

ACQUISITIONS RECENTES SUR OCHRATOXINE A

Lucile Blateyron, Eric Bontemps, Daniel Granès, Jacques Rousseau

Institut Coopératif du vin, La Jasse de Maurin
34970 LATTES
www.icv.fr, Contact : icv@icv.fr

Article issu du Flash Info Vendanges spécial Entreprises de mai 2006

Rappel réglementaire sur la teneur en OTA

La teneur en ochratoxine A des vins rouge, blanc ou rosé, mis à la commercialisation est limitée à 2 µg/kg (RCE 123/05). Cette disposition s'applique pour les vins issus des vendanges 2005 et suivantes, elle ne s'applique pas aux vins de liqueur ni aux vins ayant un titre alcoométrique volumique minimal de 15 %.

Les facteurs viticoles sont déterminants sur la teneur en OTA

1. L'OTA est une mycotoxine, produit du métabolisme de champignons parasites secondaires du type *Aspergillus* (*Aspergillus carbonarius* principalement).
2. Plus les pellicules des baies sont fragilisées et blessées (vers de la grappe, Botrytis, grêle,...) plus les risques sont élevés.
3. Plus on est proche de la mer, plus le risque est important. Attention toutefois : la maîtrise des vers de la grappe reste le principal facteur de risque; on peut trouver des vins contaminés dans des vignobles éloignés de la mer, et des vins sains à proximité.

Facteurs oenologiques qui influent sur la production d'OTA :

La production d'OTA et sa libération dans le moût ont lieu dès les premières étapes de vinification (premières heures).

Données récentes sur le rôle des conditions de température sur la production et la libération d'OTA dans le moût

Les travaux les plus récents menés en laboratoire démontrent que la production de l'OTA dans les moûts par les spores d'*Aspergillus* a lieu en quelques heures (<10 heures). Cette production est stimulée par les faibles teneurs en éthanol (<2%). La température joue elle aussi un rôle capital sur le métabolisme de ces champignons : alors que la croissance est optimale entre 25 et 35°C, la production d'OTA est elle maximale entre 15 et 20°C (Esteban et al, 2005; Mitchell et al, 2004).

Ces données récentes laissent penser que les premières étapes de vinification (notamment la température) jouent un rôle capital sur la teneur en OTA des vins. La récolte de raisins entre 25 et 35°C, suivi de macérations de quelques heures à température plus basse (15 à 20°C) favoriserait la production d'OTA.

Pas d'effet net du traitement par thermovinification

Des suivis sur chaînes de thermovinification réalisés en 2002 par l'ICV ont montré que le traitement des raisins par cette technique n'avait pas d'influence nette sur la teneur en OTA des jus obtenus.

Des résultats obtenus depuis en laboratoire ont confirmé l'absence d'impact des températures très élevées appliquées à la vendange sur la teneur en OTA des jus.

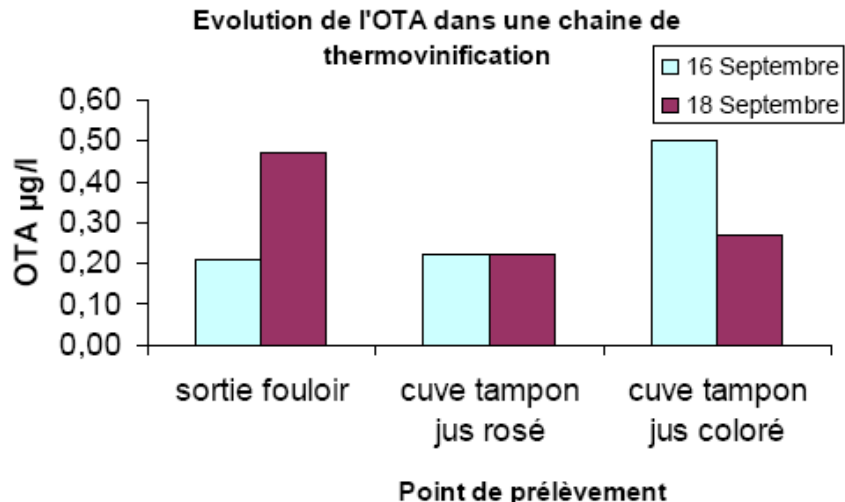


Figure 1 : Evolution de l'OTA dans une chaîne de thermovinification

Evolution spontanée en cours de vinification et d'élevage: Baisse naturelle de l'OTA en vinification et pendant l'élevage

L'Ochratoxine A apparaît dès les premiers jours de la cuvaison. Après foulage, la teneur en Ochratoxine A augmente rapidement et atteint en 4 à 6 jours un maximum. Globalement la teneur en Ochratoxine A diminue ensuite, sur les macérations courtes comme sur les macérations longues y compris après la mise en bouteille.

A la cave expérimentale de l'ICV on a pu observer des baisses de 20 à 40 % entre la fin des fermentations et la mise en bouteille en 2 à 3 mois. Ces pertes peuvent atteindre 70% après 1 an de stockage des vins.

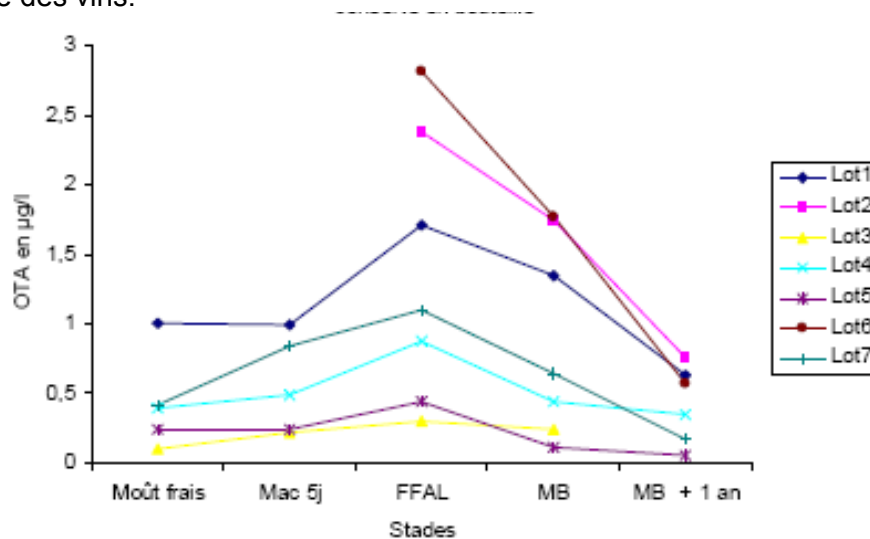


Figure 2 : Evolution naturelle de la teneur en OTA sur 7 lots entre le moût et le vin conservé en bouteille. (Mac5J = Macération 5 jours, FFAL= Fin de Fermentation Alcoolique, MB = Mise en Bouteille)

Deux phénomènes possibles pour expliquer la baisse naturelle de la teneur en OTA

Deux phénomènes peuvent intervenir pour participer à la diminution spontanée de la teneur en OTA des vins, que ce soit en cours de vinification ou pendant l'élevage

1. L'Ochratoxine A est entraînée avec les dépôts de couleur et les lies.
2. L'Ochratoxine A est probablement adsorbée sur les parois des levures (et des bactéries), et ainsi partiellement éliminée avec les soutirages et les mises au propre.

Dès 2002, nous avons mis en évidence sur les vins de la cave expérimentale de l'ICV qu'une partie plus ou moins importante de l'OTA qui avait disparu de la masse du vin se retrouvait dans les dépôts (tartre+polyphénols) qui se formaient au cours du stockage.

Vin	Teneur initiale du vin en OTA en µg/l	Teneur en OTA du vin après 1 an en µg/l	% pertes retrouvées dans dépôt
Vin1	0,68	0,31	83%
Vin2	5,74	4,48	84%
Vin3	0,11	0,06	43%

Il n'est donc pas indispensable d'allonger ou de réduire la durée de la macération en vinification en rouge afin de maîtriser la teneur en OTA des vins à condition de prévoir un élevage suffisamment long. En effet les pertes naturelles peuvent se produire aussi bien pendant la fin de la macération qu'au cours de l'élevage, à travers l'élimination des lies et les chutes naturelles de couleur et de tartre qui se produisent en général pendant l'hiver.

Une baisse naturelle de la teneur en OTA en vinification et en élevage difficilement prévisible

Du fait des phénomènes mis en jeu et de même que l'on ne sait pas à ce jour prédire correctement la stabilité de la couleur d'un vin, il paraît difficile de déterminer a priori les pertes spontanées du vin en OTA.

Les facteurs qui semblent rentrer en compte sont :

1. La richesse en OTA : plus les vins sont riches, plus les quantités d'OTA perdues semblent importantes
2. La stabilité de la couleur : dans un essai réalisé en 2004, nous avons observé des pertes d'OTA de 15 µg/l (21 à 6 µg/l) entre le vin en cours de macération et le vin à l'embouteillage alors que dans le même temps, l'intensité colorante a chuté de 10 points (14 à 4).
3. L'importance des lies en suspension : une partie importante de l'OTA serait fixée sur les matières en suspension, et semblerait donc éliminée en même temps qu'elles.

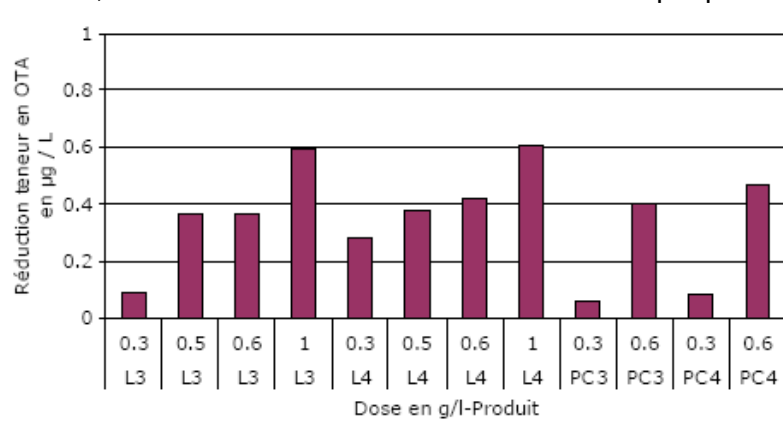


Figure 3 : Effet du maintien dur biomasse levurienne – 2004. Témoin : 2,05 µg/L. Durée 15 à 20 jour. Essai ICV R&D

La participation de la biomasse levurienne dans l'élimination d'une partie de l'OTA des vins a été démontrée par plusieurs équipes et notamment par des essais conduits en 2003 et 2004 à la R&D de l'ICV.

Les résultats obtenus par l'équipe du laboratoire du Génie Chimique de l'Université de Toulouse (Bejaoui et al.) et publiés dans le "Journal of applied microbiology" confirment les résultats ICV.

- L'ICV a travaillé sur 2 vins naturellement riches en OTA (autour de 2 µg / L) avec bâtonnage quotidien pendant une semaine, après l'ajout de levures (L3 et L4) à des doses élevées en 2003 (100 à 500 g / hL) et plus "habituelles" en 2004 (30 à 100 g / hL). Après 2 à 3 semaines, l'OTA a été redosée. En parallèle nous avons aussi mesuré l'efficacité du traitement avec des levures sèches inactivées (PC 3 et PC 4). En 2003, un second dosage a eu lieu après 4 mois de contact.

- L'Université de Toulouse a travaillé soit sur des milieux synthétiques donc artificiellement enrichis en OTA (2 µg / L), soit sur des jus naturellement contaminé à 10 µg / L avec une levure ajoutée soit sous forme de levure réhydratée, soit ayant préalablement été lysée. Dans leurs essais tout a été conduit à 30°C avec agitation permanente.

Le mécanisme de "disparition" de l'OTA semble être une adsorption puisqu'on ne mesure pas de sous-produits et qu'après un certain temps (sic), de l'ordre de plusieurs semaines, on voit remonter les teneurs en OTA, signe d'un probable relargage par les levures.

S'il n'y a qu'un enseignement à retenir c'est le suivant : l'addition de levures non réhydratées (LSA) ou inactivées (LSI) sur un vin fini ou un jus de raisin naturellement riche en OTA a un effet positif sur la diminution de la teneur en OTA.

Quelques pistes récentes de traitements permettant d'abaisser la teneur en OTA

Prélèvements des cuves : pas de risque de mauvaise représentativité

Les essais réalisés par les oenologues ICV confirment que, sauf à prélever juste au dessus des lies, il n'y a pas de différences entre un prélèvement fait en haut, au milieu ou vers le bas de la cuve.

La baisse de valeur des prélèvements juste au – dessus des lies est logique par rapport aux résultats que nous avons obtenus en traitant les vins avec des LSA ou des LSI.

Possibilité de vérifier l'efficacité des traitements curatifs en petit volume

Les essais réalisés au laboratoire (en petit volume : 1 litre) permettent assez bien de prédire ce qui se passera en cave. Cela permet de sélectionner les traitements les plus adaptés mais il est contraint à : garder toujours un témoin non traité, ne pas filtrer les vins obtenus et multiplier les analyses d'OTA. L'utilisation de l'Indice OTA, peut être un bon indicateur pour déterminer les traitements à privilégier.

La filtration : des résultats très irréguliers

De nombreux essais de filtration ont été réalisés avec des résultats très variables mais parfois très intéressants : jusqu'à -2 µg/l. L'irrégularité des résultats laisse supposer qu'il s'agit ici encore d'un phénomène d'adsorption. Dans ce type de phénomène au moins 4 paramètres jouent sur le résultat final : la concentration initiale du vin, la surface de contact vin – média filtrant, l'affinité de ce média pour l'OTA et la vitesse de filtration. Un vin peu concentré qui passerait rapidement sur une faible surface filtrante, ayant peu d'affinité pour l'OTA verrait sa teneur quasi inchangée. A l'inverse un vin concentré qui passerait lentement sur une surface

filtrante importante, ayant une forte affinité pour l'OTA verrait sa teneur nettement baisser. On ne peut donc pas modéliser à ce jour l'efficacité de la filtration.

Les morceaux de bois de chêne: accélèrent les pertes naturelles

Des essais conduits à la cave expérimentale avec addition de copeaux sur un vin à teneur initiale autour de 3,5 µg / L d'OTA montrent que :

- Après 3 mois de contact aucune différence entre le témoin non traité et les vins additionnés de copeaux : tous ont perdu 2,5 µg / L d'OTA
- Sur le court terme (15 jours) les copeaux accélèrent significativement la baisse d'OTA avec des chutes de 0,25 µg / L à 0,75 µg / L d'OTA. Le bois toasté est environ 1,5 fois plus efficace que le bois frais (à dose égale).
- L'effet dose est linéaire sur le premier mois : 5 g / L de copeaux font baisser la teneur en OTA 2 fois plus que 2,5 g / L (même chauffe, même lot)

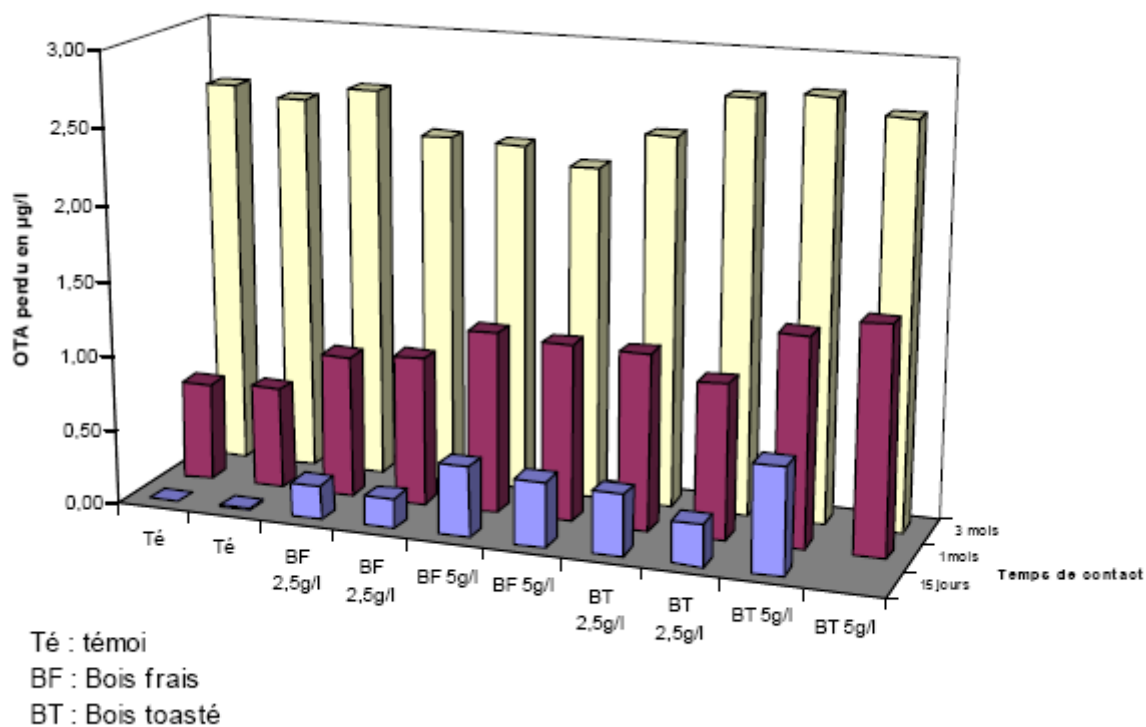


Figure 4 : Quantité d'OTA perdue par rapport à T0

Rappel réglementaire : Le règlement européen RCE2165-2005 autorise les morceaux de bois de chêne sur vin.

Ainsi, les copeaux ne se justifient pour abaisser la teneur en OTA des vins que dans certaines circonstances : avoir un marché rémunérateur, être proche des valeurs limites, être pressé et avoir un marché pour des vins boisés.

Les lies : une technique efficace

Bien que l'efficacité des levures sèches inactivées soit acquise, leur coût peut limiter leur emploi. Des essais avec des lies fraîches ont été réalisés par des oenologues ICV. Après 8 jours de contact et avec des ajouts de 5%, on élimine 0,6 à 1 µg / L d'OTA par rapport au témoin. Il est recommandé d'effectuer un batonnage régulier (par exemple à l'azote, tous les 2 jours).

Les lies de blanc semblent aussi efficaces que les lies de rouge. Attention cependant aux impacts organoleptiques.

Comme il a été démontré que les lies relarguent au fur et à mesure de l'autolyse, il ne faut pas laisser des temps de contact trop longs (plus d'un mois) et il faut éviter de travailler avec des lies trop vieilles, susceptibles d'avoir débuté leur autolyse. En outre, étant donné que les lies absorbent l'OTA dès les étapes fermentaires, il faut utiliser des lies issues de vins dépourvus d'OTA. Enfin, il faudra s'assurer que ces lies ne sont pas une source potentielle de contamination en germes d'altérations type *Brettanomyces*, L'idéal est de contrôler ses vins en novembre pour profiter des lies les plus fraîches possibles.

Les collages classiques : très faibles efficacités

Des essais réalisés au département R&D ont montré que les gélatines, employées seules ou en association avec des bentonites, de la silice ou des tanins ne permettaient pas une réduction sensible de la teneur en OTA (-0.03 à -0.3 µg/l pour des collages à 100ml/hl sur des vins contenant environ 3µg/l d'OTA).

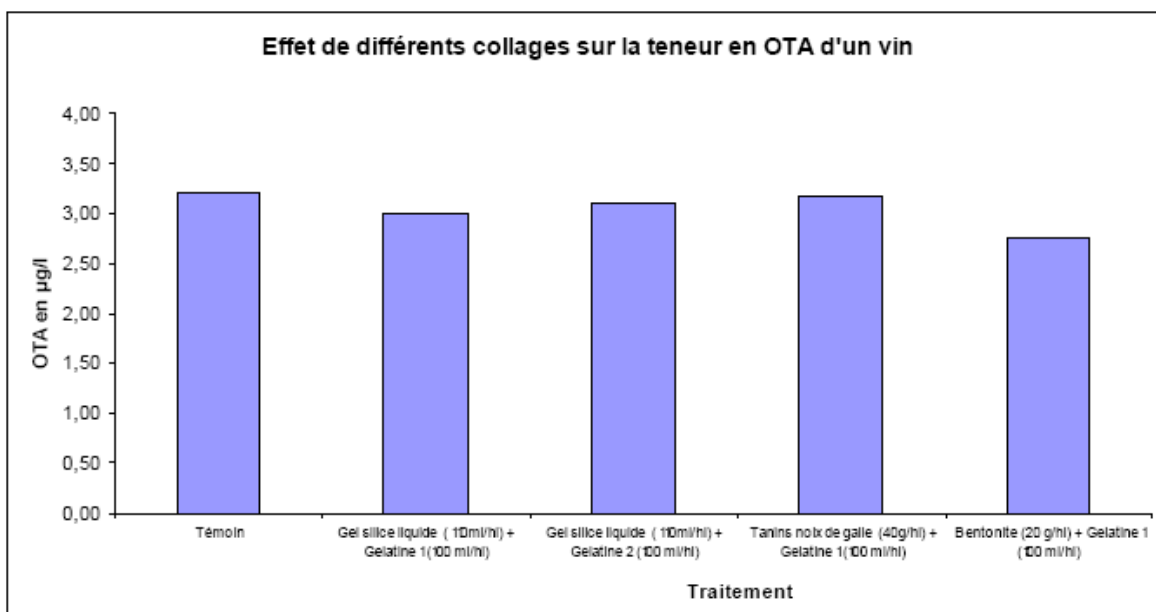


Figure 5 : Effets de différents collages sur la teneur en OTA d'un vin.

Légende (de gauche à droite) : témoin, Gel silice liquide (110 mL/hL) + gélatine 1(100 mL/hL), Gel silice liquide (110 mL/hL) + gélatine 2 (100 mL/hL), tanins noix de galle (40 g/hL) + gélatine 1 (100 mL/hL), Bentonite (20 g/hL) + Gélatine 1 (100 mL/hL)

Les charbons : des efficacités très variables

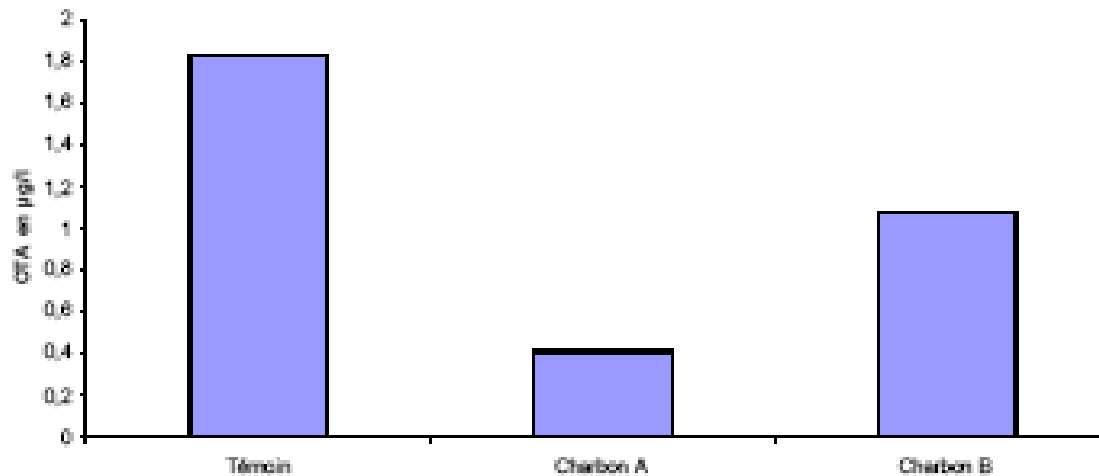


Figure 6 : Effet du charbon utilisé sur l'élimination de l'OTA (collage à 20g/hL + gélatine à 10g/hL)

Les expérimentations conduites à l'ICV afin de tester l'intérêt des charbons oenologiques associés à d'autres colles (gélatine, ou gélatine+bentonite, ou caséine dans nos essais) montrent une efficacité nettement supérieure aux autres types de collages (-0.8µg/l à - 1.6µg/l pour des collages à 20g/hl sur des vins contenant environ 2µg/l d'OTA). Seuls deux charbons commerciaux ont été testés dans ces essais mais il est clairement apparu des efficacités différentes selon la préparation commerciale (facteur 1 à 2 selon le charbon à même dose de traitement). La quantité d'OTA éliminée par les charbons est d'autant plus importante que le vin est initialement riche en OTA. La colle qui en association aux charbons permet la meilleure efficacité est la caséine qui à 40g/hl permet l'élimination de 0.1 à 0.5 µg/l d'OTA supplémentaire. L'augmentation de la dose de traitement ne conduit pas à une augmentation linéaire de la quantité d'OTA éliminée : Pour les vins très chargés en OTA, on ne pourra donc espérer une élimination de cette toxine par l'emploi de doses massives de charbons.

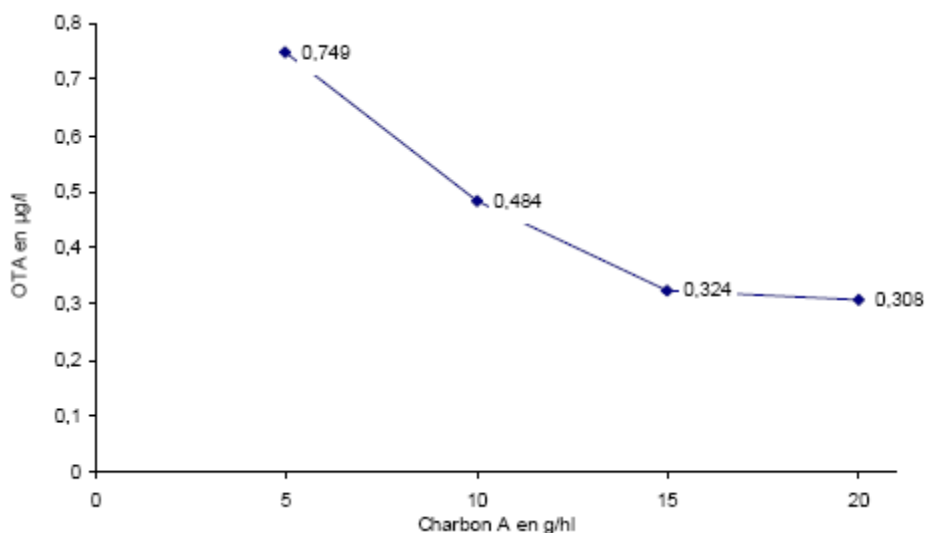


Figure 7 : Teneur des vins en OTA en fonction de la dose de charbon employée (en association avec 40 g/hL de caséine) – Teneur initiale 2,05µg/L)

Le charbons s'avèrent donc être des auxiliaires efficaces dans la réduction des teneurs en OTA des vins, mais ils ont aussi sur les vins des impacts organoleptiques importants qu'il faudra prendre en compte dans le choix du traitement.

Rappel réglementaire : D'après le règlement européen RCE2165-2005, les charbons sont autorisés sur (raisin) moût et vin nouveau en fermentation* (notamment en rouge). Ils ne sont pas autorisés sur vin.

La limite d'utilisation actuelle (qui avait été définie pour les blancs : RCE1622- 2002) est de 100g de produit sec par hL.

-*Le vin nouveau encore en fermentation est le vin dont la fermentation alcoolique n'est pas encore terminée et qui n'est pas encore séparé de ses lies (RCE1493-1999)

-Pour tout traitement au charbon, une déclaration d'utilisation -annuelle- au Service des Douanes doit être demandée et les registres de détention et de manipulation du charbon (article 179 du Code Général des Impôts) doivent être tenus.