

## Chitosan

under investigation

N°1

## SOLUTION BIOLOGIQUE POUR PROTÉGER LES VINS CONTRE LES MICRO-ORGANISMES D'ALTÉRATION

Gérer ces risques d'altération est essentiel pour garantir la qualité d'un vin tout au long de sa vie. Le  $SO_2$  est le produit le plus couramment utilisé pour limiter le développement de la flore contaminante et les déviations organoleptiques, mais de nos jours les consommateurs sont à la recherche de vins contenant des taux de  $SO_2$  moindres. Un moyen moderne de lutte contre le développement de ces micro-organismes est la bioprotection des moûts et vins par l'utilisation de levures œnologiques sélectionnées et de bactéries œnologiques sélectionnées en co-inoculation (voir les *Bacteria Under Investigation* n°1 et n°4). Nos recherches ont permis de mettre au point deux autres outils biologiques sûrs et efficaces pour lutter contre des micro-organismes indésirables tels que *Brettanomyces* et les bactéries lactiques et acétiques : **No Brett Inside™** et **Bactiless™**. Ce sont des dérivés de chitine d'origine fongique : chitosane pur pour **No Brett Inside™** et chitosane associé à la chitine-glucane pour **Bactiless™**. Ces 2 formulations à base de chitosane sont issues à 100 % d'*Aspergillus niger* et sont conformes aux spécifications OIV et UE. Utilisées et reconnues depuis plus de 10 ans par les œnologues, cette étude présente le mode d'action et confirme l'efficacité de ces deux solutions pures (100 % naturelles, biodégradables, sans OGM et hypoallergéniques).

## QU'EST-CE QUE LE CHITOSANE ET LA CHITINE-GLUCANE ?

*Aspergillus niger* est un champignon dont sont extraites la chitine et la chitine-glucane. Le chitosane est un dérivé de la chitine obtenue par désacétylation. Seuls les chitosane et chitine-glucane d'origine fongique, provenant du mycélium *Aspergillus niger*, sont autorisés en œnologie ; l'utilisation de chitosane d'origine animale (crustacés) ou d'autre source fongique n'est pas autorisée.

Depuis 2003, en collaboration avec notre partenaire Kitozyme, nous trions et sélectionnons les **meilleures matières premières sous forme de composés purs, issues de la diversité** physico-chimique des chitosanes et des chitines-glucanes. La diversité des différents chitosanes repose sur leurs caractéristiques physico-chimiques telles que : leurs degrés de désacétylation, de polymérisation ou encore leur granulométrie.

Les propriétés antibactériennes et antifongiques de nos produits à base de chitosane (**No Brett Inside™** ou **NBI** et **Bactiless™**) ont fait l'objet d'une étude exhaustive et l'efficacité de leur action antimicrobienne a été démontrée : forte inhibition des *Bret-*

*tanomyces* (en particulier pour **NBI**) et des bactéries acétiques et lactiques (en particulier pour **Bactiless™**). Ce dernier se compose de chitosane pur associé à une chitine-glucane spécifique ; les 2 agissant en synergie. Le chitosane joue un rôle antimicrobien et la chitine-glucane maximise l'effet physique (élimination par floculation avec les cellules endommagées et sédimentation de ces dernières). À titre d'exemple, la figure 1 représente l'observation au microscope optique de cellules de *Brettanomyces* traitées au chitosane (**NBI**), réalisée par Taillandier et al., 2012 permettant d'observer :

- un effet physique : agrégation due à l'interaction de charge entre **NBI** et les cellules de levure
- et un effet biologique : disparition massive des cellules de *Brettanomyces*



Figure 1. Microscopie optique de cellules de *Brettanomyces* avec **No Brett Inside™**

## QUELLE EST L'EFFICACITÉ DES FORMES PURES DE CHITOSANE ET DE CHITINE-GLUCANE ?

Les *Brettanomyces* constituent une menace permanente pour la qualité des vins du fait de la production de phénols volatils (arômes de basse-cour, pansement adhésif, médicaments) détériorant les profils sensoriels des vins. Ces levures d'altération peuvent se développer dans des environnements difficiles n'importe quand au long de la vie d'un vin mais plus particulièrement durant l'élevage. L'utilisation de  $SO_2$  est la méthode couramment utilisée pour contrôler et limiter le développement de *Brettanomyces* mais certaines souches demeurent résistantes au  $SO_2$ .

D'autres produits à base de chitosane sont également disponibles sur le marché, destinés à contrôler les contaminants ; or ces produits sont des mélanges d'acides organiques et/ou de dérivés de levure. Dans le cadre du développement de nos solutions, notre équipe R&D a comparé le chitosane pur (**No Brett Inside™**) ou le chitosane associé à de la chitine-glucane (**Bactiless™**) à l'un de ces produits.

**No Brett Inside™**, 100 % de chitosane pur d'*Aspergillus niger*, a été comparé à un produit selon la méthode RT-PMAX-PCR qui évalue précisément les cellules de *Brettanomyces* vivantes (aucun risque de comptabiliser des faux positifs). La figure 2 montre l'efficacité du **NBI** à un dosage considérablement plus bas que l'un de ces produits dits « chitosanes activés » (**NBI** à 4 g/hL contre le produit de référence à 10 g/hL). **NBI** est aussi rapide et efficace à un dosage moindre, et ce dès 5 jours après son ajout.

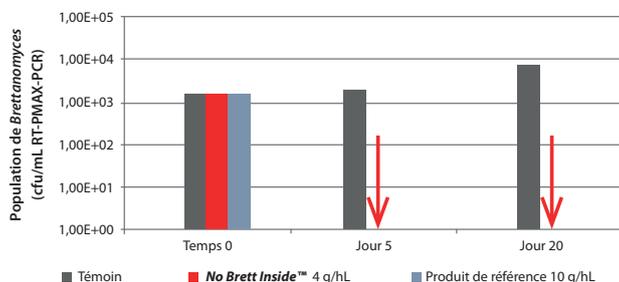


Figure 2. Mort des *Brettanomyces* mesurée selon la méthode en temps réel PMAX-PCR dans un vin sans agent antimicrobien, un vin avec **NBI** à 4 g/hL et un vin avec un produit de référence à 10 g/hL (collaboration avec Excell Iberica 2017).

De la même manière, **Bactiless™** (sur le marché depuis 2016) a montré sa fiabilité en faveur de la réduction de la population de bactéries lactiques et acétiques indésirables, et cela dans les vins blancs et rosés, les pétillants, le cognac et les spiritueux. Il est également utilisé pour retarder ou bloquer la fermentation malolactique (FML).

Pour mieux comprendre et appréhender les produits et leurs effets, notre équipe de R&D a comparé l'action antibactérienne de **Bactiless™** au produit de référence. Dans un essai réalisé sur un vin blanc (figure 3), sur lequel la FML n'était pas désirée, les deux produits parviennent à ce résultat ; toutefois, **Bactiless™** s'avère aussi performant à un dosage moindre, du fait de sa pureté supérieure. Des résultats identiques ont été observés sur vins rouges.

Dans le cadre d'un autre essai de stabilisation microbienne post FML (figure 4), les deux produits réduisent le nombre de bactéries lactiques ; cependant, **Bactiless™** agit à plus faible dosage (20 g/hL) que le produit de référence (25 g/hL), le chitosane présent dans **Bactiless™** étant plus efficace.

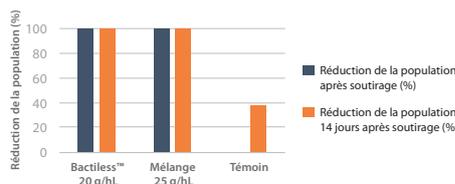


Figure 3. Diminution de la population de bactéries lactiques dans un vin blanc avec **Bactiless™** par rapport à un produit commercial de référence pour empêcher la FML.

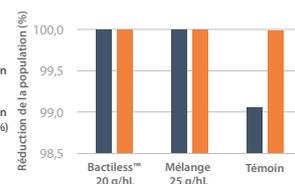


Figure 4. Diminution de la population d'*O.oeni* post FML avec **Bactiless™** par rapport à un produit commercial de référence

## EN RÉSUMÉ

Le chitosane de **No Brett Inside™** et le chitosane/chitine-glucane de **Bactiless™** permettent de contrer plus efficacement la prolifération des contaminants que les produits commerciaux sélectionnés. En effet, **No Brett Inside™** et **Bactiless™** sont plus concentrés et offrent une pureté supérieure en chitosane, induisant une meilleure efficacité à moindre dosage.

- **No Brett Inside™** et **Bactiless™** bénéficient d'une formulation unique à 100 % d'*Aspergillus niger*, contenant les formes certifiées les plus pures de chitosane et la seule forme approuvée par l'OIV.
- **No Brett Inside™** et **Bactiless™** peuvent contribuer à une stratégie de réduction de l'utilisation du  $SO_2$  en vinifications.
- Après plus de 15 années et de nombreux essais, nous pouvons affirmer que les préparations pures **No Brett Inside™** et **Bactiless™** n'impactent pas négativement la qualité sensorielle du vin. Elles contribuent, au contraire, à une meilleure conservation des vins tout en réduisant le risque d'altération microbienne.