficulté de rinçage de certains de ces matériaux traités (poreux, difficile d'accès...), peut aussi expliquer la contamination des vins par l'acide phosphoreux. Il convient donc de choisir méticuleusement les produits utilisés pour réduire les risques de contamination du vin.

## Le dosage des pectines : un long projet enfin abouti !

Les pectines sont des complexes de sucres et d'acides qui forment une substance colloïdale naturellement présente dans les raisins, les moûts et les vins. Leur caractère gélifiant (bien connu en agro-alimentaire) est très contraignant pour la clarification des moûts (débouillage) et des vins (filtrabilité). Mais sa présence à l'état de traces est reconnue par certains dégustateurs comme un élément important de l'appréciation gustative des vins.

Un test de présence par précipitation à l'alcool est bien connu dans les laboratoires d'œnologie mais il n'est pas véritablement spécifique et surtout synonyme de « tout ou rien » ne pouvant pas aiguiller vers un pilotage précis de la problématique. Afin de gagner en précision nous avons développé un test rapide et précis de quantification des pectines en chromatographie ionique visant à doser l'acide galacturonique, un constituant clef des pectines. Selon un certain mode opératoire (protocole interne), nous dosons précisément les teneurs en pectines que nous exprimons en pectines hydrolysables en équivalent d'acide galacturonique. Ci-dessous, un tableau présentant des vins avec des faibles valeurs et d'autres avec des valeurs que nous pouvons considérer comme critiques pour l'état de stabilité colloïdale des vins.

*Tableau d'exemples de résultats de dosage des pectines sur différents vins rouges du millésime 2019 (dosages réalisés en mars 2021). Les valeurs notées en rouge témoignent de teneurs élevées en pectines synonymes de problèmes de filtrabilité et/ou d'instabilité de la matière colloïdale.*

VIN	Pectines hydrolysables (eq. Acide galacturonique mg/L)
21111920	61
21112848	5
21109970	269
21110717	296
21109973	272
21112849	79
21109971	209
21111919	12
21110339	213
21109969	247
21109972	234

Ce dosage inédit au laboratoire ouvre une nouvelle voie dans la gestion des phases de clarification préfermentaire (enzymage, débouillage statique ou dynamique comme la flottation...) mais constitue également un remarquable outil d'anticipation des problèmes de filtrabilité et d'instabilité colloïdale.