



FLASH INFO VENDANGES 2020

N°3

Ce troisième FLASH INFO Vendanges est le dernier de la série des notes d'informations que nous avons souhaité communiquer durant ces vendanges et vinifications 2021. L'objectif de ce document est de revenir sur quelques faits marquants observés à la suite des écoupages (partie 1) mais également présenter quelques innovations qui pourront vous être utiles en ce début d'élevage (partie 2).

En fin de document, vous trouverez une rapide évocation des travaux de thèse de Paul Le Montagner. Au printemps, Paul a débuté sa thèse financée par le laboratoire EXCELL au sein du laboratoire d'Isabelle Masneuf à l'ISVV sur les capacités de bio-adhésion des levures *Brettanomyces*. Le but des travaux de Paul est de comprendre comment *Brettanomyces* adhère et persiste à la surface du matériel et des contenants à la cave, et de trouver des outils de diagnostics et des solutions efficaces.

PARTIE 1 : OBSERVATIONS POST-ÉCOULAGES

DES RELARGAGES DE SUCRES, ATTENTION À LA STABILITÉ MICROBIOLOGIQUE

Dans de nombreux cas de contrôles réalisés post-écoupages, nous avons observés des vins avec des teneurs en sucres fermentescibles (glucose et fructose) supérieures à celles précédemment enregistrées durant les suivis. Ces phénomènes peuvent être la conséquence des pellicules très épaisses décrites en début de campagne (cf. 1er FLASH INFO Vendanges 2020), des faibles foulages parfois pratiqués ou des soins apportés à des extractions relativement douces (certains évoquent désormais plus fréquemment le terme « d'infusion » que d'extraction) qui concourent à ce que le marc renferme encore des sucres sur la fin de macération.

D'un point de vue microbiologique, ces phénomènes sont particulièrement risqués car à ce stade les levures fermentaires sont en déclin alors que les bactéries acétiques ou les levures *Brettanomyces* commencent « à pointer le bout de leur nez », les premières produiront de l'acide acétique à partir des sucres et les secondes s'installeront précocement dans le milieu avec un risque accru de production de phénols volatils.

En pareil cas, les pratiques à proscrire sont l'aération et l'apport de nutriments car leurs bénéfices sur la flore déclinante de *Saccharomyces* seront moindres que sur les populations opportunistes de bactéries lactiques ou de *Brettanomyces*. Nous préférons donc opter pour des actions de détoxification aux écorces de levures. Lorsque les concentrations en sucres résiduels sont relativement conséquentes (>5 g/L) il est préférable de procéder directement à un protocole de reprise de fermentation plutôt que d'attendre désespérément que les concentrations baissent d'elles-mêmes.

En début de campagne, nos observatoires microbiologiques sur raisins et sur moûts avaient montré à ces stades de faibles populations de *Brettanomyces*, néanmoins lors de plusieurs cas de relargage de sucres ces dernières se sont montrées particulièrement véloces à se développer. Il ne faut donc pas sous-estimer le risque lors de telles situations. *Brettanomyces* est parfaitement capable de fermenter les sucres résiduels et d'atteindre des niveaux de populations exceptionnellement élevés avant de produire des phénols volatils. Les contrôles réguliers d'acidité volatile et d'observation de la microflore (épifluorescence) ou des tests plus spécifiques (Q-PCR *Brettanomyces*, Q-PCR bactéries lactiques) permettent de faire un bon état des lieux.

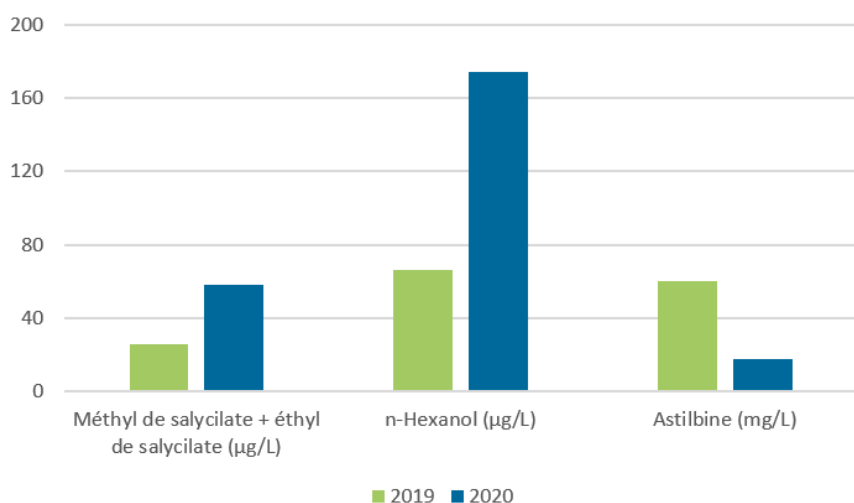
La quantité très importante d'analyses microbiologiques réalisées au laboratoire permet aussi désormais de tirer des tendances. Les données du tableau ci-dessous comparent les populations de *Brettanomyces* observées dans les vins en fin de FML lors du millésime 2019 et 2020. La dernière ligne correspond au pourcentage de souches de *Brettanomyces* résistantes au SO₂ déterminé grâce à l'analyse TYP\Brett 2.0. On constate que pour 15% des dénombrements de *Brettanomyces* réalisées sur les vins 2020, la population est supérieure à 10³ cellules/mL alors que l'an dernier cela représentait seulement 4% des vins. 92% de ces 15% correspondent à des vins où la teneur en glucose et fructose résiduelle était supérieure à 3 g/L. Inversement le nombre de cas où la population est inférieure à 10 cellules/mL est plus importante en 2020 qu'en 2019. Sans extrapoler trop hâtivement ces données, la tendance serait que lorsque des *Brettanomyces* ont pu se développer précocement sur des traces de sucres, elles l'ont fait de façon très notable. Une explication se trouve donc très certainement dans les relargages de sucres précédemment évoqués... Le pourcentage de souches résistantes au SO₂ est également plus faible sur les vins 2020 que sur les vins 2019. Ce point important laisse présager qu'en cas de difficulté à finir les sucres, un léger sulfitage est une opération adéquate pour assainir le milieu et repartir avec un protocole de reprise de fermentation.

Niveau de population de <i>Brettanomyces</i>	% Vins 2020 en fin de FML	Vins 2019 en fin de FML	Sur l'ensemble des analyses réalisées au laboratoire depuis le développement du TYP\Brett
<10 cellules/mL	44	35	-
Entre 10 et 100 cellules/mL	28	56	-
Entre 100 et 1 000 cellules/mL	13	5	-
Entre 1 000 et 10 000 cellules/mL	9	3	-
>10 000 cellules/mL	6	1	-
% souches diploïdes sensibles	79	68	41
% souches triploïdes résistantes	21	32	59

FRAICHEUR ET TENSION

L'autre fait marquant est que les contrôles analytiques réalisés post-écoulage montrent des tanins très présents. Ces indications sont apportées à la fois par les indices traditionnels tels que l'IPT mais également par les premières mesures d'Indice de protéines salivaires que nous avons réalisées. Ces résultats sont également confirmés par les remontées du terrain en matière de dégustation. Les profils obtenus lors des analyses réalisées en électrochimie confirment cette richesse. De façon relativement paradoxale, cette richesse globale paraît plus marquée sur les vins de goutte que sur les vins de presses. En début d'itinéraire, nous avons remarqué que les composés phénoliques « sortaient » rapidement, cela se traduisait par des couleurs rapidement intenses et par des sensations d'attaque en bouche bien marquées. Les analyses de caractérisation phénolique, des plus simples : IPT, Bate-Smith... aux plus sophistiquées : caractérisation des tanins proanthocyanidiques, degré de polymérisation et quantification des anthocyanes par HPLC, confirment ces éléments. Les analyses de stabilité de la matière colorante réalisées sur des vins destinés à des élevages relativement courts laissent cependant présager que des efforts seront à réaliser pour stabiliser ces couleurs intenses.

Concernant les volets aromatiques, nous nous challengeons depuis 3 ans à doser les composés récemment découverts par différentes équipes de recherche (Thèse de Xavier Poitou (méthyle et éthyl de salicylate), thèse de Magalie Picard (pipéritone et autres marqueurs des saveurs mentholées), thèse de Blandine Crépin supervisée par Axel Marchal (astilbine) qui pour la plupart peuvent potentiellement intervenir dans les perceptions de fraîcheur aromatique des vins rouges. Cela fait donc désormais trois millésimes que nous procédons à ces dosages, souvent sur les mêmes parcelles ou les mêmes lots. Le millésime 2020 semble sans conteste être le plus pourvu de ces composés de ces 3 dernières années comme cela est observable sur le graphique ci-dessous comparant un vin issu d'une même parcelle de Cabernet Sauvignon dans le Médoc. Les teneurs en hexanol (notes herbacées) et en méthyl et éthyl de salicylate (saveurs camphrées/réglissées) sont plus importantes en 2020 qu'en 2019 participant très certainement aux perceptions de fraîcheur évoquées ci-dessous ; inversement l'astilbine composé potentiellement impliqué dans la sucrosité des vins était plus présent en 2019 qu'en 2020 sur ce lot.



Sur les vins blancs nous avons également enregistré des teneurs très intéressantes en thiols volatils sur des cépages présentant cette typicité. Parmi les nouveaux thiols dosés depuis deux ans au laboratoire (jusqu'en 2018 nous dosions le 4-MMP, le 3-MH, l'A3MH, depuis nous dosons le 4-MMPOH, le BMT et FT), le BMT semble particulièrement présent cette année notamment dans des itinéraires pilotés en « réduction ».

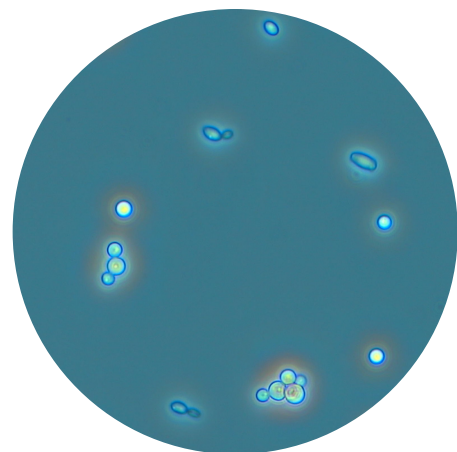
Ce composé potentiellement impliqué dans les notes minérales dites de « pierre à fusil » est aussi associé lors des premières dégustations à des notes de réductions parfois surprenantes. Face à ces composantes aromatiques, rappelons que la richesse en acides phénols (décrite également dans les premiers flash-info) mais également les dosages des formes différenciées du glutathion total et du glutathion oxydé ainsi que les analyses électrochimiques laissent présager une relative sensibilité des vins à l'oxydation. Il conviendra donc d'être vigilant aussi à cette stabilité aromatique.

PARTIE 2 : QUELQUES NOUVEAUTÉS POUR BIEN DÉBUTER LES ÉLEVAGES

L'élevage est évidemment une période clef synonyme d'affinage organoleptique mais également de stabilisations. Sur ce point nous souhaitons profiter de ce document pour faire de petits focus sur 3 développements récents réalisés au laboratoire en matière d'analyses et de compréhension de la stabilité microbiologique, de la stabilité protéique et de la stabilité tartrique.

LA STABILITÉ MICROBIOLOGIQUE : LES NOUVELLES ANALYSES DE SUBSTRATS POTENTIELS POUR *BRETTANOMYCES*

Comment les *Brettanomyces* arrivent-elles à se développer dans un vin longtemps après les fermentations ? Les acides phénols, précurseurs des phénols volatils, sont-ils leurs seuls et uniques substrats ? En reprenant des éléments bibliographiques notamment ceux établis dans d'autres filières où sévissent également les *Brettanomyces* (production de bio-éthanol par exemple), il est établi que la présence à hauteur de quelques centaines de milligrammes (concentrations relativement équivalentes à celles des acides phénols) de sucres est un facteur favorable au développement de *Brettanomyces*. Parmi ces sucres, outre les traces de glucose et fructose, un composé nous a particulièrement intéressé : le tréhalose. Le tréhalose est un sucre qui sert de protecteur de la fluidité membranaire à *Saccharomyces* afin de résister à l'alcool en fin de fermentation. Avec l'élévation des titres alcoométriques volumiques, il nous a donc semblé intéressant de développer une méthode de dosage de tréhalose dans les vins afin de voir si ce composé n'était pas présent et s'il ne pouvait, en partie, participer aux problématiques de *Brettanomyces*.



Le dosage est disponible au laboratoire depuis le printemps dernier, ce qui nous permet d'ores et déjà de comparer des teneurs sur les vins 2020 en fin de fermentations et les vins des millésimes passés (par exemple les 2018 lors des mises en bouteilles) et nous constatons de nettes différences qui laissent effectivement penser :

- i) le tréhalose est bien présent dans les vins en fin de fermentation,
- ii) les teneurs en tréhalose diminuent durant l'élevage ce qui doit certainement être la conséquence d'une consommation par des microorganismes et pourquoi pas par *Brettanomyces*.

Dans ce cas le dosage du tréhalose pourrait être un indicateur intéressant pour, en partie, prédire la sensibilité d'un vin à *Brettanomyces*.

LA STABILITÉ PROTÉIQUE : DES DOSAGES COMPLÉMENTAIRES POUR PRÉVENIR DES INTERACTIONS POSSIBLES AVEC L'USAGE DE CMC

L'interaction entre un traitement à la CMC et la stabilité protéique est bien connue et nécessite une vraie anticipation. Mais il ne suffit pas seulement de s'assurer que le vin est stable d'un point de vue protéique au moment du traitement à la CMC. Plusieurs cas de vins déterminés stables d'un point de vue protéique et/ou stabilisés selon les préconisations de traitement à la bentonite lors d'un test réalisé à un instant t ont présenté des « voiles » de troubles protéiques après le traitement à CMC. L'hypothèse la plus probable est que la CMC interagisse (directement ou indirectement) avec les résidus de protéines thermostables et modifie la sensibilité de ces dernières à la chaleur.

Pour prévenir ces accidents, nous avons tenu à modifier nos protocoles de détermination de la stabilité protéique en établissant deux voies analytiques suivant que le vin soit destiné à être traité à la CMC ou pas. Dans le premier cas, nous avons développé une méthode rapide de détermination de la quantité de protéines totales pour sécuriser la possible interaction entre les protéines thermostables (qui passent à l'as lors de l'analyse du traditionnel test de stabilité à la chaleur) et la CMC. Cette analyse est alors associée avec des tests de stabilité à la chaleur avec et sans CMC.

Cette nouvelle procédure mise en place au laboratoire EXCELL permet de sécuriser le processus de stabilisation protéique des vins en vue d'un traitement final à la CMC.

LA STABILITÉ TARTRIQUE : LES TRACES DE POLYASPARTATE DÉTECTABLES DANS LES VINS

Le polyaspartate est un additif développé autorisé par l'OIV sous la résolution Oeno 543/201. Cette molécule permet de réduire le risque de précipitation tartrique en bouteille. Suite à des demandes récurrentes, nous avons travaillé une méthode de dosage des résidus de polyaspartate dans les vins. Polymère d'acide aspartique, la méthode de dosage OIV-OENO 619-2019 s'appuie sur une hydrolyse acide à chaud de la molécule afin de la « découper » en unités d'acide aspartique. Le dosage de l'acide aspartique, acide aminé naturellement présent dans le vin est mesuré avant et après hydrolyse à l'aide d'un chromatographe en phase liquide après dérivation avec la molécule d'orthophtaldéhyde, qui permet la mesure de fluorescence (HPLC-FLD). La valeur soustractive mesurée entre avant et après hydrolyse correspond à la quantité de polyaspartate en équivalent acide aspartique ajoutée dans le vin.

Le dosage du polyaspartate est donc un dosage disponible au laboratoire EXCELL depuis quelques semaines.



PARTIE 3 : LA THESE FILMBRETT

C'est en multipliant les audits d'hygiène dans les propriétés que nous est venue la volonté de mieux comprendre comment s'équilibraient les consortiums microbiologiques dans les caves, à la surface du matériel, des contenants, des murs et des sols, dans l'atmosphère. Souvent il nous est arrivé de détecter des *Brettanomyces* dans les eaux stagnantes des caniveaux de cuvier, dans les circuits de climatisation de certaines caves ou bien tout simplement à la surface du petit matériel sans pourtant établir que ces foyers étaient des sources de contamination suffisantes. En échangeant avec l'équipe du professeur Isabelle Masneuf-Pomarède à l'ISVV de Bordeaux lors du transfert du test TYP\Brett au laboratoire EXCELL (et observant notamment que l'immense majorité des souches isolées lors des audits en cave étaient des souches triploïdes résistantes contrairement à ce que nous observions sur raisins), nous avons donc envisagé de collaborer afin de répondre à ces interrogations : comment certaines *Brettanomyces* persistaient au chai ? Quels sont les facteurs environnementaux favorables à cette domestication des chais (température, nature des surfaces des contenants, qualité de l'eau, produits d'hygiène utilisés, le soufre évidemment en premier lieu...) ? Ces foyers sont-ils les principales sources de contaminations ? Autant de questions que la thèse de **Paul Montagner** débutée en juin 2020 et financée par le laboratoire EXCELL tentera de répondre et dont vous nous tiendrez régulièrement informés.



Compte-tenu des évolutions des restrictions sanitaires, les formations proposées par EXCELL, les 18 et 19 novembre prochain, sur l'analyse des résidus de pesticides et la problématique des HAHP, seront transformées en Webinaires.

Vous recevrez très prochainement des invitations pour participer à ces Webinaires (gratuits et ouverts à tous).

COVID : SOLUTIONS ET GELS HYDROALCOOLIQUES

Face à la crise COVID nous avons maintenu notre activité de production de Solutions et de Gels Hydroalcooliques. Si vous en avez besoin pour vos équipes nous serions ravis de vous en procurer à des tarifs particulièrement attractifs traduisant notre souhait de vous accompagner au mieux face à cette problématique.

Plus d'informations

Cécile BERGIA : cbergia@labexcell.com - 06 07 38 21 26
Vincent RENOUF : vrenouf@labexcell.com - 07 89 63 65 54