



Alternatives au SO₂: les nouvelles applications et connaissances Partie 2: Le chitosane: nouvel outil de collage et de protection oxydative comme alternative au SO₂

Laure Vatin, Marcel Culcasi, Olivier Pillet, Bertrand Robillard, Sylvia Pietri

► To cite this version:

Laure Vatin, Marcel Culcasi, Olivier Pillet, Bertrand Robillard, Sylvia Pietri. Alternatives au SO₂: les nouvelles applications et connaissances Partie 2: Le chitosane: nouvel outil de collage et de protection oxydative comme alternative au SO₂. Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques, Union nationale des oenologues France Bourgogne-Publications, 2020. hal-03018989

HAL Id: hal-03018989

<https://hal-amu.archives-ouvertes.fr/hal-03018989>

Submitted on 24 Nov 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Alternatives au SO₂: les nouvelles applications et connaissances

Partie 2 : Le chitosane : nouvel outil de collage et de protection oxydative comme alternative au SO₂

L. VATIN¹, M. CULCASI², O. PILLET¹, B. ROBILLARD¹, S. PIETRI²

¹Institut Œnologique de Champagne, EPERNAY, France,

²Aix Marseille Univ, CNRS, Institut de Chimie Radicalaire, UMR 7273, CNRS, MARSEILLE, France.

Introduction

Dans une première partie, nous avons développé l'intérêt d'outils biologiques tels que *Metschnikowia fructicola* comme bioprotecteur pour sécuriser les étapes pré-fermentaires. Dans cette seconde partie, nous présentons plus particulièrement l'utilisation du chitosane comme outil d'aide à la protection des moûts et des vins contre l'oxydation et comme alternative potentielle au SO₂.

Oxydation des moûts et des vins

L'oxydation des vins et leur stabilité dans le temps est un souci récurrent, d'autant plus que la demande en vins pauvres en sulfite s'accroît d'année en année et que les changements climatiques laissent supposer un potentiel oxydatif croissant des vins.

Les mécanismes liés à l'oxydation des vins sont bien décrits dans la littérature. Trois éléments fondamentaux expliquent ce phénomène : outre l'oxygène qui est un élément central, les 'substrats' d'oxydation comme les ortho-diphénols participent à cette chaîne d'oxydo-réduction avec une répercussion bien visible dans les vins blancs : sous leur forme oxydée et polymérisée, ces produits d'oxydation sont colorés (teinte jaune/orangée). Les derniers éléments-clés dans les phénomènes d'oxydation sont des catalyseurs d'oxydation comme les métaux de transition (cuivre et fer sont les éléments les plus décrits). Ces catalyseurs peuvent se retrouver au niveau des moûts à travers la laccase ou les polyphénoloxydases du raisin, enzymes dont le co-facteur est le cuivre; dans le vin, ce sont les formes 'libres' de ces métaux qui catalysent les réactions d'oxydation.

Pour contrecarrer ces problèmes d'oxydation, des solutions existent : préventives, en éliminant le substrat des réactions d'oxydation (les catéchines, l'acide caftarique, ...), ou curatives en ôtant leurs produits (quinones et dérivés polymérisés). Des solutions éprouvées comme la caséine et/ou la PVPP existent mais ces deux colles sont de plus en plus délaissées suite à la pression des consommateurs et des techniciens du vin qui souhaitent de moins en moins utiliser d'intrants d'origine animale ou synthétique. En ce sens, toute nouvelle colle répondant à ces contraintes mérite d'être étudiée et les dérivés de chitine apparaissent être de bons candidats.

Application du chitosane en mout et impact sur la couleur

Depuis une dizaine d'années, nous nous intéressons aux dérivés de chitine qui ont reçu l'aval de l'OIV en 2009 pour diverses applications œnologiques dont le collage. Ces polysaccharides d'origine fongique

possèdent l'avantage d'être reconnus non-allergéniques et biodégradables. Par la mesure de densité de charges, nous avons démontré que le chitosane est fortement chargé au pH du moût ou du vin, ce qui lui confère – et de par sa structure - des propriétés de floculation intéressantes et son emploi comme colle (N. Delavigne *et al.*, 2014). Son aptitude à flocculer est mesurée grâce au Turbiscan® qui nous permet de suivre dans le temps la transmission (donc la limpidité) du liquide à tester sur l'ensemble du tube qui le contient. Dans l'exemple situé à la **Figure 1**, on constate que la courbe relative au chitosane (10g/hL) montre une valeur de transmission importante qui signifie une aptitude à clarifier très rapide, supérieure à celle d'une protéine de pois (10g/hL) mise en solution et au témoin. Dans l'exemple qui figure au **Tableau 1**, le chitosane (5 g/hL) est comparé comme agent de flottation à la gélatine (15° bloom / 10g/hL) sur un moût de rosé de pressurage direct (25 hL par modalité). Les essais ont été menés en parallèle à une température voisine de 20°C. Les flottations sont réalisées sur une durée moyenne de 2 h. De ces essais, on retient essentiellement la diminution de la composante jaune qui passe de 21 à 12,7 quand le moût est flotté par le dérivé de chitine formulé.

Ce résultat peut laisser supposer que le chitosane interagit avec certaines molécules naturelles oxydables (comme les polyphénols) empêchant leur oxydation et donc le jaunissement du moût. Des travaux récents (R. Eder, 2011) ont d'ailleurs montré que le chitosane (utilisé à 40 g/hL) est capable de diminuer les teneurs en polyphénols totaux de 15% et de l'acide caftarique d'un moût de 30%, de manière identique à la PVPP dans l'exemple cité. Une autre hypothèse est la réaction du chitosane directement avec les produits d'oxydation (quinones et dérivés polymériques) qui empêcherait alors tout jaunissement. A ce titre, nous avons démontré en solution modèle-vin l'interaction du chitosane avec les quinones (M. Cassien et B. Robillard, 2015). D'un autre côté et en solution modèle-vin, une équipe italienne (F. Chinnici *et al.*, 2014) a montré que le chitosane se révèle être capable de s'opposer à l'oxydation des catéchines et de préserver les thiols variétaux comme le 3-mercaptohexan-1-ol, de manière au moins aussi efficace que le SO₂.

Cependant, la plupart de ces travaux provenaient d'expérimentations menées en solution modèle et aucune expérimentation sur vin n'avait été menée afin d'appréhender les mécanismes qui traduisent ce pouvoir antioxydant du chitosane.

Propriétés anti-radicalaires du chitosane

Dans le vin, les phénomènes d'oxydation mettent en œuvre des réactions de transfert d'électrons formant intermédiairement des *radicaux libres*, espèces très instables porteuses d'un *électron célibataire* (représenté par un point dans leur formule chimique). La **Figure 2** illustre certains de ces mécanismes faisant intervenir l'oxygène, les polyphénols et les métaux de transition contenus dans le moût. Dans cet exemple, outre l'oxydation des ortho-diphénols en quinones, on note que l'oxydation de l'éthanol suit un également un processus radicalaire (par l'intermédiaire du radical hydroxyle HO•) pour conduire à l'éthanal. Pour contrer l'oxydation radicalaire, il a été démontré que le chitosane peut jouer à la fois un rôle préventif, par l'inactivation (chélation) du fer et du cuivre (A. Bornet et P. L. Teissedre, 2008) et curatif, étant capable de réagir chimiquement avec les radicaux libres (piégeage) pour les neutraliser (X Y. Zhu *et al.*, 2004; S. Chowdhury *et al.*, 2009). Toutefois, les nombreuses publications traitant ce sujet n'ont que rarement concerné le monde œnologique.

L'exploration des mécanismes radicalaires dans l'oxydation du vin et leur inhibition par le chitosane a requis la mise en œuvre d'une technique spécifique : la résonance paramagnétique électronique (RPE).

Basée sur le même principe théorique que l'IRM utilisée en imagerie médicale, la RPE, couplée à une technique de piégeage sur des molécules spécifiques préalablement additionnées au vin, fournit une signature qualitative et quantitative des radicaux libres. Nous présentons à la **Figure 3**, une étude récente (A. Castro Marín *et al.*, 2019) effectuée sur un vin de base Chardonnay (pH : 3,22; 11,5% éthanol % v/v, non-sulfité : < 5 mg/L) dont on a stimulé l'oxydation par addition de 5 mg/L de fer(II), noté Tem dans la figure. Nous avons mesuré par RPE (après piégeage sur une nitron) l'impact de la présence de SO₂ (50 mg/L) ou du chitosane (500 mg/L) sur la production du radical 1-hydroxyéthyle (produit de la réaction de HO• sur l'éthanol; cf. **Figure 3**), qui sera d'autant plus faible que l'effet anti-oxydant de l'intrant sera meilleur. L'oxydation par contact avec le fer (II) pendant 48 h a été conduite à température ambiante dans l'obscurité sans protection vis-à-vis de l'oxygène. A l'issue de cette phase, les échantillons contenant du chitosane ont été centrifugés afin de l'éliminer, reproduisant les conditions réelles d'utilisation.

Les résultats montrent clairement que la formation radicalaire continue dans le vin témoin non protégé (Tem) est efficacement contrecarrée par ajout de SO₂ (50 mg/L) jusqu'à une limite voisine ici d'une centaine d'heures. Passé ce délai, une partie du SO₂ est oxydé sous forme de sulfate et, le vin n'étant plus protégé, les processus d'oxydation reprennent, le signal de RPE ré-augmente, s'accompagnant d'une libération accrue d'éthanal (que l'on peut doser par ailleurs). L'oxydation du vin contenant le chitosane à 500 mg/L n'est significativement ralentie qu'après 48 h mais à 144 h (6 jours) la protection anti-oxydante qu'il a induite est similaire à celle du SO₂ alors que le chitosane n'est plus présent dans le vin.

Plus généralement, notre étude (A. Castro Marín *et al.*, 2019) a confirmé que les deux mécanismes anti-oxydatifs, préventif (chélation de certains métaux de transition) et curatif (interaction directe entre le dérivé de chitine et certains radicaux ; K. L. B. Chang *et al.*, 2001) du chitosane sont opérants dans le vin.

Conclusion :

Cette synthèse montre que le chitosane est capable d'agir à différents niveaux des processus d'oxydation du moût ou du vin. Ce polysaccharide naturel peut interagir avec les substrats d'oxydation tel que l'acide caftarique comme avec des composés provenant de l'oxydation, telles les quinones ou leurs dérivés polymérisés. D'un autre côté, la récente étude par RPE présentée ici et menée dans des conditions réelles démontre que le chitosane a un impact significatif contre la formation de radicaux libres. Les propriétés chélatantes des métaux catalyseurs des oxydations ou le piégeage des radicaux libres sont les mécanismes qui expliquent l'activité anti-oxydante de ce bio-polymère. Les résultats de ce travail renforcent l'intérêt actuel pour l'utilisation du chitosane comme substitut et/ou complément des sulfites en vinification : il peut être une aide à préserver le SO₂ ou à en diminuer la dose tout en maintenant la fraîcheur du vin. L'activité anti-radicalaire du chitosane dans le vin nous a poussés à entreprendre des études complémentaires sur la genèse de la 2-aminoacétophénone, molécule-clé du vieillissement atypique des vins, et dont les mécanismes de formation mettent aussi en œuvre des radicaux libres.

Remerciements :

Les auteurs remercient vivement Mathieu CASSIEN, Antonio CASTRO MARIN, Christine GUILLOTON et Noémie DELAVIGNE pour leur contribution à ces travaux. Une partie de ces travaux a été subventionnée par le CNRS et l'Université d'Aix Marseille.

Tableau 1 :

	Moût initial	Gélatine	Chitosane
Acidité totale (g/L)	4,2	4,0	4,0
pH	3,40	3,40	3,39
SO ₂ total (mg/L)	<25	<25	<25
Turbidité (NTU)	1638	16,5	20,1
L* clarté	69,8	65,8	70,6
a* composante rouge	36,2	42,3	41,3
b* composante jaune	21,0	20,1	12,7

Figure 1 : Evolution de la limpidité d'un moût dans le temps. Comparaison d'une protéine de pois et du chitosane (10g/hL pour les 2 modalités) contre le moût non-collé (témoin).

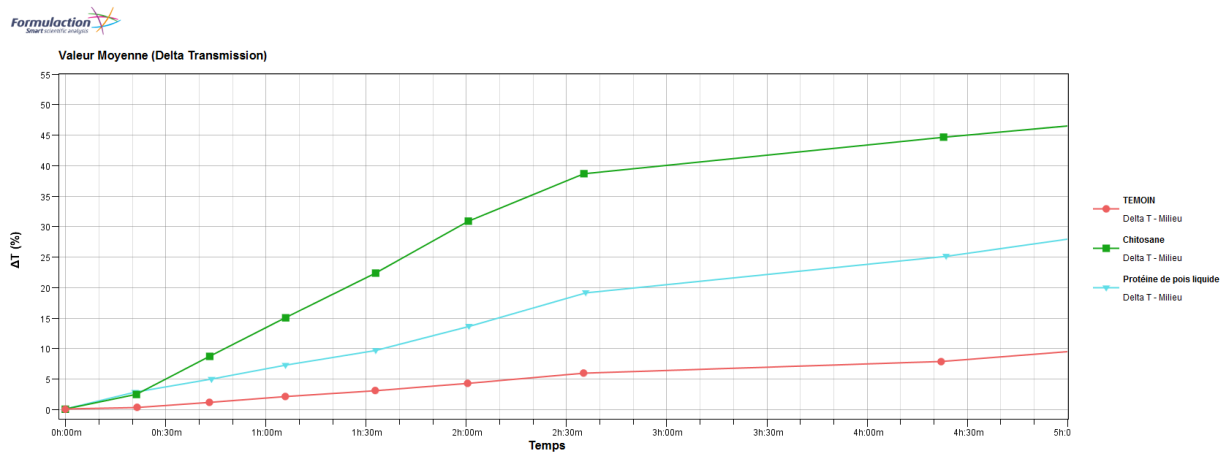


Figure 2 : Mécanisme radicalaire de l'oxydation du vin

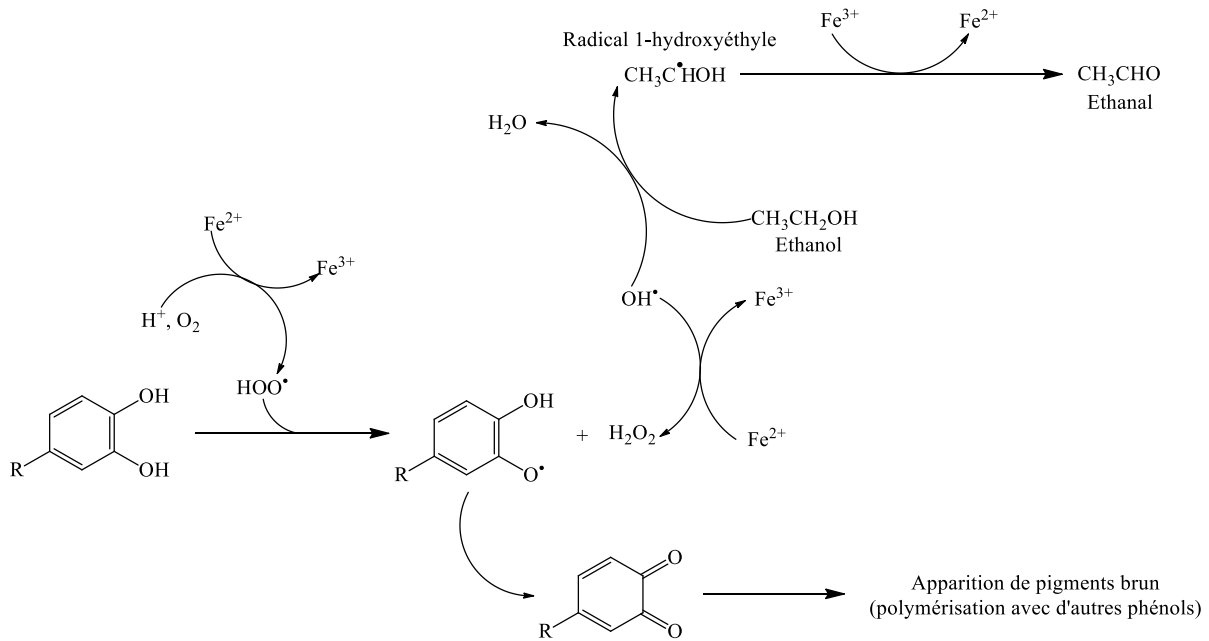
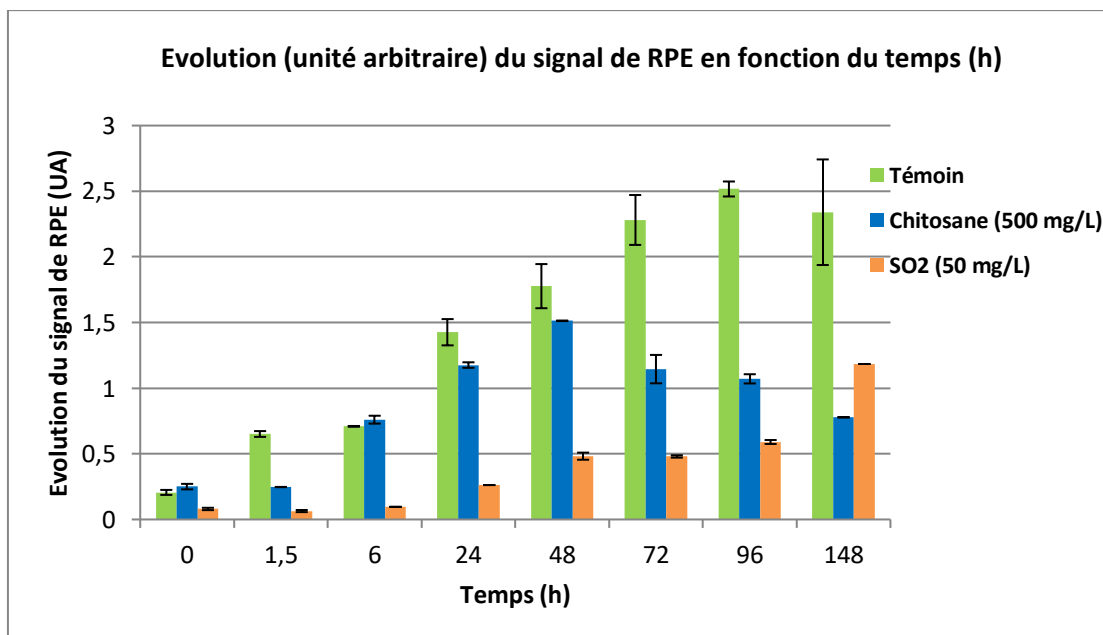


Figure 3 : Evolution quantitative (unité arbitraire) du radical 1-hydroxyéthyle en fonction du temps (h)



Bibliographie :

- (1) N. Delavigne *et al.*, 2014, les dérivés de chitine comme nouvel adjuvant de flottation, *Revue des Œnologues*, N°45.
- (2) R. Eder, 2011, Neues unbekanntes Weinbehandlungsmittel, *der Winzer*, septembre.
- (3) M. Cassien et B. Robillard, 2015, Chitine derivatives: providing technical innovation while meeting current health concerns, *Enoforum*, 5-7 mai / Vicenza, It.
- (4) F. Chinnici *et al.*, 2014, Efficacy of chitosan in Inhibiting the oxidation of (+)-catechin in white wine model solutions, *J. Agric Food Chem.*, 9868-9875.
- (5) A. Bornet et P. L. Teissedre, 2008, Chitosan, chitin-glucan and chitin effects on minerals (iron, lead, cadmium) and organic (ochratoxin A) contaminants in wine. *Eur. Food Res. Technol.*, 93, 174-180.
- (6) X Y. Zhu *et al.*, 2004, Superoxide anion radical scavenging ability of quaternary ammonium salt of chitosan, *Chinese Chem. Lett.*, 15(7), 808-810.
- (7) S. Chowdhury *et al.*, 2009, Infrared spectroscopic characterization, free radical scavenging and cytotoxic evaluation of chitosan extracted from *Penaeus monodon* shells *S. J. Pharm. Sci.*, 2(2), 27-30.
- (8) M. Cassien *et al.*, 2015, Electron spin resonance and HPLC evidence for the metal ions inactivating properties of chitosan as a natural antioxidant in a model wine system, *In Vino Analytica Scientia*, juillet, Trente, It.
- (9) A. Castro Marín *et al.*, 2019, Chitosan as an antioxidant alternative to sulphites in oenology: EPR investigation of inhibitory mechanisms, *Food Chem*, 285, 67-76.
- (10) K. L. B. Chang *et al.*, 2001, Kinetics as products of the degradation of chitosan by hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem*, 49, 4845-4851.