

## TRAITEMENT DU CARACTERE BRETT DES VINS PAR DES POLYMERES CELLULOSIQUES. DE NOUVELLES SOLUTIONS ET OPPORTUNITES INDUSTRIELLES POUR DE NOUVEAUX PRODUITS OENOLOGIQUES

Giorgio NICOLINI\*, Stephan ROHREGGER, Mario MALACARNE, Christian PUECHER, Roberto LARCHER

Centro Trasferimento Tecnologico, Unità Laboratorio Chimico e Consulenza Enologica, FEM-IASMA, via Mach 1, 38010 S. Michele all'Adige (TN)

\* giorgio.nicolini@iasma.it

*Travail présenté à la 7ème édition d'Oenoforum, Arezzo, 3-5 mai 2011*

Le 4-éthyl-phénol (4EP) et le 4-éthyl-gaïacol (4EG) sont communément connus comme étant les principaux responsables du caractère Brett des vins, un caractère qui se manifeste souvent – avec l'apparition de notes phénolées, animales et de sueur de cheval – dans des produits qui ont subi un passage en barrique et où la levure *Brettanomyces* trouve un environnement favorable à son développement [Guzzon et al. 2010]. Ces éthyl-phénols sont présents dans les vinaigres, les vins, les bières, les cidres et les alcools forts.

Ces composés ont été mesurés par des techniques de chromatographie en phase gazeuse complexes depuis les années 70 et c'est seulement récemment que des techniques plus rapides d'HPLC sont rendues disponibles pour mesurer en quelques minutes les composés en question à des intervalles de concentration compatibles avec la réalité œnologique [Larcher *et al.* 2006; Nicolini *et al.* 2007].

Diverses approches technologiques ont été jusqu'à maintenant proposées pour la réduction des éthyl-phénols dans les vins avec une efficacité et un coût variables. Parmi ces approches nous pouvons rappeler celles par osmose inverse et absorption [Ugarte *et al.* 2005], la fixation sur des lies et des parois cellulaires de levure [Chassagne *et al.* 2005; Pradelles *et al.* 2008, 2009] et l'utilisation de polymères particuliers [Garde-Cerdán *et al.* 2008], outre bien sûr à l'application traditionnelle mais efficace du charbon désodorisant.

Des recherches récentes sont présentées dans cet article, visant l'évaluation des performances de certains polymères de cellulose estérifiée dans le traitement des vins rouges affectés par le caractère de « Brett » dû à la présence d'éthyl-phénols

### Matériel et méthodes

Pour la préparation de la phase mobile HPLC, de l'acétonitrile, du méthanol et de l'acide phosphorique provenant de la VWR-International (Darmstadt, Germania) ont été utilisés, tandis que l'acétone (>99%), l'éthanol (96%), l'hydroxyde de sodium (99%) et le phosphate de sodium monobasique (98%) ont été achetés chez Carlo Erba Reagents (Rodano, Milano, Italia).

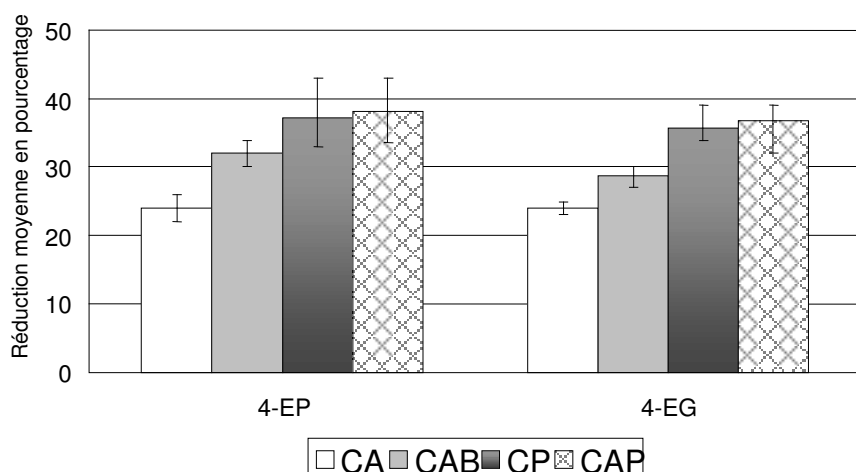
Les standards de 4EP et 4 EG (Lancaster Synthesis Ltd.; Morecambe, Lancashire, ENG) ont été préparés dans de l'eau:éthanol (50:50 en volume) avec de l'eau Milli-Q (Millipore, Bedford, MA). Les catéchines et proanthocyanidines réactives à la vanilline (VAN), les proanthocyanidines (PROC) et les anthocyanes totales (ANT) ont été mesurées par la méthode de Rigo *et al.* [2000], les autres analyses ont été effectuées en suivant les méthodes de l'O.I.V., 2009. Les éthyl-phénols ont été mesurés par HPLC-ECD [Larcher *et al.* 2006].

L'acétate de cellulose (CA; CAS 9004-35-7), l'acétopropionate de cellulose (CAP; CAS 9004-39-1), l'acétobutyrate de cellulose (CAB; CAS 9004-36-8) et le propionate de cellulose (CP; CAS 9004-48-2) (Aldrich; Steinheim, Germania) ont été réduits sous forme fibreuse en faisant passer les polymères préalablement dissous à travers une colonne capillaire (5 % en poids) dans de l'acétone avec un flux de 5 mL/min, dans un bain d'eau à 20°C maintenue en agitation (60 rpm) pour garantir une bonne turbulence. La fibre a été ensuite séchée sur du papier, lavée avec de l'eau et enfin séchée à 70°C. Les diverses épreuves ont été effectuées en mettant les fibres dans 200 mL de vin maintenu en agitation à 20°C avec un barreau magnétique pendant 60 minutes.

### Résultats et discussion

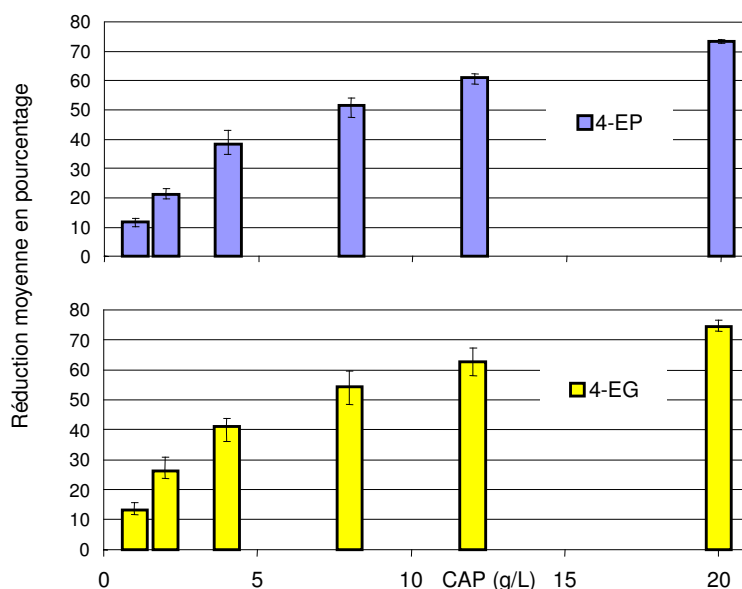
Une évaluation préliminaire de la capacité à réduire les éthyl-phénols par les 4 polymères disponibles utilisés séparément à une dose de 4 g/L a mis en évidence que le comportement de chaque polymère se manifeste de façon analogue sur le 4EP et sur le 4EG et que les produits estérifiés avec l'acide propionique étaient plus efficaces avec des capacités de réduction supérieures à 40% (Figure 1).

Puisque toutefois l'acétopropionate de cellulose résulte avoir la meilleure classification FDA comme « additif indirect utilisé dans les substances au contact des aliments » (<http://www.accessdata.fda.gov>), ce polymère a été choisi pour vérifier les effets de la dose utilisée, du temps de contact, de l'incidence sur les polyphénols ainsi que sur les caractéristiques chromatiques des vins et sur les aspects organoleptique.



**Figure 1.** Réduction moyenne, minimale et maximale en pourcentage déterminées sur la teneur en 4-éthyl-phénol (4-EP) et 4-éthyl-gaïacol (4-EG) après traitement (4 g/L) avec l'acétate de cellulose (CA), l'acétopropionate de cellulose (CAP), l'acétobutyrate de cellulose (CAB) et propionate de cellulose (CP). Mesures effectuées sur le même vin rouge porté à trois niveaux de concentration en éthyl-phénols (0.5, 1.0 et 2.0 mg/L).

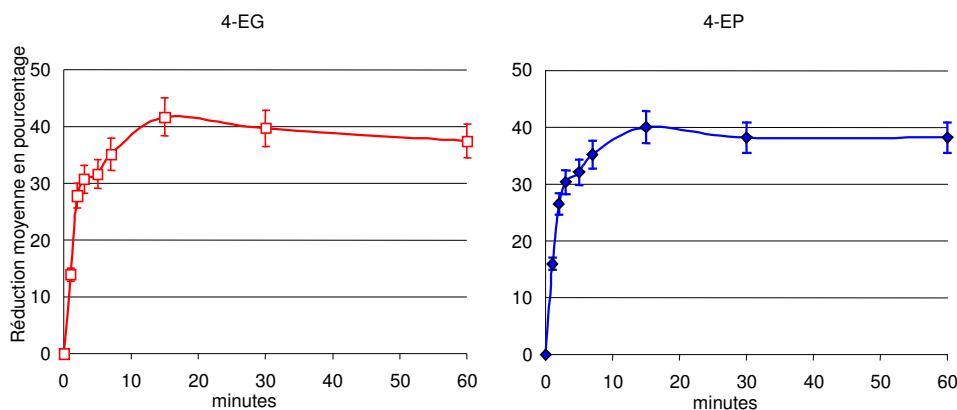
L'effet de l'utilisation de doses croissantes de CAP jusqu'à 20 g/L a été étudié sur un vin rouge enrichi de EP et EG et maintenu en agitation à 60 rpm et à 20 °C. Les éthyl-phénols ont été portés chacun à 3 niveaux de concentration finale égales à 0.5, 1.0 et 2.0 mg/L et ils étaient présents parallèlement dans le vin soumis au traitement. D'après la Figure 2, l'efficacité de réduction en pourcentage croît avec la dose du polymère – bien qu'elle soit de façon moins importante au-delà des 4-6 mg/L de CAP – et atteint des valeurs très élevées en pourcentage. La réduction est similaire pour les deux phénols volatils et elle est essentiellement indépendante de la concentration initiale du phénol, comme le montrent les barres des erreurs qui représentent les valeurs maximales et minimales des réductions obtenues en pourcentage. L'effet du temps de contact du CAP



**Figure 2.** Effet de la dose d'acétopropionate de cellulose utilisée pour la réduction du 4-éthyl-phénol (4-EP) et 4-éthyl-gaïacol (4-EG). On reporte les valeurs moyennes, minimales et maximales en pourcentage observées sur le même vin rouge porté à 3 niveaux de concentration (0.5, 1.0 et 2.0 mg/L).

avec le vin rouge a été étudié dans des conditions opérationnelles (60 rpm; 20 °C) et de

concentration en éthyl-phénols (0.5, 1.0 et 2.0 mg/L) similaires aux précédentes, en utilisant l'acétopropionate de cellulose à une dose unique de 4g /L et en prenant des échantillons successifs à des intervalles de 60 minutes. D'après la Figure 3 il est possible de confirmer la similitude du comportement du polymère par rapport aux 2 phénols, et l'indépendance d'un tel comportement des concentrations initiales de ces derniers, comme indiqué par les barres d'erreur serrées. On observe en outre l'atteinte d'un plateau après environ 15 minutes de traitement.



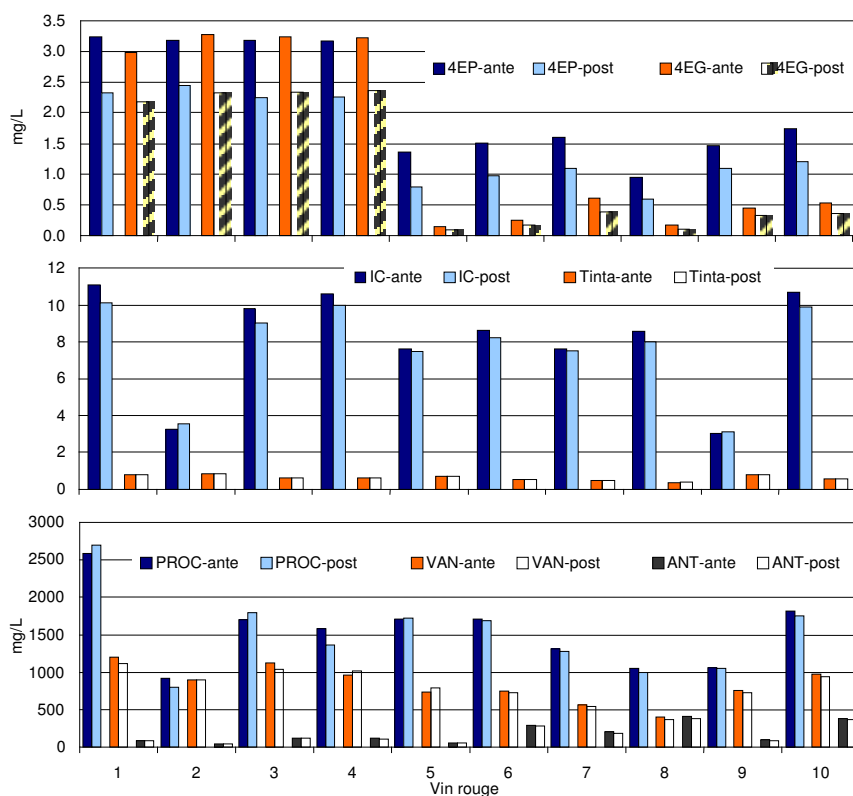
**Figure 3.** Réduction moyenne en pourcentage du 4-éthyl-gaïacol (4-EG) et du 4-éthyl-phénol (4-EP) en fonction du temps de contact avec l'acétopropionate de cellulose (4 g/L) dans le vin. Les barres d'erreur indiquent les valeurs en pourcentage minimales et maximales observées sur le même vin rouge porté à trois niveaux de concentration (0.5, 1.0 et 2.0 mg/L).

### Incidence sur les polyphénols et la couleur

Les effets du CAP sur les polyphénols et sur la couleur ont été étudiés en utilisant 10 vins rouges différents, pratiquement secs (< 2.9 g/L de sucres), ayant un degré alcoolique variant entre 12.0 et 13.8 % vol et naturellement riches ou partiellement enrichis en éthyl-phénols. Le traitement a été effectué dans les conditions usuelles (200 mL de vin, 20°C, 60 rpm, 60 min) avec g/L de CAP.

Le traitement a engendré des réductions statistiquement significatives ( $p < 0.01$ , test de Wilcoxon) pour les deux éthyl-phénols; en moyenne, le 4EP et le 4EG se retrouvent respectivement dans les vins à des concentrations réduites de 31 et 32 %, avec des minimales de 25-27% et des maximales de 41-40 %.

Les variations en diminution observées pour l'intensité colorante et les anthocyanes totales, bien que statistiquement significatives, sont technologiquement peu significatives, étant donné que



**Figure 4.** Variation du cadre phénolique et de la couleur dues au traitement (post) avec acétopropionate de cellulose (4 g/L) dans des vins rouges par rapport à des vins témoins non traités (ante). (VAN = catéchine et proanthocyanidines réactives à la vanilline; PROC = proanthocyanidines; ANT = anthocyanes totales ; IC = intensité colorante)

les valeurs moyennes étaient de 4.9 et 6.6 %.

Pour les autres paramètres relatifs à la couleur et au cadre phénolique aucune différence significative n'a été observée ni statistiquement ni technologiquement.

#### *Evaluation sensorielle*

Les mêmes vins ont été évalués – dans des verres noirs afin d'annuler les interférences possibles sur le jugement dues aux différences de couleur probables – en utilisant 12 à 16 dégustateurs experts et en appliquant le test duo-trio et le test de préférence par paire. Tous les vins traités ont été jugés comme étant significativement différents au niveau odorat et préférés par rapport aux témoins correspondants.

#### *Possibilité de réutiliser le polymère*

Dans la logique de réduire la quantité de polymère à utiliser et des résidus produits suite au traitement, il est retenu particulièrement utile de vérifier la possibilité de régénérer le polymère après chaque utilisation. Des lavages avec de l'alcool 99%, plus simple du point de vue des possibilités de réalisation en cave, avec une solution aqueuse d'NaOH (pH 12, 60 rpm, 10 min) ont mis en évidence la possibilité de régénérer et réutiliser pour une vingtaine de fois la fibre de CAP sans que des pertes importantes d'efficacité de réduction des éthyl-phénols ne soient perçues, en les maintenant aux alentours de 33-38%. Le polymère est en outre recyclable.

#### **Conclusions**

Parmi les quatre celluloses estérifiées testées dans cette expérience, l'acétopropionate s'est montré être le plus prometteur. En effet, outre à réduire moyennement les deux éthyl-phénols de 30% environ, il ne modifie pas technologiquement de manière importante les polyphénols et la couleur des vins rouges, en améliorant par contre significativement la qualité sensorielle. Ses caractéristiques intrinsèques, en plus de la possibilité de régénération dans des conditions compatibles avec les procédures normales de cave et la possibilité d'une réutilisation significative sans perte importante d'efficacité ouvrent des perspectives très intéressantes pour l'utilisation de l'acétopropionate de cellulose sous forme de supports, couches et membranes de filtration fonctionnels pour le traitement des "Bretty wines" ou autres boissons similaires. L'utilisation dans d'autres boissons à fort pourcentage en alcool apparaît par contre plus problématique.

#### **Bibliographie**

- Chassagne D., Guilloux-Benatier M., Alexandre H. & Voilley A. (2005). Sorption of wine volatile phenols by yeast lees. *Food Chemistry*, 91, 39-44.
- Garde-Cerdán T., Zalacain A., Lorenzo C., Alonso J.L. & Rosario-Salinas M. (2008). Molecularly imprinted polymer-assisted simple clean-up of 2,4,6-trichloroanisole and ethylphenols from aged red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59, 396-400
- Guzzon R., Widmann G., Larcher R. & Nicolini G. (2010). Esperienze di sanitizzazione di vasi vinari in legno. *Industria delle Bevande* 39(229):15-19.
- Larcher R., Nicolini G., Puecher Chr., Bertoldi D., Moser S. & Favaro G. (2006). Determination of volatile phenols in wine using high-performance liquid chromatography with coulometric array detector. *Analytica Chimica Acta*, 582, 55-60.
- Nicolini G., Larcher R., Bertoldi D., Puecher C. & Magno F. (2007). Rapid quantification of 4-ethylphenol in wine using high-performance liquid chromatography with a fluorimetric detector. *Vitis*, 46, 202-206.
- Pradelles R., Alexandre H., Ortiz-Julien A. & Chassagne D. (2008). Effects of yeast cell-wall characteristics on 4-ethylphenol sorption capacity in model wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11854-11861.

- Pradelles R., Vichi S., Alexandre H. & Chassagne D. (2009). Influence of the drying processes of yeasts on their volatile phenol sorption capacity in model wine. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 152-157.
- Rigo A., Vianello F., Clementi G., Rossetto M., Scarpa M., Vrhovšek U. & Mattivi F. (2000). Contribution of the proanthocyanidins to the peroxy radical scavenging capacity of some Italian red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1996-2002
- Ugarte P., Agosin E., Bordeu E. & Villalobos J.I. (2005). Reduction of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol concentration in red wines using reverse osmosis and adsorption. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56, 30-36.