



Un peu de Natolittérature...



Jean NATOLI

L'année écoulée a accéléré, me semble-t-il, une tendance dans notre activité. Et je ne parle pas de la crise sanitaire (essayons de ne pas en parler, elle meuble bien trop de nos conversations quotidiennes). Non, la tendance que j'observe est le besoin de technicité dans le monde du vin.

Quand je dis technicité, je parle des techniques de traitement des vins, de pharmacopée œnologique et de connaissance toujours plus fine de la composition des vins.

C'est la base de notre conseil œnologique qui s'est donc étoffé. L'œnologue isolé et omniscient est un concept intéressant mais reste un modèle rapidement saturé par la masse de connaissances à maîtriser pour les vulgariser et les transmettre.

Pour notre part, nous avons fait le choix, il y a longtemps déjà, de constituer une équipe de compétences et de sensibilités diverses, pouvant approfondir son savoir en multipliant les sources d'information et les échanges.

Ce numéro 54 de la lettre du labo en est une belle illustration.

- Ainsi Bruno de Faria Baricelli réprecise les concepts de *Brettanomyces* et de phénols volatils. Il y a peu nous hésitions à quantifier microbiologiquement et chimiquement ces données. Les techniques et les coûts se sont démocratisés depuis.
- Ainsi Adeline Bauvard vous annonce l'arrivée d'une avancée révolutionnaire de comptage microbien. Nous la devons à la technique de la cytométrie en flux et au travail de développement des Laboratoires Dubernet, notre partenaire historique. L'arrivée de ce matériel va nous assurer une meilleure compréhension et maîtrise des phénomènes fermentaires et d'altération. La masse d'informations que nous sommes en train d'accumuler sur ce point devient considérable. Nous avons observé ce même phénomène lorsque les analyses œnologiques manuelles se sont automatisées et informatisées. Nous avons alors pu comprendre ce qui se passait dans les vins alors que c'était souvent une « boîte noire » tout au long de leur élaboration.
- Ainsi Stéphanie Prabonnaud rappelle quelques points réglementaires viticoles à la veille du démarrage de la campagne de traitement.
- Ainsi Thibault Coursindel rappelle quelques éléments concernant les arômes fermentaires.
- Ainsi nous faisons travailler sur un projet d'ingénieurs quelques étudiants de Montpellier SupAgro sur les diversifications potentielles en complément de la vigne (pas encore à sa place 😊)
- Ainsi nous perfectionnons le recyclage de nos 200 000 bouteilles annuelles d'échantillons en PET.
- Ainsi, en résumé, tentons-nous de vous apporter les éclairages techniques toujours plus pointus vous permettant d'affiner votre travail de vigneron.

Et nous avons une certitude : cette tendance vers toujours plus de technicité ne se tarira pas. Jean Jaurès écrit : « C'est en allant vers la mer que le fleuve reste fidèle à sa source. » La mer reste lointaine et toujours renouvelée.

Brettanomyces ou phénols volatils ? That is the question

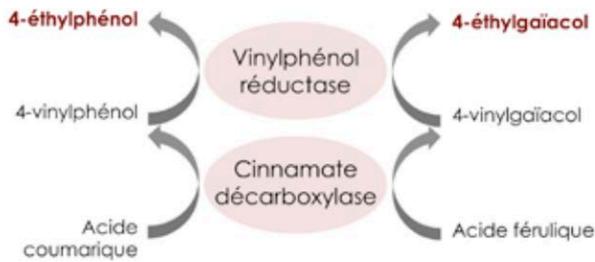
Bruno DE FARIA BARICELLI

Les *Brettanomyces* sont certainement les germes d'altérations du vin les plus connus. Elles sont à l'origine de déviations organoleptiques caractérisées par des notes d'écurie, de sueur de cheval, de gouache... Ce caractère dit "phénolé" est lié à la présence de composés appelés « phénols volatils » produits par *Brettanomyces*.

Nous remarquons qu'il y a souvent confusion entre la notion de contamination par *Brettanomyces* et la perception phénolée (= présence de phénols volatils). Nous tenons donc ici à rappeler la différence entre ces deux phénomènes et les résultats analytiques qui leur sont associés.

Ainsi la présence de *Brettanomyces* actives (on peut dire également vivantes) est déterminée par analyse microbiologique : culture sur boîte de pétri, cytométrie en flux, qPCR. Cette analyse détermine s'il y a une présence de ces germes. Des traitements peuvent être proposés selon le résultat (collage, chitosane, microfiltration, flash-pasteurisation).

Le dosage des phénols volatils permet de quantifier l'étendue des dégâts organoleptiques réalisés par *Brettanomyces* et d'ajuster le traitement (traitement membranaire ou charbon sur moût) et/ou l'assemblage à prévoir.



Chaîne de synthèse des phénols volatils par *Brettanomyces*

Attention:
si les *Brettanomyces* meurent les phénols volatils restent !

	odeur	seuil de perception
4-éthylphénol	écurie, cuir	430 µg/L
éthylgaïacol	clou de girofle, épices	33 à 88 µg/L

résultat analyse microbiologique	résultat dosage phénol volatils	conclusion	Et maintenant ?
absence de <i>Brettanomyces</i> actives	absence de phénol volatils	pas de contamination	pas de traitement
présence significative de <i>Brettanomyces</i> actives	teneur en phénol volatils < seuil de perception	début de contamination pas de perception du caractère phénolé	stabilisation microbiologique (microfiltration, chitosane, flash-pasteurisation) pas de traitement vis à vis des phénols
présence significative de <i>Brettanomyces</i> actives	teneur en phénol volatils > seuil de perception	contamination active perception du caractère phénolé	stabilisation microbiologique (microfiltration, chitosan, flashpasteurisation) +/- traitement pour abaisser la teneur en phénols (interdit en bio) du vin stabilisé +/- assemblage
absence de <i>Brettanomyces</i> actives	teneur en phénol volatils > seuil de perception	contamination passée mais perception du caractère phénolé	traitement pour abaisser la teneur en phénols (interdit en bio) et/ou assemblage pas de stabilisation microbiologique (mais attention aux VNC en cas d'assemblages - voir article Cytométrie)

Il n'est donc pas rare (cas n°4) que l'analyse microbiologique ne révèle pas de *Brettanomyces* actives malgré des teneurs en phénols volatils significatives, perceptibles à la dégustation. Dans ce cas, il s'agit d'une activité passée de *Brettanomyces* responsable de l'altération du vin mais non évolutive au moment de l'analyse microbiologique.

Les données ci-dessus sont indicatives d'un cas général. Le ou les types traitements à prévoir (ou non) ainsi que le délais de mise en œuvre dépendent :

- de la valeur du dénombrement en *Brettanomyces* actives et de la dynamique de ces populations (voir article cytométrie)
- du dénombrement des *Brettanomyces* à l'état VNC,
- du volume
- et du type de vin concerné

Retour d'expérience : Les *Brettanomyces* et les vins blancs

Les discussions autour de *Brettanomyces* et des phénols volatils concernent majoritairement voire exclusivement les vins rouges. En effet, les conditions du milieu sont plus favorables au développement de ces microorganismes : pH souvent plus élevé, teneur en précurseurs des phénol volatils naturellement plus importante.

Cependant, cela n'exclut pas la présence potentielle des levures *Brettanomyces* dans les vins blancs, ni la possibilité d'altération aromatique lorsqu'elles trouvent des conditions favorables à leur développement. Nous commençons d'ailleurs à repérer des vins blancs phénolés. Cela est favorisé par :

- le changement climatique qui contribue à l'augmentation des pH des vins,
- la tendance actuelle qui pousse à une réduction des doses de SO₂,
- les macérations pelliculaires de plus en plus fréquentes sur blancs,
- la tendance vers le non levurage. Les *Brettanomyces* sont aussi des levures indigènes. C'est une évidence qu'il faut régulièrement rappeler.

La cytométrie en flux : une nouvelle dimension pour la microbiologie en œnologie

Adeline BAUVARD

Avec la réduction des intrants et notamment des teneurs en SO₂ total, la maîtrise de la flore microbienne des vins devient de plus en plus importante. La hausse des pH favorise également le développement des microorganismes d'altération comme les *Brettanomyces* ou les bactéries lactiques une fois la fermentation malolactique réalisée. La connaissance des microorganismes en présence doit permettre d'adapter les gestes œnologiques : stabilisation avant conditionnement, élimination de germes d'altération, suivi des fermentations, ... Pour chacune de ces situations particulières, ce n'est pas la même information qui est recherchée.

Différentes méthodes d'analyses microbiologiques existent pour déterminer et quantifier les populations microbiennes. Le laboratoire Natoli & associés vous propose depuis plusieurs années maintenant le dénombrement par culture sur milieu spécifique (germes totaux, levures totales, brett, bactéries lactiques ou acétiques) ou l'observation microscopique couplée à des marqueurs fluorescents pour l'observation de levain ou de moût en fermentation par exemple.

Notre partenaire des Laboratoires Dubernet a développé une technique nouvelle de l'analyse microbiologique en 2019. Nous l'avons testé et validée en 2020 sur notre laboratoire associé Dioenos Rhône. Cette cytométrie en flux est déjà utilisée dans de nombreux domaines tels que la santé ou l'agroalimentaire, encore peu dans l'œnologie. Les nouvelles générations d'appareil offrent la possibilité en une seule analyse d'obtenir des informations sur la qualification et la quantification des microorganismes ainsi que sur leur état physiologique.

Principe de fonctionnement

La cytométrie est une étude de cellules isolées dans un flux. Dans un premier temps, un système fluide permet de séparer et d'aligner les particules en suspension dans le liquide. Une fois alignées, elles passent devant un ou plusieurs lasers. Ces particules vont ensuite émettre une lumière qui sera envoyée vers différents détecteurs. On couple à cette méthode l'utilisation de marqueurs fluorescents spécifiques et de filtres pour séparer le rayon lumineux émis selon différentes longueurs d'onde. Les données recueillies portent sur les éléments suivants :

- la taille des cellules
- la granulosité de la surface de la particule
- la présence ou non d'ADN (permet d'éliminer les particules qui ne seraient pas des microorganismes considérées comme un bruit de fond)
- la viabilité de la cellule
- l'activité métabolique de la cellule



Quels résultats disponibles pour quelles applications pratiques ?

Deux bilans analytiques sont possibles aujourd'hui : un bilan spécifique de *Brettanomyces* et un bilan complet détaillant les populations de *Saccharomyces*, de *Brettanomyces* et de bactéries (sans distinction entre acétiques et lactiques pour le moment). Cette méthode a un coût modéré et l'avantage d'être plus réactive que la culture car il n'y a pas de temps d'incubation.

Pour chaque population, il est donné leur nombre dans les trois états cellulaires possibles (cf encadré). L'unité de mesure diffère de celle des cultures microbiologiques. En cytométrie, on parle en événement par mL. En culture, en Unité Formant Colonie (UFC) par mL. La corrélation entre ces deux méthodes n'est pas évidente. Les valeurs obtenues sont beaucoup plus importantes en cytométrie qu'en culture sur milieu gélosé.

► Les applications :

- la gestion des fermentations alcooliques : la connaissance de l'état des levures et de leur nombre permet de suivre le déroulement de la fermentation alcoolique, le potentiel d'un levain, l'efficacité d'une reprise,...
- l'évaluation de la charge microbienne totale pour adapter la stabilisation avant conditionnement : ces données seront désormais incluses sur vos études de mise.
- la vérification de l'efficacité de certaines opérations (flash pasteurisation, filtration, conditionnement...). Le contrôle microbiologique sera également disponible sur les contrôles après mise.
- le suivi des populations de *Brettanomyces* : l'analyse microbiologique à intervalles réguliers, à la faveur d'un contrôle de cave, permettra, au-delà de la mesure ponctuelle, de suivre la dynamique de ces populations et donc d'adapter l'intervention à l'évolution de la population. Dans le cas d'une population modérée et stable, le traitement physique ne sera pas systématiquement nécessaire.
C'est une évolution majeure de vos bilans de cave que nous allons vous proposer très prochainement.

La matrice vin est complexe. La représentativité du prélèvement pour toute analyse microbiologique est primordiale. Ce nouvel outil est potentiellement puissant mais il faut apprendre à l'utiliser. La connaissance n'est pas la compréhension. L'interprétation de ces résultats sera très importante et devra être mise en perspective. Ces résultats nous permettront de mieux comprendre la flore microbienne, ses interactions et ses réactions, et de mieux les maîtriser.

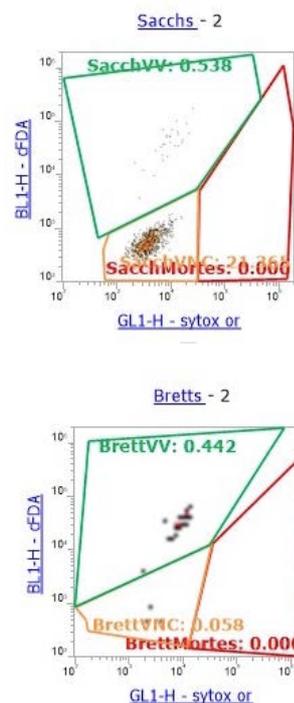
Nous restons à votre disposition pour discuter des opportunités offertes par la cytométrie.

Les microorganismes dans tous leurs états :

Les microorganismes ont développé des réponses physiologiques pour s'adapter aux conditions du milieu dans lequel ils évoluent. Les modifications de ce milieu (fluctuation de la température, du pH, de la teneur en alcool) peuvent engendrer un stress conduisant à la mort cellulaire. Il existe un troisième état entre vivant et mort : l'état viable non cultivable ou VNC. Non, ce ne sont pas des levures zombie. Cela s'apparente à une forme de dormance. Ces microorganismes attendent des conditions plus favorables pour « ressusciter » (Pâques par exemple) et repasser à l'état « vivant ».

Ces trois états sont différenciés par la cytométrie de flux. On peut les résumer comme suit :

- **cellule vitale (vv)** : elle est active métaboliquement c'est à dire qu'on peut détecter son activité enzymatique. Elle est cultivable sur boîte de Pétri. Les microorganismes vivants se développent, consomment certains éléments et en produisent d'autres.
- **cellule viable non cultivable (vnc)** : la cellule est en dormance car le milieu n'est pas favorable à son développement. Elle n'est pas cultivable sur boîte de Pétri. Elle n'a pas d'incidence sur son milieu. Par exemple, une *Brettanomyces* dans cet état ne produit pas de phénols volatils. Le SO₂ est connu pour faire entrer les Brett en VNC.
- **cellule morte** : il y a d'abord un arrêt du métabolisme puis une destruction de la cellule. Elle ne peut pas être cultivée. Elle est détectable par cytométrie.



Types de cytogrammes obtenus par la cytométrie en flux

Quelques brèves de vigne en attendant les feuilles...

Stéphanie PRABONNAUD

Le démarrage de la saison viticole est imminent. Nous reviendrons régulièrement sur le profil du millésime dans le fil d'actualités de notre site internet. Nous pouvons en attendant revenir sur 2 points marquants des derniers mois, qui concernent agriculture conventionnelle et biologique.

Glyphosate, chronique d'un retrait définitif annoncé...

L'avis de l'ANSES du 9 octobre 2020 a restreint l'utilisation du glyphosate à 450 g/ha de substance active sur 20% de la surface. Ce qui est pratique correspond à un passage par an sur le cavaillon (et sur une bande étroite : sur une vigne espacée à 2m : 20 cm de part et d'autre du cavaillon), et à une dose inférieure aux pratiques actuelles (souvent autour de 700 g/ha sous le rang).



Cette réglementation entrera en vigueur dans les prochains mois, pour le moment d'anciennes formes de produits commerciaux restent sur le marché. Mais il faut s'attendre à un profond changement dans les pratiques : à cette dose le glyphosate n'aura pas la même efficacité. Et il se murmure que cette limitation est le premier pas pour une interdiction à terme...

Beaucoup d'entre vous se sont déjà équipés de méthodes alternatives pour le désherbage sous le rang (intercep sous différentes formes, lames, rotatifs, disques,...), d'autres l'envisagent à court ou moyen terme. Le plan de relance mis en place en début d'année (dispositif « d'aides au renouvellement des agro-équipements nécessaires à la transition agroécologique » dossier via France Agrimer) a été victime de son succès et du principe « premier inscrit, premier servi ». Censé être ouvert jusqu'en décembre 2022, le guichet a été clôturé dès le 26 janvier, l'enveloppe ayant été consommée. La très grande majorité des demandes s'est portée sur le matériel substitution au désherbage sous le rang, témoignant bien de l'adaptation des viticulteurs aux changements en cours.

Aujourd'hui des dispositifs régionaux d'aide aux équipements prenant le relais (voir par exemple le PCAE en Occitanie : <https://www.europe-en-occitanie.eu/4-1-3-PDR-LR-Investissements-en-faveur-d-une-gestion-qualitative>).

Et le cuivre, encore et toujours d'actualité!

Le cuivre a vu son autorisation prolongée début janvier 2019, pour une durée de 7 ans (fin 2025), avec une dose maximale de 4kg/ha/an, « lissable sur 7 ans ».

En pratique, les nouvelles formulations à base de cuivre, ou les anciens produits passant en renouvellement d'autorisation de mise sur le marché, présentent une nouvelle phrase de risque « Spe1 : Pour protéger les organismes du sol, ne pas appliquer ce produit ou tout autre produit contenant du cuivre à une dose annuelle totale supérieure à 4 kg Cu/ha ».

Ce qui signifie en pratique que certaines marques commerciales ne sont pas lissables ; et qu'un seul produit non « lissable » utilisé dans la saison annule le lissage d'autres formulations « lissables ».

Le schéma suivant résume la problématique ,

01/01/2019

31/12/2025

« Anciennes formules » 28 kg / 7 ans

Nouvelles formules 4kg/ha/an

Les Marronniers de la vigne et du vin

Thibault COURSINDEL

Des sujets qui peuvent sembler très généraux, ou déjà connus, mais sur lesquels les questions restent fréquentes (et légitimes !). Nous nous efforcerons d'apporter notre éclairage.

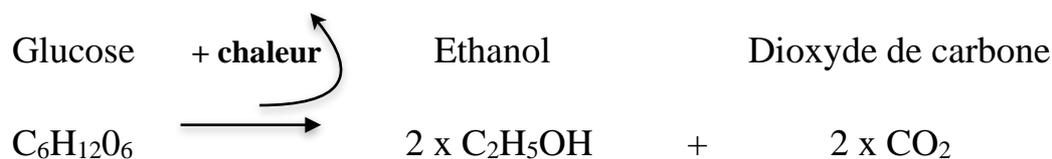
Episode 2 : les arômes fermentaires vous donnent-ils la banane ?

Dans la précédente lettre du labo, nous avons passé en revue les arômes variétaux, issus du raisin. Dans ce numéro, nous allons parler des arômes secondaires (dit fermentaires), produits par la levure lors de la fermentation alcoolique.

Bien qu'utilisée de puis des millénaires pour produire du vin ou d'autres boissons alcoolisées, la fermentation alcoolique n'est connue de façon plus technique que depuis le 19^{ème} siècle. C'est Joseph Louis Gay-Lussac qui en 1817 décrit l'équation de base de la transformation du sucre en alcool.



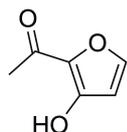
Joseph Louis Gay-Lussac (1778-1850)



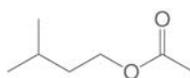
Cette équation, très schématique, est imprécise et incomplète comme le montreront les travaux ultérieurs de Pasteur (1886) et de Buchner (1897) : en effet, de nombreux composés autres que l'éthanol et le dioxyde de carbone se forment lors de la fermentation alcoolique. Ces produits qui restent secondaires par leur faible concentration comparée aux deux produits majoritaires n'en restent pas moins importants au niveau œnologique. Les arômes secondaires de la fermentation malolactique peuvent également rentrer dans cette classification des arômes fermentaires : au-delà de la transformation de l'acide malique en acide lactique, les bactéries responsables de cette réaction ont également d'autres substrats et peuvent donc produire certains arômes qui participent également au bouquet du vin.

Les arômes secondaires sont souvent classés en 3 catégories : ceux qui donnent des notes fermentaires à proprement parler, des notes amyliques ou des notes lactées. Le tableau ci-dessous reprends les principaux descripteurs associés, suivi de trois molécules bien connues et associées à leur descripteur aromatique :

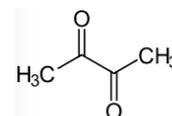
fermentaires	amylique	lacté
levure	banane	lait
mie de pain	bonbon anglais	beurre
brioche	verniss à ongle	yaourt
biscuit	poire	



isomaltol



acétate d'isoamyle



diacétyl



Les arômes fermentaires sont principalement des esters et des alcools supérieurs, issus du métabolisme fermentaire et participent au bouquet des vins « jeunes ». Ces composés sont en particulier recherchés, et plus ou moins appréciés selon les dégustateurs, pour les vins primeurs mais également pour des vins issus de cépages neutres. De plus, ces composés interagissent avec le reste de la palette aromatique et participent à la complexité du vin. Les teneurs en arômes fermentaires obtenues dans les vins finis dépendent très fortement des conditions fermentaires et de la souche de levure utilisée pour la FA, ainsi que la souche de bactérie utilisée pour la FML.

Nous aimons rappeler qu'il n'y a pas de bons vins sans bons raisins, et que vinifier, c'est guider la transformation du raisin en vin en intervenant à bon escient. Le choix des levures peut en faire partie...

Dans le prochain épisode, focus sur les arômes tertiaires, liés à l'élevage du vin.

Vous êtes de plus en plus nombreux à nous demander des analyses afin de définir la valeur nutritionnelle énergétique (VNE) de vos vins pour déterminer le "nutriscore à étiqueter".

Sachez que vous pouvez trouver cette information directement sur le site suivant : <https://ciqual.anses.fr/>

Après avoir renseigné le produit (vin rouge, vin doux, vin blanc etc.) les VNE vous sont données directement dans un tableau.



Vin rouge				
Composition détaillée		Composition abrégée		Sources de données
Nom	Teneur moyenne	Min	Max	Code confiance
Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kJ/100 g)	341			C
Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kcal/100 g)	82,1			C
Protéines, N x 6.25 (g/100 g)	0,07	0		C
Glucides (g/100 g)	2,63			C
Lipides (g/100 g)	0			C
Sucres (g/100 g)	0,62			C
AG saturés (g/100 g)	0			C
Sel chlorure de sodium (g/100 g)	0,0025	0,0016	0,025	A

Les infos du labo.

Erwan GUEVEL



Projet d'ingénieur

Nous avons entamé une collaboration avec l'école Montpellier SupAgro début 2021 dans le cadre du projet d'ingénieur réalisé par les étudiants en première année. Nous allons ainsi encadrer avec deux enseignants-chercheurs un groupe de trois étudiantes sur la thématique suivante :

« Dans un contexte de réchauffement climatique et d'éventuelles diversifications, quelles pertinences techniques et économiques des cultures pérennes (grenadiers, amandiers, figuiers, lavandes, caroubiers ...) - hormis la vigne - en Occitanie? »

Nous avons proposé ce sujet à l'école car il apparaît nécessaire aujourd'hui d'acquérir des informations bibliographiques, tant agronomique qu'économique, sur les autres filières. Elles devront servir, à très court terme, de support à des pistes de réflexion ou de proposition pour nos clients. Nous vous tiendrons informés de l'avancée de ce projet.



Broyeur

Nous vous faisons parvenir très régulièrement des bouteilles d'échantillon en polyéthylène (PET) pour la réalisation de vos analyses. Nous sommes passés du verre au PET il y a quelques années pour alléger les voitures lors des tournées et tenter de diminuer nos émissions de CO₂. Ces bouteilles, après analyse, sont triées et récupérées par la Communauté de Commune en tant que « déchet sec ».

L'absence d'un tri spécifique à ces bouteilles suscite des interrogations dans notre gestion des déchets – nous commandons environ 200 000 bouteilles par an. Nous avons ainsi échangé avec le groupe ALMA, propriétaire notamment de la marque CRISTALINE sur le recyclage du PET. Il nous a été mis à disposition, gracieusement, un broyeur prototype pour nos bouteilles. Celles-ci, broyées, seront stockées et récupérées par ALMA pour la réalisation de leurs bouteilles d'eau minérale.

L'aboutissement de ce projet (dont nous sommes fiers !) participe aussi à la réflexion autour de notre démarche de Responsabilité Sociétale des Entreprises (RSE) et de notre souci ancien de limiter notre empreinte carbone.



Horaires de nos locaux

Le laboratoire Natoli & Associés à Saint-Clément-de-Rivière est ouvert
du Lundi au Vendredi de 8h à 12h et de 14h à 18h



DÉPÔT DE SAINT-CHINIAN

Cave coopérative de St-Chinian,
Chemin de Sorteilho
34360 St-Chinian
GPS : 43.42655 2.945715
✓ Dépôt des échantillons
le mardi avant 12h.

ANNEXE DE PÉZENAS

Soufflet Vigne
Zone d'aménagement concerté
Rodettes
34120 Pézenas
GPS : 43.446345 3.412317
✓ Dépôt des échantillons le lundi,
le mardi et le jeudi avant 12h.

DÉPÔT DE NIMES

Vignobles Dideron
Domaine de Cadenette
Chemin des Canaux,
30600 Vestric-et-Canidés
GPS : 43.731104 4.273596
✓ Dépôt des échantillons
le mardi et le jeudi avant 12h.

DÉPÔT D'ORANGE

Dicenos Rhône
2260, route du Grés
84100 Orange
GPS : 44.102702 4.802669
✓ Dépôt des échantillons
le mercredi avant 12h.

DÉPÔT DE CARPENTRAS

Soufflet Vigne
Quart Terradou,
1730 Chemin de Saint-Gens,
84200 Carpentras
GPS : 44.0318805 5.0484937
✓ Dépôt des échantillons
le mardi avant 12h.

DÉPÔT DE BEAUMES DE VENISE

Soufflet Vigne
129 Impasse La Barcillonne,
84190 Beaumes-de-Venise
GPS : 44.1150579 5.0138675
✓ Dépôt des échantillons
le mardi avant 12h.

DÉPÔT DE SABLET

CAPL
ZA le Camp Bernard
89 Chemin de Cairanne
84110 SABLET
GPS : 44.1979917 4.9936469
✓ Dépôt des échantillons
le mardi avant 12h.

Retrouvez-nous et suivez-nous sur : [Twitter](#) [Linkedin](#)

Et bien sûr sur www.labonatoli.fr

