

RÉSOLUTION OIV-OENO 459-2013

MONOGRAPHIE SUR LES LEVURES INACTIVÉES

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE

Vu l'article 2 paragraphe 2 iv de l'accord du 3 avril 2001 portant création de l'Organisation internationale de la vigne et du vin,

CONSIDÉRANT les travaux du groupe d'experts « Spécifications des produits œnologiques »

DÉCIDE de compléter le « Codex œnologique international » par la monographie suivante :

LEVURES INACTIVÉES

1. OBJET, ORIGINE ET DOMAINE D'APPLICATION

Les levures inactivées sont utilisées en tant que nutriments pour les levures au début et au cours de la fermentation alcoolique et également pour favoriser la réhydratation des levures sèches actives. Elles peuvent aider à réduire le niveau en Ochratoxine A, aux étapes des opérations d'élevage et de clarification des vins. ^[1]

Elles sont issues de biomasses de *Saccharomyces* spp, inactivées par la chaleur et/ou par une modification du pH. Elles peuvent avoir subi un début d'autolyse naturelle sous l'action des enzymes endogènes. Les techniques de production sont celles utilisées conventionnellement pour les biomasses de levures. Il n'y a aucun ajout d'antibiotique dans le procédé ni de composés autres que ceux nécessaires à la croissance de la levure.

Lorsque les levures inactivées proviennent de levures génétiquement modifiées, celles-ci doivent avoir été soumises à l'autorisation préalable des autorités compétentes.

2. ETIQUETAGE

Doivent figurer sur l'étiquette:

- Le nom du genre et de l'espèce des levures inactivées

- La teneur en azote organique
- Les additifs éventuels
- Le mode d'emploi
- Le numéro du lot ainsi que la date limite d'utilisation et les conditions de conservation dans des conditions définies de température, d'humidité et d'aération.
- L'indication que les levures inactivées proviennent de levures obtenues par modifications génétiques ainsi que le caractère modifié si cela est le cas.

3. CARACTÈRES

Elles se présentent le plus souvent sous forme de granules, poudre ou flocons de couleur jaune claire à ocre jaune avec une odeur caractéristique de levure

Les levures inactivées sont en partie solubles dans l'eau, la partie insoluble étant supérieure ou égale à 60% m/m de la matière sèche.

4. LIMITES ET MÉTHODES D'ESSAIS

4.1. Teneur en azote

4.1.1. La teneur en azote total, exprimée en élément N, est inférieure à 10% de la matière sèche, selon la méthode d'analyse décrite au Chapitre II du Codex Œnologique International.

4.1.2. La teneur en azote ammoniacal, exprimée en élément N, doit être inférieure à 0,5% de la matière sèche, elle est déterminée selon la méthode d'analyse suivante.

- Placer 1 g de matière sèche dans 100 ml de KCL 0,5 M,
- agiter pendant 20 à 30 mn,
- introduire les 100 ml dans l'appareil à entraînement par la vapeur d'eau décrit au Chapitre II du Codex Œnologique International pour le dosage de l'azote total, 50 ml d'hydroxyde de sodium à 30% (R),
- distiller en recueillant 250 ml dans une fiole conique contenant 5 ml d'acide borique à 4 p. 100 (R), 10 ml d'eau et 2 à 3 gouttes d'indicateur mixte au rouge de méthyle et bleu de méthylène (R),

- titrer le distillat par l'acide chlorhydrique 0,1 M jusqu'au virage au violet rose de l'indicateur.
- 1 ml de solution d'acide chlorhydrique correspond à 1,4 mg d'azote N.
- Soit n le nombre de ml versé :
- 100 g de levures sèches inactivées contiennent 0,14 n g d'azote ammoniacal exprimé en élément N.

4.1.3. La teneur en azote organique est obtenue par la différence entre la teneur en azote total et la teneur en azote ammoniacal.

4.1.4. La teneur en acides aminés libres et solubles et en petits peptides doit être inférieure à 10% de matière sèche en équivalent glycine, selon la méthode DNFB décrite en annexe, soit 1,9 % de la matière sèche exprimée en élément N

4.2. Humidité

Elle est mesurée par la perte de poids de 5 g de produit, séché à 105 °C jusqu'à poids constant (environ 3 heures)

La teneur maximale doit être inférieure à 7 %.

4.3. Plomb

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

La teneur doit être inférieure à 2 mg/kg de matière sèche.

4.4. Mercure

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

La teneur doit être inférieure 1 mg/kg de matière sèche.

4.5. Arsenic

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

La teneur doit être inférieure 3 mg/kg de matière sèche.

4.6. Cadmium

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

La teneur doit être inférieure 1 mg/kg de matière sèche.

4.7. Levures revivifiables

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

Le nombre doit être inférieur ou égal à 102 UFC/g

4.8. Moisissures

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

Le nombre doit être inférieur à 103 UFC/g de matière sèche.

4.9. Bactéries lactiques

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

Le nombre doit être inférieur à 103 UFC/g de matière sèche.

4.10. Bactéries acétiques

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

Le nombre doit être inférieur à 103UFC/g de matière sèche.

4.11. Salmonelles

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 25 g de matière sèche.

4.12. Escherichia coli

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g de matière sèche.

4.13. Staphylocoques

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g de matière sèche

4.14. Coliformes

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex Œnologique International

Le nombre doit être inférieur à 102 UFC/g de matière sèche.

5. ADDITIFS

Ils doivent être conformes aux réglementations en vigueur.

6. CONSERVATION

Les levures inactivées doivent toujours être conservées à l'abri de l'air dans des sachets scellés. Stocker dans un endroit frais et sec.

Dans tous les cas, se référer aux prescriptions du fabricant.

Annexe 1

Méthode au Dinitrofluorobenzène

1. Introduction

Cette méthode permet de doser rapidement l'azote aminé dans une solution biologique par rapport à une gamme étalon réalisée avec une solution de glycine.

2. Domaine d'application

Produits œnologiques d'origine végétale ou animale

3. Définition

Le Dinitrofluorobenzène ou DNFB réagit avec les fonctions NH₂ libres contenues dans

les acides aminés pour donner un composé de couleur jaune vif dosé par colorimétrie à 420 nm. La réaction s'effectue à un pH > 9,3.

4. Réactifs et produits

Réactifs :

- Borax ou Tétraborate de sodium,
- Dinitrofluorobenzène,
- Acide chlorhydrique 10 M,
- Glycine.

5. Appareillage

- tubes à hémolyse,
- micropipettes,
- Spectrophotomètre pour mesures dans le visible,
- Bain d'eau à 60 °C.

6. Échantillonnage

- Préparer une solution de tétraborate de sodium à 5% dans de l'eau pure,
- Préparer une solution de DNFB : introduire 130 μ l de DNFB dans 10 ml d'éthanol à 95 % vol.,
- Préparer une solution d'acide chlorhydrique 2M,
- Réaliser une gamme étalon à partir d'une solution mère de glycine à 2 g/l (M=75,07 g) par ex 0,50 mg/l, 100 mg/l, 200 mg/l, 500 mg/l,
- Préparer une solution à 2 g/l du produit à doser.

7. Mode opératoire

- Dans un tube à hémolyse introduire :
- 380 μ l de Borax à 5%,
- 20 μ l de l'échantillon à doser,
- 20 μ l de solution au DNFB,
- procéder à l'identique pour la gamme de glycine,
- Agiter et placer au bain d'eau à 60 °C pendant 30 min,
- Ajouter 3 ml de HCl 2M,
- Agiter et lire l'absorbance spécifique à 420 nm pour l'échantillon,
- Réaliser une droite étalon avec la gamme de Glycine.

8. Résultats

Reporter la valeur de l'absorbance à 420 nm de l'échantillon sur la droite étalon.
Les résultats sont exprimés en g/l de Glycine.

^[1] Code des bonnes pratiques vitivinicoles en vue de limiter au maximum la présence d'OTA dans les produits issus de la vigne.