

NATURE ET ORIGINE DES ODEURS DE « MOISI » DANS LES CAVES. INCIDENCES SUR LA CONTAMINATION DES VINS

P. CHATONNET*(1), G. GUIMBERTEAU**, D. DUBOURDIEU* et J.N. BOIDRON*

*Institut d'Œnologie de Bordeaux, 351 cours de la Libération, 33405 Talence cedex (France)

**L.I.R. de la DGCCRF, 351 cours de la Libération, 33405 Talence cedex (France)

Résumé : *Les goûts et odeurs à caractère "moisi" retrouvés dans les vins encore stockés en cuves ou en barriques sont généralement dus à des chloroanisoles du type 2,3,4,6-tétrachloroanisole et pentachloroanisole. Ces composés malodorants proviennent de la dégradation microbienne de chlorophénols utilisés comme traitement insecticide de différents matériaux à base de bois principalement employés dans la construction des bâtiments, leur isolation ou dans la fabrication de caisses de stockage des bouteilles. Dans certaines conditions, humidité de l'air élevée et ventilation réduite, on assiste à une contamination rapide de l'atmosphère des caves et des vins qui y sont entreposés. De la même façon, la conservation dans une atmosphère viciée de certains produits destinés à entrer en contact avec le vin peut être responsable de sa pollution.*

L'élimination de la source de contamination en chlorophénols et en chloroanisoles, ainsi que l'amélioration du renouvellement de l'air, suffisent généralement à solutionner le problème. La prohibition de tous les produits de traitements à base de chlorophénols est conseillée dans tous les locaux destinés à recevoir du vin en vrac où à le conditionner en bouteille.

La cuverie contaminée en même temps que les vins peut être réutilisée après nettoyage et éventuellement réfection. A l'inverse, les contenants en bois conservés dans une atmosphère polluée doivent le plus souvent être éliminés.

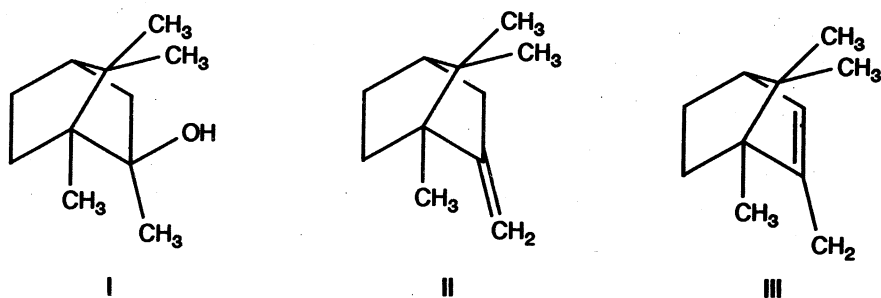
INTRODUCTION

Dans un vin, le goût ou l'odeur de « moisi » est un des défauts organoleptiques les plus désagréables qu'il soit. Si on en croit les consommateurs avertis, le nombre d'altérations de ce type serait croissant depuis les dix dernières années et affecterait toutes les catégories de vins.

Le coupable désigné est le plus souvent le bouchon de liège, mais il ne peut être mis seul en cause. En effet, dans de nombreux cas ce défaut apparaît avant le conditionnement des vins en bouteilles, c'est à dire pendant leur conservation en cuve ou en barrique. Le classique défaut "de logement" est alors invoqué pour expliquer l'altération. Mais là encore, l'interprétation est peu convaincante lorsqu'il s'agit de chais neufs, à la cuverie parfaitement entretenue et à l'hygiène irréprochable. De nombreux composés, chimiquement très différents, peuvent être à l'origine d'odeurs qualifiées de "moisies".

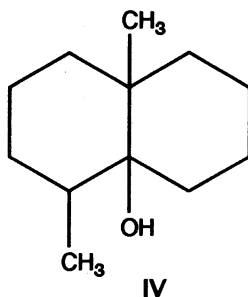
(1) Chercheur de la Tonnellerie SEGUIN-MOREAU - 16103 COGNAC

La première famille de composés connus pour être responsables de goûts "moisis, terreux" voire "camphrés" à forte concentration, sont des dérivés du métabolisme des terpènes chez de nombreuses bactéries. Le méthyl-isobornéol (1,2,7,7-tétraméthylbicyclo [2,2,1] heptan-2-ol) (I) est bien connu pour être responsable du défaut qui nous intéresse dans l'eau et de nombreux produits marins contaminés par des actinomycètes (*Streptomyces*) ou des cyanobactéries (GERBER, 1979). Ce composé possède un seuil de perception de l'ordre de 30 ng/l dans l'eau, il a parfois été signalé dans des vins dits "bouchonnés" (AMON et al., 1989). Le 2-méthylène bornane (II) et le 2-méthyl-2-bornène (III) sont des produits de dégradation du méthyl-isobornéol. Ils possèdent une odeur similaire mais des seuils de perception sensiblement plus élevés (MARTIN et al., 1988).



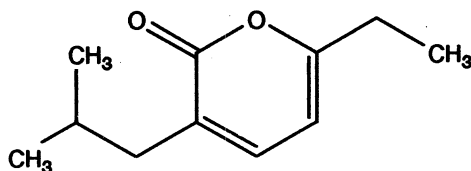
I : Méthyl-isobornéol (1,2,7,7-tétraméthylbicyclo [2,2,1] heptan-2-ol)
 II : 2-méthylène bornane - III : 2-méthyl-2-bornène

La Géosmine (*trans* 1,10-diméthyl-*trans*-9-decalol) (IV) est souvent citée comme responsable de goûts "moisis" dans l'eau. Cette substance ne possède pas à proprement parler de goût "moisi" mais plutôt un caractère "poussiéreux" et "terreux", elle est notamment responsable de l'odeur caractéristique du terreau. Elle peut être synthétisée par des actinomycètes (en particulier *Streptomyces*) ou des algues (cyanobactéries). Son seuil de perception est voisin de 10 ng/l dans l'eau (GERBER, 1968, 1979). En milieu acide, ce composé a tendance à se transformer lentement en Argosmines, composés nettement moins odorants.



IV : La Géosmine (*trans* 1,10-diméthyl-*trans*-9-decalol)

La Mucidone (6-éthyl-3-isobutyl-pyrone) (V) est également signalé comme molécule responsable de certaines altérations “moisies ou terreuses” dans les eaux de rivière (GERBER, 1979). Cette substance également produit du métabolisme de certains actinomycètes, possède un seuil de perception relativement élevé (3,3 µg/l dans l'eau) en comparaison des précédentes.

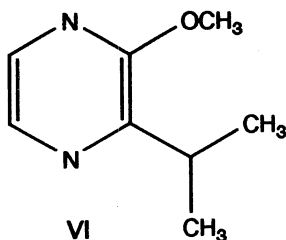


V

V : La Mucidone (6-éthyl-3-isobutyl-pyrone)

Ce premier groupe de composés est vraisemblablement responsable des odeurs “fongiques” et “terreuses” souvent perçues dans les caves naturelles creusées à même la roche. Néanmoins, à l'inverse du caractère “moisi” qui nous intéresse, ces substances ne semblent pas communiquer d'odeurs désagréables stables dans les vins.

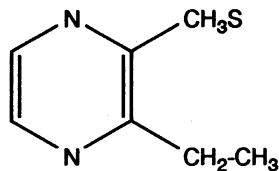
Les pyrazines font également partie des molécules suspectes. La 2-isopropyl-3-méthoxy-pyrazine (VI) a été identifiée dans des eaux de rivières et des poissons à goût “moisi” (GERBER, 1979, MAGA 1987). Cette substance extrêmement odorante (seuil de perception de 1 à 2 ng/l dans l'eau) peut être synthétisée par des bactéries des genres *Streptomyces* ou *Pseudomonas* (GERBER, 1979).



VI

VI — Les pyrazines : la 2-isopropyl-3-méthoxy-pyrazine

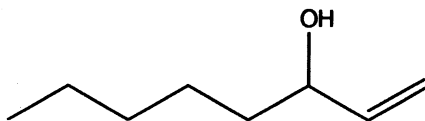
La 2-méthylthio-3-éthyl-pyrazine (VII) possède une odeur “moisie” et sulfurée. Cette substance est parfois citée dans la littérature (TANNER, 1982, HEIMANN et al., 1983) comme participant à certains défauts olfactifs voisins de celui qui nous intéresse et apportés par le liège.



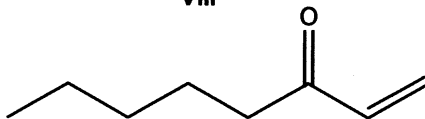
VII

VII — Les pyrazines : la 2-méthylthio-3-éthyl-pyrazine

Les alcools et les cétones insaturés en C8 (octèn-1-ol-3, octèn-1-one-3) (VIII, IX) produits par divers types de moisissures et parfois identifiés dans les vins (KAMINSKI et *al.*, 1974, AMON et *al.*, 1989) peuvent être responsables d'odeurs et de goûts "champignonnés" qui s'éloignent assez nettement du caractère "moisi" typique qui nous intéresse.



VIII



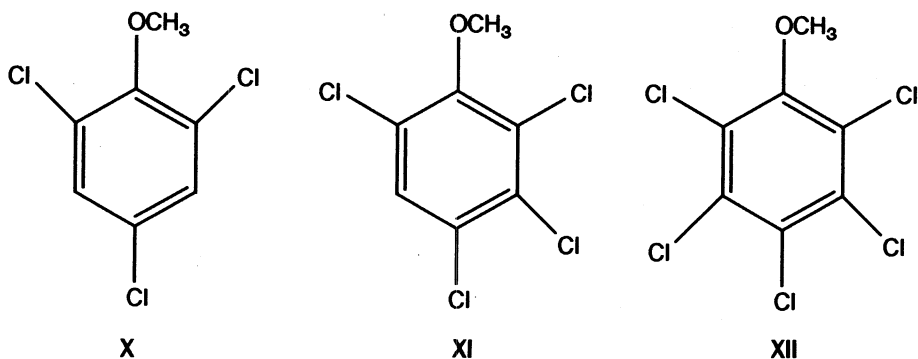
IX

VIII - IX — Les alcools et les cétones insaturés en C8 (octèn-1-ol-3, octèn-1-one-3)

Les chloroanisoles sont connus depuis longtemps pour être responsables d'odeurs "moisies" intenses dans les vins, le liège (TANNER et ZANNIER, 1981, 1983 ; DUBOIS et RIGAUD 1981), le Cognac (CANTAGREL et VIDAL, 1990), dans beaucoup d'autres produits (WHITFIELD et *al.*, 1986 ; WHITFIELD et LAST, 1986 ; WHITFIELD et *al.*, 1987). Il existe une grande variété de dérivés selon la substitution chlorée du noyau benzénique. Le 2,3,6-trichloroanisole est sûrement un des chloroanisoles les plus odorants (seuil de perception = 0,1 pg/l dans l'eau), mais parmi les composés identifiables dans les vins, ce sont le 2,4,6-trichloroanisole (X) et le 2,3,4,6-tétrachloroanisole (XI) qui possèdent l'odeur la plus intense et les seuils de perception les plus faibles (respectivement 0,03 et 4 ng/l dans l'eau) (GRIFFITHS, 1974). Le pentachloroanisole (XII) est beaucoup moins aromatique que les autres chloroanisoles (seuil de perception = 4 µg/l dans l'eau selon GRIFFITHS, 1974).

Les chloroanisoles proviennent de la méthylation des chlorophénols correspondants. Cette réaction est effectuée biochimiquement par un très grand nombre de micro-organismes et notamment de moisissures. A l'inverse des chloroanisoles, les chlorophénols sont des

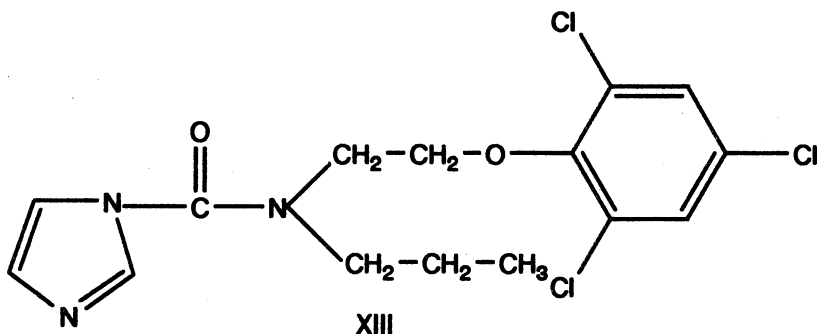
molécules peu odorantes et ce d'autant plus qu'elles sont généralement protonées au pH des vins. Les chlorophénols ont été largement utilisés par le passé comme insecticides pour le traitement des bois (GIORDANO, 1971) mais ils peuvent également avoir d'autres origines.



X - XI - XII — Les chloroanisoles : 2,4,6-trichloroanisole ;
2,3,4,6-tétrachloroanisole ; pentachloroanisole

Le chlore entre dans la composition de nombreux agents de nettoyage préconisés en œnologie. Cet élément, sous la forme Cl_2 , HClO ou ClO^- selon le pH, peut réagir avec les phénols pour former des polychlorophénols par une réaction de substitution électrophile (BURTTSCHELL et al., 1959) ; le chlore réduit sous forme d'ion chlorure Cl^- est en revanche inactif. Le chlore peut également être incorporé dans certaines molécules organiques comme les acides aminés soufrés. Les travaux de A. MAUJEAN et al. (1985) ont montré que certaines moisissures du genre *Penicillium* étaient capables de synthétiser elles mêmes du 2,4,6-trichlorophénol par la voie de l'acide shikimique en présence de chlore libre ou incorporé dans la méthionine ; la réaction est impossible en présence de simples chlorures. Ce chlorophénol peut à son tour être transformé en 2,4,6-trichloroanisole par le même micro-organisme.

La présence des chlorophénols a parfois été interprétée comme provenant d'une dégradation de pesticides organo-chlorés. Les problèmes d'accumulation rencontrés avec les insecticides de cette famille font que la plupart des molécules sont désormais interdites et remplacées par des organo-phosphorés. Les isomères de l'hexachlorocyclohexane (HCH) et en particulier le Lindane (γ -HCH) sont encore utilisés pour certains traitements insecticides. Plusieurs polychlorophénols ont été identifiés comme produits du métabolisme de cette substance chez les mammifères (CHADWICK et FREAL, 1972), mais on ne connaît pas les produits de sa dégradation par la microflore des caves. Certains fongicides comme le Chloranil™ (tétrachloro-*para*-benzo-quinone), retiré de la commercialisation en France, pourraient dans certaines conditions donner naissance à des chlorophénols. Le Prochloraz™ ou 1-[N-propyl-N-2-(2,4,6-trichlorophénoxy)-éthyl carbamoyl] imidazole (XIII), matière active du fongicide Sportak™ utilisé en grande culture, peut être dégradée en 2,4,6-trichlorophénol puis en 2,4,6-trichloroanisole par méthylation microbienne et altérer irrémédiablement la qualité des productions (BRICOUT et al., 1989).



XIII — Le Prochloraz™ ou 1-[N-propyl-N-2-(2,4,6-trichlorophénoxy)-éthyl carbamoyle] imidazole

Cette molécule n'a jamais été autorisée sur vigne et il n'existe pas à notre connaissance de structure voisine répertoriée dans l'index phytosanitaire. Parmi les herbicides, des molécules non commercialisées en France et notamment les dérivés de l'acide trichloro-2,3,6-benzoïque (TCBA), peuvent également se dégrader en substances susceptibles d'être métabolisées par la microflore en chloroanisoles, mais ils n'ont jamais été autorisés sur vigne.

Plusieurs dérivés dithio et trithiophosphates des chlorophénols et notamment du 2,4,6-trichlorophénol auraient été autorisés au Japon comme insecticides en grande culture (LEE et SIMPSON, 1993). A notre connaissance, aucune des matières actives entrant dans la composition des produits phyto-sanitaires autorisés en viticulture n'est susceptible de libérer des chloroanisoles ou des chlorophénols.

Dans ce travail nous présentons une synthèse des résultats obtenus dans notre laboratoire concernant l'identification et la quantification des composés à l'origine des odeurs moisiées des caves ainsi que les différentes circonstances favorisant la contamination et l'altération irréversible des vins logés en cuves ou en barriques.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I — EXTRACTION EN VUE DE L'IDENTIFICATION OU DU DOSAGE DES CHLOROPHÉNOLS ET DES CHLOROANISOLE DANS LES VINS (méthode de recherche)

500 ml de vin additionnés de 1 ml de pentadécane (étalon interne) à 10 mg/l dans l'éthanol et de 1 ml d'acide sulfurique au 1/3, sont extraits sous agitation magnétique (600 rpm) par 10, 5 et 5 ml de n-pentane bidistillé pendant 5 min. Les extraits organiques obtenus statique sont rassemblés et soigneusement décantés avant d'être lentement concentré à froid sous flux d'azote (N₂ R 100 ml/min) dans un tube de Kuderna-Danish jusqu'à 250 µl (dosage par fragmentométrie de masse) ou 20 µl (identification par spectrométrie de masse en mode balayage).

II — EXTRACTION DES CHLOROPHÉNOLS ET DES CHLOROANISOLES DANS LES MATRICES SOLIDES

0,5 à 5 g de matières sèches broyées grossièrement (600-800 mesh) sont pesées ($\pm 0,001$ g) et extraits en continu par 70 ml de dichlorométhane dans un soxhlet durant 12 h, en présence d'un étalon interne (1 ml de n-pentadécane à 10 mg/l dans l'éthanol). L'extrait obtenu est concentré à froid à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à 5 ml environ. Le concentrat est transvasé dans un tube de Kuderna-Danish et le ballon d'extraction soigneusement rincé ; la concentration finale à 250 μ l est terminée sous flux d'azote.

III — ANALYSE ET DÉTECTION PAR LE COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE-SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Les extraits obtenus sont injectés (1 à 3 μ l) en mode split-less (ratio de division = 55, temps de division = 30 s, température = 250 °C) sur une colonne capillaire de méthyl-silicones type HP-1 (25 m x 0,25 mm, 0,25 μ , He U = 10 KPa), programmée de 100 à 250 °C à raison de 3°C/min, puis de 250 à 290 °C à raison de 6°C/min, isotherme final à 290 °C pendant 5 min.

La détection est réalisée à l'aide d'un détecteur de masse HP-5970-b travaillant en impact électronique à 70 KeV (température de source et d'interface = 250 °C). L'acquisition est réalisée en mode balayage (30 à 400 uma, 1,9 scan/s) pour l'identification et en fragmentométrie de masse pour la quantification. Dans ce cas, l'acquisition sur des fragments sélectifs est programmée dans le temps ; l'identification des composés est effectuée d'après la concordance des temps de rétention et des ratios de masses caractéristiques par rapport à ceux des substances pures de référence. Les fragments caractéristiques utilisés sont :

2,4,6-trichlorophénol : m/z = 196, 198	(abréviation : TCP)
2,4,6-trichloroanisole = m/z = 197, 196, 212	(abréviation : TCA)
2,3,4,6-tétrachloroanisole : m/z = 246, 231, 203	(abréviation : TeCP)
2,3,4,6-tétrachlorophénol : m/z = 232	(abréviation : TeCA)
pentachloroanisole : m/z = 280, 265, 237	(abréviation : PCP)
pentachlorophénol : m/z = 266	(abréviation : PCA)

Dans ces conditions opératoires et avec ce type de matériel, il est possible de quantifier moins de 30 pg de soluté injecté avec un rapport signal/bruit supérieur ou égal à 3. A titre d'exemple, le chromatogramme de l'extrait d'un vin contaminé est donné en figure 1.

IV — DOSAGE DES CONTAMINANTS PRÉSENTS DANS LES ATMOSPHERES DE CAVE PAR PIÉGEAGE ET DÉSORPTION CHIMIQUE

Les contaminants organo-chlorés présents dans l'air de divers locaux ont été analysés par piégeage sur un adsorbant poreux inerte (adsorbant minéral du type bentonite ou polymère divinyl-benzène du type Porapak™, lavés au soxhlet par le méthanol et conditionnés à 180 °C sous flux gazeux). L'adsorbant est soit déposé en couche mince sur un support inerte au contact de l'atmosphère pendant 120 h, soit conditionné en tube à travers lequel l'air est pompé (200 ml/min durant 8 h).

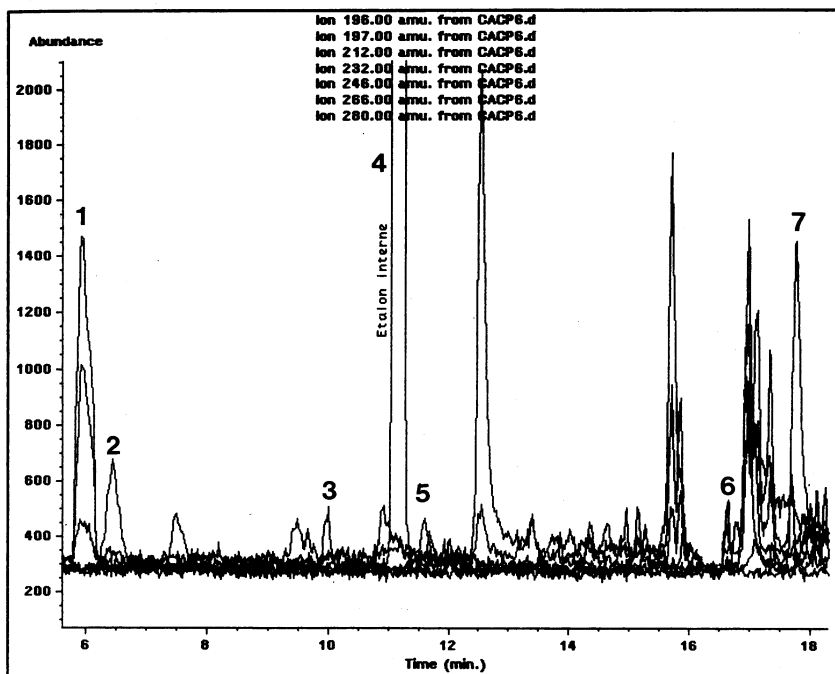


Fig. 1 — Exemple de la séparation et de la détection en fragmentométrie de masse des chlorophénols et des chloroanisoles dans un extrait de vin « moisi »

- 1 : 2,4,6-trichlorophénol (m/z : 196) ; 2 : 2,4,6-trichloroanisole (m/z = 197, 212) ;
 3 : 2,3,4,6-tétrachloroanisole (m/z : 246) ; 4 : étalon interne (pentadécane) ; 5 : 2,3,4,6-tétrachlorophénol (m/z = 232)
 6 : pentachloroanisole (m/z = 280) ; 7 : pentachlorophénol (m/z = 266)

Les substances piégées sont extraites au soxhlet par le dichlorométhane bidistillé et analysées dans les conditions précédemment décrites (Cf. II).

V — COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE-DÉTECTION OLFAC-TOMÉTRIQUE

Afin de repérer les composés volatils responsables d'odeurs à caractère "moisi", les extraits de vins ou de matières sèches contaminées sont injectés (3 μ l en mode split-less dans les conditions précédemment décrites) dans un chromatographe en phase gazeuse équipé d'une colonne à phase stationnaire moyennement polaire (phase greffée de poly-éthylène-glycol type BP-20™ de SGE, 50 m x 0,25 mm, 0,25 μ) ou apolaire (phase greffée de méthyl-polysiloxanes type OV-1™ de Macherey-und-Nagel, 50 m x 0,25 mm, 0,25 μ), programmé de 45 à 240°C à raison de 3°C/min. La détection est réalisée par reniflage de l'effluent de la colonne à l'aide du dispositif olfactométrique Odo-1 de SGE. On note le temps de réten-tion des odeurs à caractère "moisi" afin de pouvoir identifier les composés responsables de ces nuances lors du couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I — IDENTIFICATION DES COMPOSÉS RESPONSABLES D'ODEURS "MOISIES" DANS DES VINS CONSERVÉS EN CUVE

Différents vins, blancs et rouges en provenance de plusieurs régions de France et de différents pays étrangers et présentant tous un défaut organoleptique caractérisé de "moisi" avant d'être conditionnés en bouteille, ont été analysés par le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse et olfactométrie, après extraction de la fraction volatile par l'éther-pentane 1:1. Dans ces conditions, il est exclu que la contamination des vins étudiés proviennent du liège.

Par rapport aux produits purs disponibles injectés dans les mêmes conditions, et aux indices de rétention sur phase stationnaire de polarité similaire pour les composés non disponibles, on peut identifier dans ces échantillons une zone odorante caractéristique correspondant sans aucun doute au temps de rétention du 2,3,4,6-tétrachloroanisole.

Dans certains échantillons, on perçoit parfois des odeurs voisines de très faible intensité. Il est impossible de relier de façon certaine ces odeurs à l'un des autres composés cités en introduction. Le 2,3,4,6-tétrachloroanisole apparaît donc la principale, si ce n'est l'unique, cause de l'altération des vins étudiés. Le dosage confirme la présence en quantité parfois élevées de 2,3,4,6-tétrachloroanisole, de pentachloroanisole et parfois de traces de 2,4,6-trichloroanisole (Tableau I). Nos résultats confirment les observations antérieures de DUBOIS et RIGAUD (1981) effectuées également sur des vins "moisis" en cuves.

TABLEAU I

**Dosage des chlorophénols et des chloroanisoles
dans des échantillons de vins jugés "moisis" par dégustation**

Les chiffres représentent des μg par litre

Vins étudiés	TCP	TCA	TeCP	TeCA	PCP	PCA
Vin blanc moisi en cuve	ND	ND	2,90	1,09	0,05	0,27
Vin rosé fortement moisi en cuve	0,68	traces	0,96	14,00	5,90	6,50
Vin rouge A moisi en cuve	ND	ND	1,14	0,57	0,70	0,50
Vin rouge B moisi en barrique	0,04	ND	0,18	0,23	0,32	0,11

ND : non dosable

II — ORIGINES DES CHLOROANISOLES DANS LES CAVES ET DANS LES VINS

Les chloroanisoles ne sont pas des constituants normaux des vins, leur présence constitue donc une contamination. A partir de plusieurs cas concrets de pollution au cours d'un stockage en cave, nous avons recherché l'origine exacte de la contamination des vins. Nous présentons quelques exemples significatifs.

1°) Contamination de vins en cuve par l'atmosphère

Une grande partie des vins d'une exploitation viticole donnée présente plusieurs années de suite et avant leur conditionnement en bouteille des défauts aromatiques et gustatifs du type "moisi". Les vins jeunes sont toujours nets, mais ils acquièrent progressivement un défaut "moisi" au cours de leur élevage. Le défaut est toujours plus intense dans les vins conservés en cuve en acier inoxydable que dans les mêmes vins conservés en barriques. Sur place, ni la cave ni les vins dégustés ne possèdent de défaut apparent. En revanche, les mêmes échantillons dégustés à l'extérieur se révèlent fortement marqués.

L'analyse des vins met en évidence des teneurs importantes en 2,3,4,6-tétrachloroanisole, pentachloroanisole et en chlorophénols correspondants dans les échantillons jugés "moisis" à la dégustation ; par rapport aux vins élevés en barriques les vins conservés en cuves présentent des teneurs beaucoup plus élevées (Tableau II).

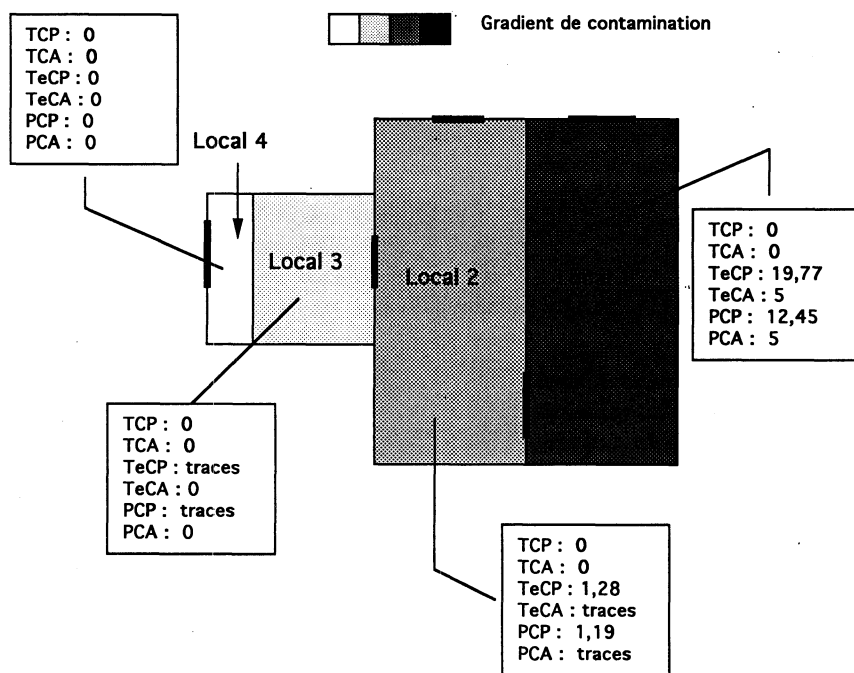
TABLEAU II
Teneurs en chlorophénols et en chloroanisoles
de différents vins d'une même cave jugés "moisis" ou sains à la dégustation
et de divers éléments en bois traités de la cave

	TCA	TCP	TeCA	TeCP	PCA	PCP	Odeur
Vins analysés en mars 1993 (µg/l)							
Primeur rouge	ND	ND	0,39	3,23	0,59	3,24	moisie
Rosé 1992 en cuve	ND	0,68	14,00	0,96	5,90	6,50	très moisie
Rouge en bouteille	ND	ND	0,57	1,14	0,70	0,50	moisie
Blanc 1992	ND	ND	ND	traces	ND	traces	nette
Rouge 1992 en cuve	ND	ND	1,09	traces	3,04	traces	très moisie
Rouge 1991 en barrique	ND	ND	0,10	0,74	0,21	traces	nette
Éléments en bois de la cave (mg/kg)							
Caisse-palette ancienne	ND	ND	12,90	50,40	11,95	741,10	moisie
Caisse-palette neuve	ND	ND	23,15	153,80	14,60	1134,00	moisie

ND : non dosable

Le contrôle de la qualité de l'atmosphère de cette installation met en évidence une contamination variable des différents locaux (figure 2). Le chai de stockage des bouteilles est fortement contaminé par des chlorophénols et des traces de chloroanisoles, la cave de vinification directement attenante l'est aussi mais à un degré moindre, les autres locaux, plus éloignés ou sans communication avec le premier local, ne sont pas atteints par ces polluants.

Dans le local de stockage, les bouteilles sont stockées dans des caisses-palettes en bois plus ou moins âgées. L'analyse du bois de ces palettes révèle la présence de chlorophénols et de chloroanisoles dans le bois en quantités très élevées (Tableau II).



Local 1 : chai de stockage des bouteilles dans des caisses-palettes en bois - **Local 2** : cuvier de vinification
Local 3 : chai d'élevage en barriques - **Local 4** : chai de vieillissement en bouteilles
 ─── : portes de communication

Fig. 2 — Exemple de la contamination de l'atmosphère de différentes parties d'une même cave par analyse de l'atmosphère piégée sur un adsorbant poreux (résultats exprimés en $\mu\text{g/g}$ d'adsorbant)

Les chloroanisoles sont des composés peu volatils mais possédant une faible tension de vapeur. Cette propriété explique pourquoi il est facile de retrouver des quantités élevées de ces contaminants lors du piégeage statique ou dynamique de l'atmosphère des caves sur un adsorbant inerte. Une fois que ces composés se retrouvent en phase gazeuse, ils peuvent facilement envahir toute l'atmosphère du local où est entreposée la source contaminée, mais également diffuser dans d'autres parties distantes de la cave au gré des courants d'air et polluer des locaux *a priori* sains.

Les contaminants en phase gazeuse peuvent très facilement se dissoudre dans les vins lors de leur pompage, grâce à l'émulsion gazeuse inévitable qui accompagne cette opération. Les fluctuations de volume des vins stockés, en relation avec les écarts de températures de la cave, peuvent également être responsables d'une dissolution d'air vicié dans les cuves ou les barriques et par là de la contamination des vins. L'altération d'un vin est significative pour des concentrations atteignant 10 ng/l pour le 2,4,6-trichloroanisole et environ 150 ng/l pour le 2,3,4,6-tétrachloroanisole. Le pentachloroanisole est beaucoup moins odorant mais nous ne connaissons pas les éventuels effets additifs, voire synergiques, avec les autres anisoles.

Dans le cas précis du chai examiné, ce sont les caisses-palettes usagées qui libèrent dans l'atmosphère des chloroanisoles provenant de la méthylation microbienne des chlorophénols utilisés pour le traitement du bois. Parmi les chloroanisoles formés, c'est le 2,3,4,6-tétrachloroanisole qui est essentiellement responsable du goût "moisi" détecté dans les vins de cette propriété.

Une des principales difficultés rencontrées lors de l'identification du défaut dans les caves réside dans la quasi impossibilité de percevoir l'odeur "moisie" lorsqu'on se trouve dans l'atmosphère contaminée. En effet, les teneurs en chlorophénols et en chloroanisoles sont parfois si élevées que les organes sensoriels olfactifs sont rapidement et durablement saturés. Cette réaction, particulièrement intense lorsqu'il s'agit du 2,4,6-trichloroanisole et du 2,3,4,6-tétrachloroanisole, a déjà été signalée par GRIFFITHS (1974). En conséquence, l'odeur "moisie" des vins ne devient réellement perceptible que lorsque les échantillons sont dégustés en dehors de l'ambiance contaminée.

TABLEAU III

Exemples de teneurs en chlorophénols et en chloroanisoles de différents matériaux prélevés dans des caves vinicoles et traités avec des préparations à base de chlorophénols.

Les chiffres représentent des mg par kg

Matériaux	TCP	TCA	TeCP	TeCA	PCP	PCA
Charpentes						
- non traitée	ND	ND	ND	ND	ND	ND
- traitée	0,7	ND	128,0	ND	1762,0	0,5
- traitée et moisie	ND	ND	16,0	1,8	915,0	16,0
Caisse-palette						
- neuve traitée Fabricant A	traces	ND	277,0	0,9	312,0	1,5
- neuve traitée Fabricant B	99	ND	15141,0	0,9	17597,0	1,7
- ancienne traitée et moisie	ND	ND	4913,0	55,0	6718,0	85,0
Caisse bois neuve						
	ND	ND	394,0	ND	6288,0	ND
Panneau de particules						
- support isolant neuf	ND	ND	8,0	ND	72,5	ND
- support isolant moisi	ND	ND	6,0	10,0	82,0	55,0
- aggloméré d'ameublement	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Plancher traité						
	ND	ND	396,0	7,0	7053,0	110,0
Lambris						
- neuf traité	ND	ND	320,0	ND	130,0	ND
- vieux moisi	3,0	ND	2533,0	219,0	4289,0	266,0

ND : non dosable

L'analyse de différents matériaux en bois prélevés dans plusieurs caves vinicoles révèle qu'un grand nombre d'entre eux ont été traités par des produits à base chlorophénols (Tableau III). La matière active employée est généralement le pentachlorophénol, contenant comme impureté du 2,3,4,6-tétrachlorophénol et parfois du 2,4,6-trichlorophénol, souvent associé à des dérivés de l'hexachlorocyclohexane (Lindane, Dieldrine, α -HCH, β -HCH) (Figure 3). Les caisses-palettes en bois, largement utilisées pour le stockage des vins en bouteilles, ainsi que les lambris font partie des éléments les plus fortement contaminants. Les caisses en carton fabriquées à partir de pâte à papier blanchie au chlore ou de bois de récupération éventuellement traités aux chlorophénols, peuvent à leur tour générer des chloroanisoles, mais les quantités restent généralement trop faibles pour représenter une source de contamination de la cave. En revanche, le carton fixe facilement les odeurs de l'atmosphère et exhale intensément l'odeur "moisie".

Des caves naturelles (carières) peuvent être contaminées de la même manière. Nous avons aussi mis en évidence des contaminations de la roche par applications de peintures ou de fixateurs contenant des chlorophénols qui se sont rapidement dégradés dans l'ambiance toujours humide de ces caves (résultats non présentés).

2°) Contamination de l'atmosphère et des récipients de stockage

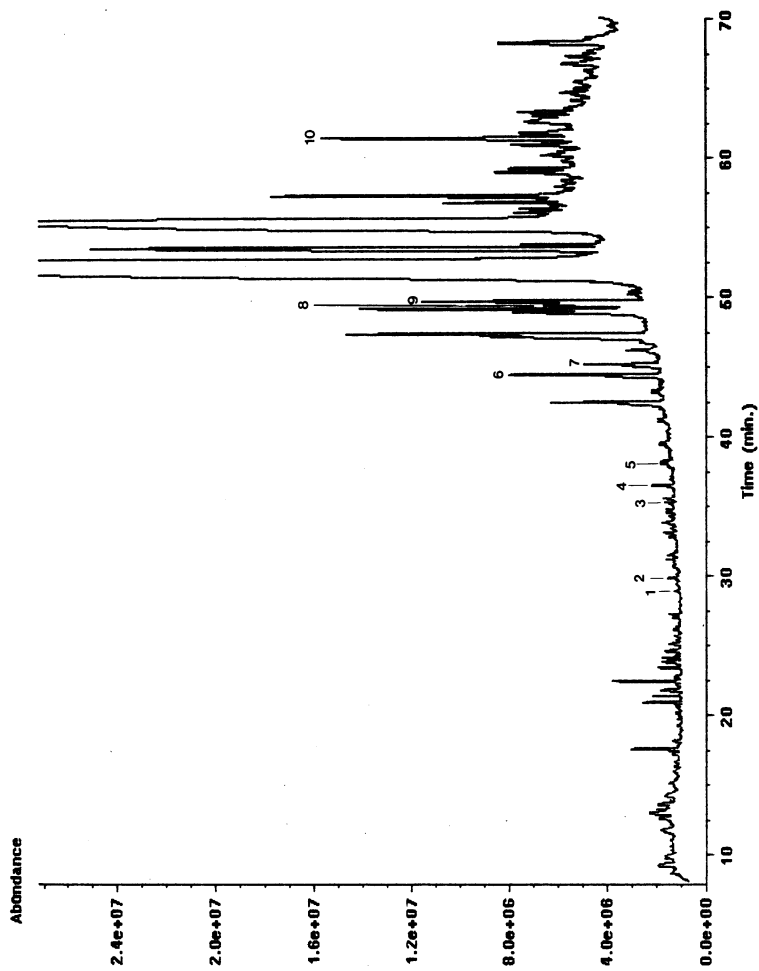
Des chais d'élevage de vins rouges en barriques dont le plafond est isolé par de la laine de verre supportée par un faux plafond en lambris ou en panneaux de particules agglomérées présentent parfois des atmosphères polluées et des vins plus ou moins marqués par le caractère "moisi".

L'analyse des vins conservés en barriques met effectivement en évidence des teneurs élevées en chloroanisoles dans les lots jugés "moisis" (Tableau V). L'analyse des lambris et des panneaux de particules en bois révèle la présence de chlorophénols et de chloroanisoles en quantités élevées. Les chais d'élevage dont l'atmosphère est nécessairement humide facilitent le développement des moisissures qui transforment lentement les chlorophénols du bois en chloroanisoles malodorants. Ces composés ont diffusé du plafond vers l'atmosphère, de l'atmosphère dans le bois des barriques et du bois dans le vin. L'analyse des douelles de fûts usagés révèlent la présence des mêmes contaminants dans toute la masse du bois avec un gradient croissant de l'extérieur vers l'intérieur de la barrique. La conservation d'une solution hydro-alcoolique modèle simulant un vin dans ces fûts placés dans une atmosphère saine et aérée aboutit à une contamination très importante et à une altération organoleptique nette (Tableau IV).

L'analyse de parois de cuve en béton et de murs de cave maçonnés révèlent parfois des contaminations mais qui restent généralement faibles (Tableau V). Selon le niveau de pollution et le volume des contenants, les parois de ces cuves peuvent éventuellement contaminer les vins qui y sont stockés.

3°) Contamination des vins par des matières sèches

Le stockage de produits destinés au traitement ou au conditionnement des vins dans des atmosphères viciées peut avoir une influence directe sur la pollution des vins (Tableau VI).



1 : 2,4,6-trichloroanisole - 2 : 2,4,6-trichlorophénol - 3 : α -hexachlorocyclohexane (α -HCH) - 4 : 2,3,4,6-tétrachloroanisole - 5 : 2,3,4,6-tétrachlorophénol
 6 : pentachloroanisole ; 7 : pentachlorophénol ; 8 : β -hexachlorocyclohexane (β -HCH) - 9 : γ -hexachlorocyclohexane (Lindane) 10 : Dieldrine

Fig. 3 — Insecticides organo-chlorés identifiables dans un extrait de panneaux de particules agglomérées utilisés comme support d'isolant

TABLEAU IV**Contamination des barriques par une atmosphère polluée.**

Pour les lambris et les douelles, les chiffres représentent des mg par kg
pour le vin et la solution des ng par litre

Produit analysé	TCP	TCA	TeCP	TeCA	PCP	PCA
Lambris "moisiss"	3,4	traces	2533,0	219,0	4289,0	266,0
Douelles des barriques						
- face externe	0,7	ND	50,5	4,5	143,0	11,0
- milieu	0,1	ND	15,0	3,0	57,0	7,0
- face interne/vin	traces	ND	2,5	0,2	5,0	0,3
Vin conservé dans les barriques	5,0	ND	180,0	230,0	320,0	110,0
Solution hydro-alcoolique conservée 1 mois en barrique						
- stockage dans le chai contaminé	ND	ND	392,0	198,0	705,0	186,0
- stockage dans un chai sain	ND	ND	282,0	99,0	355,0	75,0

ND :non dosable

TABLEAU V

**Incidence de la contamination des caves
par des bois traités sur la pollution des maçonneries de caves.**

Sauf indication contraire les chiffres représentent des mg par kg

	TCP	TCA	TeCP	TeCA	PCP	PCA
Cave A						
Charpentes en bois traité contaminante	0,7	ND	128,0	ND	1762,0	0,5
Mur de cave en siporex	ND	ND	ND	ND	traces	ND
Cuve béton en sous-sol	ND	ND	ND	ND	traces	ND
Vin blanc en cuve (µg/l)	ND	ND	traces	5,0	3,5	traces
Cave B						
Charpente en bois traité contaminante	ND	ND	7103,0	0,7	6186,0	1,0
Mur en béton de la cave	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Vin blanc en cuve (µg/l)	ND	ND	3,0	1,0	0,3	traces
Cave C						
Caisse-palette en bois traité dans cave de stockage et de conditionnement	0,7	ND	4913,0	55,0	6718,0	85,0
Mur de cave de stockage	ND	ND	4,5	0,1	8,2	0,7
Mur de cave de vinification (sans caisse-palette)	ND	ND	0,2	0,3	0,8	0,2

ND :non dosable

TABLEAU VI**Contamination de matières sèches destinées au traitement
et au conditionnement des vins dans une atmosphère polluée.**

Les chiffres représentent des mg/kg

	TCP	TCA	TeCP	TeCA	PCP	PCA
Caisse-palette traitée	ND	ND	154,0	23,0	1134,0	15,0
Atmosphère de la cave de stockage piégée sur bentonite	ND	ND	traces	20,0	traces	12,5
Bouchons stockés 6 mois dans la cave	8,0	ND	2983,0	12,5	10579,0	40,0
Bouchons neufs en poche étanche	ND	ND	ND	ND	40,0	ND
Kieselghur blanc	ND	ND	0,3	0,2	7,5	0,5
kieselghur rose	ND	ND	ND	ND	traces	ND

ND : non dosable

TABLEAU VII**Mise en évidence d'une double contamination d'un vin rouge
par l'atmosphère de la cave et du bouchon de liège.**Le vin est embouteillé le même jour avec un lot unique de bouchons.
Analyse après 12 mois de vieillissement en bouteilles

	TCP	TCA	TeCP	TeCA	PCP	PCA	Odeur
Bouteille 1							
Vin ($\mu\text{g}/\text{bouteille}$)	traces	ND	0,60	0,08	0,69	0,24	pas nette
Bouchon ($\mu\text{g}/\text{bouchon}$)	traces	ND	0,17	ND	0,56	traces	nette
Bouteille 2							
Vin ($\mu\text{g}/\text{bouteille}$)	0,38	0,07	1,18	0,14	1,48	0,41	moisie
Bouchon ($\mu\text{g}/\text{bouchon}$)	3,44	1,24	0,69	0,15	1,31	0,45	moisie

ND : non dosable

Bouteille 1 :Contamination du vin > contamination du bouchon
=> Contamination du vin par l'atmosphère de cave**Bouteille 2 :**Contamination du vin \leq contamination du bouchon
=> Contamination du vin par le liège et l'atmosphère

La bentonite, utilisée pour la stabilisation protéique des vins blancs, possède une structure microscopique lamellaire extrêmement favorable au piégeage de molécules organiques entre ses feuillets élémentaires. Ces mêmes molécules pourront être libérées dans le vin lors de son traitement. Les terres de filtration à base de diatomées présentent des aptitudes à la fixation des chlorophénols et des chloroanisoles variables mais toujours plus faibles que celles des bentonites. En cas de conservation prolongée, il semble évident que ces matières pourraient également contaminer les vins à l'occasion des opérations de filtration. Les plaques filtrantes, mélanges de fibres de cellulose et de kieselghur, sont également sensibles à la fixation des mauvaises odeurs. Les lavages abondants recommandés avant leur utilisation devraient normalement éliminer la majeure partie des contaminants.

La structure cellulaire et l'abondance des lipides entrant dans la composition du liège rendent les bouchons particulièrement sensibles aux contaminations par les chlorophénols et les chloroanisoles polluants l'atmosphère du local où ils sont stockés. En cas de conservation prolongée, ces bouchons peuvent ultérieurement céder des quantités suffisantes de chloroanisoles pour communiquer au vin un défaut du type "goût de bouchon". Il devient alors difficile de faire la part entre la contamination due strictement à la cave et au bouchon. Seule l'analyse du liège et du vin permet de remonter à l'origine de l'altération. En effet, à la différence du "goût de cave moisie", essentiellement causé par le 2,3,4,6-tétrachloroanisole et le pentachloroanisole, le "goût de bouchon typique", qui est aussi un goût de "moisi", est le plus souvent lié à la présence de 2,4,6-trichloroanisole, molécule extrêmement minoritaire, voire le plus souvent absente dans le premier cas (Tableau VII). Cependant, on retrouve également des goûts de bouchons imputables au 2,3,4,6-tétrachloroanisole. L'établissement d'un bilan des quantités de contaminants présents à la fois dans le vin et dans le bouchon permet néanmoins de conclure objectivement.

III — PRÉVENTION ET TRAITEMENT DE LA CONTAMINATION DES CAVES ET DES VINS

1°) Contamination de l'atmosphère

Il faut avant tout connaître précisément la nature des produits employés pour le traitement des bois et des isolants utilisés dans la cave de stockage du vin. L'utilisation du pentachlorophénol et de tous ses dérivés est sévèrement réglementée dans la CEE (J.O. N° L 85/34 du 5/4/91). L'emploi de formulations contenant moins de 0,1 % en masse de ces produits, concentration encore dangereuse, reste néanmoins autorisée. Des produits de remplacements des chlorophénols sont disponibles (pyréthrénoïdes, sels fluorés...), mais le faible coût et l'habitude du traitement aux polychlorophénols font que ce type de protection a été largement employé par les fabricants.

Il est bien sûr totalement illusoire de penser éliminer durablement la microflore des chais par de quelconques traitements désinfectants, il est en revanche impératif d'éliminer tous les éléments traités du local de stockage des vins en cuve ou en fût ; les vins en bouteilles ne sont normalement plus sensibles à la contamination. Dans le cas de charpentes traitées, il est nécessaire d'isoler la charpente par un faux plafond et d'aménager une ventilation correcte des combles.

Il est fortement conseillé de ne pas stocker de caisse-palettes en bois traité en présence de vin en vrac. Même si elles n'ont jamais été mouillées, elles peuvent contaminer les vins en chlorophénols, notamment en pentachlorophénol. Il est possible d'utiliser des caisses en bois non traité, mais il faut alors éviter de les conserver dans un local trop humide car leur vieillissement est fortement accéléré.

Les locaux doivent toujours avoir une certaine ventilation afin d'éviter une humidité relative excessive et une accumulation des contaminants. L'élimination de la source de pollution et l'augmentation de la ventilation de la cave sont généralement suffisants pour remédier au problème (Tableau VIII).

TABLEAU VIII

Evolution de la contamination d'une cave après élimination de la source de pollution.

Les chiffres représentent des mg par kg de bois ou d'adsorbant

	TCP	TCA	TeCP	TeCA	PCP	PCA
Caisse-palette en cave de stockage	ND	ND	154,00	23,00	1134,00	15,00
Atmosphère de la cave						
<i>Cave de stockage des caisses</i>						
- avant élimination des caisses	ND	ND	0,02	19,80	0,02	12,50
- après élimination (1 mois)	ND	ND	0,02	0,09	0,02	2,20
<i>Cave de vinification communicant avec la cave de stockage</i>						
- avant élimination des caisses	ND	ND	0,02	1,30	0,02	1,20
- après élimination (1 mois)	ND	ND	ND	0,06	ND	0,65

ND : non dosable

2°) Contamination des vins

Afin de prévenir toute contamination au cours des traitements (collage, filtration, bouchage...), tous les produits destinés à entrer en contact avec le vin doivent être stockés dans des ambiances saines. L'humidité et le confinement sont toujours néfastes à la bonne conservation des matières sèches, il est par ailleurs inutile d'avoir un stock de produits dépassant les besoins immédiats de la cave. Il est également important de s'assurer de la qualité des installations de stockage du distributeur des produits œnologiques lorsque leurs emballages ne sont pas garantis étanches aux gaz.

L'utilisation de désinfectants chlorés n'est pas à proscrire totalement. En revanche, pour l'entretien des matériaux en bois, il est préférable d'utiliser des produits de substitution (ammoniums quaternaires, soude, formaldéhyde, peroxydes...).

Dans le cas d'une contamination des contenants de stockage, s'il s'agit de barriques il est peu probable qu'elles soient réutilisables, dans le cas de foudre tout dépend du degré de contamination du bois. Pour les cuves, le lavage des parois en acier inoxydable ou revêtues avec une solution alcaline est normalement efficace. Dans le cas de cuve en béton non revêtu, le simple détartrage peut être insuffisant si la cave est contaminée depuis longtemps. Il est alors préférable de faire procéder à un revêtement de la cuve par des résines alimentaires correctement appliquées. Toutes ces procédures impliquent bien évidemment d'avoir résolu au préalable le problème de contamination de l'atmosphère.

CONCLUSION

Contrairement à une idée répandue, le bouchon de liège n'est pas responsable à part entière des "goûts de mois" dans les vins. Dans les nombreux cas que nous avons examinés, la contamination intervient pendant le stockage du vin dans une cave dont l'atmosphère est polluée par du 2,3,4,6-tétrachloroanisole extrêmement malodorant.

Les chloroanisoles proviennent de la dégradation microbiologique des chlorophénols utilisés pour le traitement insecticide de nombreux matériaux à base de bois. L'usage de ces produits et en particulier du pentachlorophénol est déjà sévèrement réglementé, mais il est souhaitable qu'ils soient purement et simplement interdits. Il est capital de ne pas utiliser de matériaux traités dans les locaux destinés au stockage ou au conditionnement de vins en vrac car l'atmosphère les contaminera inévitablement. Les chloroanisoles et les chlorophénols passent facilement en phase gazeuse. Ils peuvent envahir toute l'atmosphère du local où est entreposée la source contaminée, mais également diffuser dans d'autres parties distantes de la cave au gré des courants d'air et polluer des locaux *a priori* sains.

Les travaux de réfection et d'isolation des caves au cours des dix dernières années sont vraisemblablement à l'origine de l'augmentation importante du nombre de vins présentant un caractère "moisi" pendant leur stockage. En effet, la majorité des matériaux employés contenaient alors des polychlorophénols. Par ailleurs, l'amélioration de l'isolation des caves a souvent pour effet une augmentation de leur confinement. Un renouvellement insuffisant de l'air favorise bien évidemment l'augmentation de l'humidité relative de l'atmosphère, le développement des micro-organismes et l'augmentation de la teneur en contaminants nauséabonds susceptibles d'altérer les qualités organoleptiques des vins.

Manuscrit reçu le 16 novembre 1993 ; accepté pour publication le 12 janvier 1994.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AMON S.M, WANDEPEER J.M. et SIMPSON R.F., 1989. Compounds responsible for cork taint. *Australian Wine Industry Journal*, 2, 62-69.

- BRICOUT J., BRUNERIE P. et DESMARET P., 1989. Influence of fungicide on the quality of fennel essential oil. *In proceedings of the "11th International congress of essential oils, fragrances and flavours"*, New-Delhi, India, BHATTACHARYA S.C., SEN N. et SETHI K.L (ed.) ;
- BURSTTSCHHELL R.H., ROSEN A.A., MIDDLETON F.M. et ETTINGER M.B., 1959. Chlorine derivatives of phenol causing taste and odour. *Jour. AWWA*, 205-214.
- CANTAGREL R. et VIDAL J.P., 1990. Recherche des composés responsables du goût de bouchon dans les cognacs. *Bull. O.I.V.*, 709-710, 253-276.
- CHADWICK R.W. et FREAL J.J., 1972. The identification of five unreported Lindane metabolites recovered from rat urine. *Bull. Envir. Cont. Tox.*, 7, °2/3, 137-146.
- DUBOIS P. et RIGAUD, 1981. A propos de goût de bouchon. *Vignes et Vins*, **301**, 318-325.
- GERBER N.N., 1968. Geosmin from microorganisms is *trans*-1,10-dimethyl-*trans*-9-decalol. *Tetrahedron Letters*, **25**, 2971-2974.
- GERBER N.N., 1979. Volatile substances from Actinomycetes : their role in the odor pollution of water. *CRC Critical reviews in Microbiology*, 191-214.
- GIORDANO G., 1971. *Technologica del legno*, Vol I, Utet Ed.
- GRIFFITHS N.S., 1974. Sensory properties of chloroanisoles. *Chem. Senses and Flavor*, **1**, 187-195.
- HEIMAN W., RAPP A., VÖLTER I. et KNIPSER W., 1983. Beitrag zur Entstehung des Korktons in Wein. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **4**, 103-107
- KAMINSKI E., STAWICKI S. et WASOWICZ E., 1974. Volatile flavor compounds produced by molds of *Aspergillus*, *penicillium* and *Fungi imperfecti*. *Applied Microbiology*, **27**, n°6, 1001-1004.
- LEE T.H. et SIMPSON R.F., 1993. Microbiology and chemistry of cork taints in wine. *In "Wine microbiology and biotechnology"*, FLEET T. Ed., Hardwood academic publishers, 353-372.
- MAGA J.A., 1987. Musty/earthy aromas. *Food Reviews International*, **3**, n°3, 269-284.
- MARTIN J.F., FISHER T.H. et BENNET L.W., 1988. Musty odor in chronically off-flavored channel catfish. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 1257-1260.
- MAUJEAN A., MILLERY H. et LEMARESQUIER P., 1985. Explications biochimiques et métaboliques de la confusion entre goût de bouchon et goût de moisi. *Rev. Fr. Oenol.*, **99**, 55-62.

- TANNER H., 1982. In "13e Colloque international de chimie du vin", 7-9 Septembre 1982, Bolzano.
- TANNER H. et ZANNIER C., 1981. Zur analytischen Differenzierung von muffton und Korgeschmack in Weinen. *Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau*, **26**, 752-757.
- TANNER H. et ZANNIER C., 1983. Über die Bestimmung der chloroanisole in wein und in korkstopfen, Schweiz Z. Obst. *Weinbau*, **119**, 468-473.
- WHITFIELD F.B. et LAST J.H., 1986. Off flavours encountered in packaged foods. In "The shelf life of foods and beverages". *Proceedings of the 4th International Flavor conference*, G. CHARALAMBOUS Ed., Elsevier science publishers, Amsterdam, 483-500.
- WHITFIELD F.B., Mc BRIDE R.L. et NGUYEN L., 1987. Flavour perception of chloroanisoles in water and selected processed foods. *J. Sci Food Agric.*, **40**, 357-365.
- WHITFIELD F.B., SHAW K.J. et NGUYEN L., 1986. Simultaneous determination of 2,4,6-trichloroanisole, 2,3,4,6-tetrachloroanisole and pentachloroanisole in foods and packaging materials by high resolution gas chromatography-multiple ion monitoring mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric.*, **37**, 85-96.