



## PACKS FERMENTESCIBILITÉ : DES FORMULES ANALYTIQUES POUR APPRÉHENDER LA FERMENTESCIBILITÉ DE VOS MOÛTS !

Chaque année la problématique resurgit sur le devant de la scène au moment des vinifications : **Comment appréhender la fermentescibilité de vos moûts ?** L'évolution du climat entraîne inexorablement une hausse des teneurs en sucres et donc en alcool potentiel mais cela n'est certainement que la face visible de l'iceberg des problèmes de fermentescibilité fréquemment rencontrés sur le terrain. Beaucoup d'autres facteurs directs ou indirects contribuent à ces phénomènes. Ces thématiques sont d'autant plus importantes car s'il y a quelques années encore certaines démarches très sécuritaires étaient mises en œuvre au chai, il est désormais opportun de trouver les bons équilibres pour raisonner les interventions. Cela implique d'avoir des visions plus préventives en analysant plus précisément la constitution des raisins au moment des vendanges. Cette constitution, reflet de la saison viticole et des différents aléas susceptibles de s'être déroulés (stress hydrique, pression fongique, asphyxie racinaire, carence potassique...) est intimement liée à la fermentescibilité bien au-delà de la teneur en sucres et de la teneur globale en azote

### FORMULE COMPACTE

Une formule compacte assurant une réactivité suffisante pour être un outil décisionnel et de pilotage rapide.

### FORMULE EXHAUSTIVE

Une formule exhaustive permettant de mieux comprendre une problématique récurrente et envisager de la résoudre sur du moyen/long terme (le délai des analyses mises en œuvre ne permettant pas nécessairement d'être réactif au jour le jour pour un pilotage des vendanges en cours, les connaissances acquises serviront dans ce cas aux vinifications à venir) notamment dans le cas de déséquilibres venant du vignoble.

Dans nos différents laboratoires **EXCELL** (Bordeaux, EXCELL Grand Est et EXCELL Iberica) nous avons mis en synergie nos observations sur les différents vignobles et travaillé à regrouper les principales composantes de la problématique de fermentescibilité des moûts en mêlant différentes techniques disponibles pour proposer des formules analytiques permettant d'appréhender précisément cette problématique.

# LES PRINCIPAUX FACTEURS LIMITANT LA FERMENTESCIBILITÉS

Les fermentescibilités alcooliques ou malolactiques pourraient être définies par l'aptitude d'un moût ou d'un vin à voir se réaliser la fermentation en considérant les paramètres environnementaux (température, brassage, oxygène...) correctement maîtrisés, c'est-à-dire en ne se concentrant que sur la composition intrinsèque du moût ou du vin.

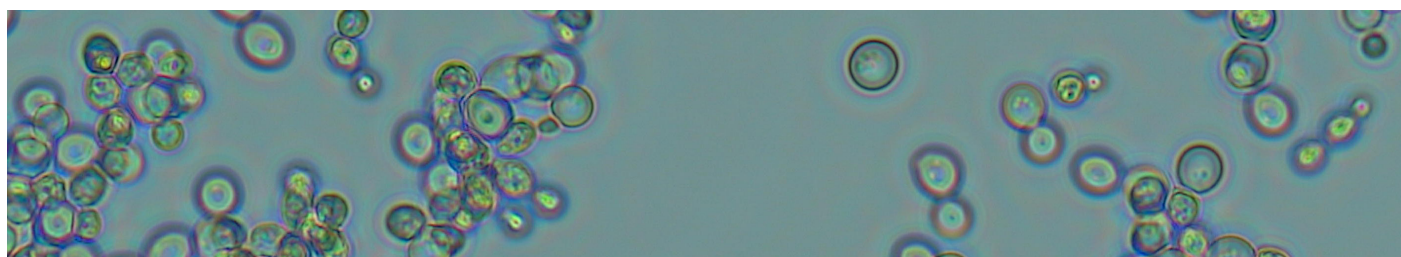
## LA CONCENTRATION DE SUCRES

Le paramètre le plus évident est la concentration en sucres qui agit à la fois comme contrainte osmotique dans le moût puis comme stress éthanol en fin de fermentation. La contrainte osmotique n'est pas à négliger car les levures stressées produisent de nombreux composés. L'acide acétique en tête affecte la qualité de la fermentation. Les acides gras à courte et moyenne chaîne sur lesquels nous reviendrons sont un autre exemple. Par la suite, l'éthanol est évidemment un élément de stress important pour les cellules en perturbant notamment la fluidité de leur membrane (siège de nombreuses réactions essentielles).

## LES COMPOSÉS AZOTÉS

Après les sucres, les composés azotés sont clairement le deuxième carburant des levures et des bactéries. Cette évidence a fait que l'ajustement des teneurs en composés azotés est rapidement devenu une pratique courante. Dans certains cas, des principes de précaution conduisent à des surestimations des ajouts avec des effets contre-productifs. En effet, les apports initiaux d'azote contribuent à la phase de multiplication des cellules. Mais plus la population maximale de levures est importante, plus la vitesse initiale de fermentation est rapide ce qui peut contribuer à des phénomènes de carence en fin de fermentation.

En cas de carence en azote, les apports fractionnés et diversifiés sont des pratiques plus cohérentes que des apports massifs initiaux en une seule fois. Elles sont désormais couramment admises et pratiquées sur le terrain. Il reste cependant la nécessité absolue de correctement estimer les besoins de compléments.



La carence en azote interagit également avec l'utilisation par la levure de composés soufrés avec une production plus ou moins importante de composés soufrés volatils impactant négativement les qualités organiques du vin (réduction). La quantité de SO<sub>2</sub> présente, mais également les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine) voire certains pesticides peuvent être à l'origine de ces déviations.

La distinction entre les formes minérales et organiques de l'azote revêt véritablement d'une importance particulière. Mais encore plus finement, de nombreux travaux évoquent des différences d'utilisation des acides aminés, certains sont plus rapidement assimilables que d'autres. Si par exemple la lysine a un effet clairement positif sur l'activité fermentaire, la méthionine aurait, au contraire, l'effet inverse. Il est probable aussi que des excès de méthionine concurrent à la production de méthaneéthiol, un composé conférant des odeurs réductrices « sales » et donc préjudiciables à la qualité du vin. Autre exemple, la proline ne serait quant à elle quasiment pas utilisée. Dans l'ouvrage « Microbiologie du vin, bases fondamentales et applications » les auteurs classent les acides aminés en quatre groupes. Le premier groupe : les acides aminés sont liés à une utilisation totale et rapide ; ils sont certainement plus indispensables que d'autres.

A des fins de diagnostics pouvoir quantifier précisément chaque acide aminé présents dans les moûts plutôt que de doser les concentrations globales en azote ammoniacal et en azote amine nous a donc semblé une stratégie pertinente. Cela vaut sur moût pour la fermentation alcoolique mais également pour une bonne gestion de la FML car les bactéries *Oenococcus* sont incapables d'assimiler l'azote ammoniacal. Elles sont donc absolument besoin d'acides aminés avec là aussi des préférences pour tel ou tel composé.

## LES VITAMINES

Certaines vitamines sont également essentielles. Les plus citées dans la bibliographie sont la thiamine (B1) et l'acide pantothénique (B5). La thiamine est un cofacteur indispensable à la pyruvate déshydrogénase, enzyme clef du métabolisme levurien. Concernant l'acide pantothénique, sa présence optimiserait l'assimilation de certains acides aminés contribuant ainsi à réduire les phénomènes de carence mais également de production de composés réducteurs (H<sub>2</sub>S). La biotine est également citée comme étant très favorable la viabilité cellulaire des levures (B8), elle serait également impliquée dans la synthèse des esters.

## LES MINÉRAUX

Les minéraux sont également évoqués dans la bibliographie. Comme dans tout système biologique il s'agit de trouver des équilibres entre les doses nécessaires et les doses toxiques. Les trois éléments importants sont le magnésium, le potassium et le phosphore. Le premier du fait de son implication dans de nombreuses réactions de la voie glycolytique (là aussi en lien avec le fonctionnement de la pyruvate déshydrogénase) et le second du fait de son rôle dans la régulation du pH intracellulaire. Au sujet du potassium, indiquons que cette année dans nombreux cas des excès d'eau encore présents au moment de la fleur, c'est-à-dire à une étape où les besoins en potassium sont fortement accrus, ont provoqué des carences induites en potassium susceptibles de se répercuter aussi sur la fermentescibilité en fin de campagne. Le phosphore est quant à lui un élément essentiel dans la composition des phospholipides membranaires éléments clefs dans les phénomènes d'homéostasie de la fluidité des membranes des levures et donc de la résistance à l'alcool.

## LES PESTICIDES, ET NOTAMMENT LE CUIVRE

Actuellement sous le feu des projecteurs certains résidus de pesticides ont aussi parfois été décrits comme influençant la viabilité des levures ou des bactéries de la FML. Les tendances actuelles vont évidemment dans le sens d'une réduction notable des résidus dans les vins néanmoins, il nous a semblé opportun d'associer le dosage de certains résidus dans ces études sur la fermentescibilité. Parmi les résidus de pesticides, le cuivre est aussi clairement un composé contraignant pour les levures et les bactéries. Des travaux menés lors des deux derniers millésimes laissent présager que certaines valeurs (environ 5 mg/L) évidemment jamais atteintes sur vins finis mais possibles sur moûts en tout début de process (notamment lors des fins de campagnes sèches au vignoble ; sans lessivage préalable des raisins par les pluies) peuvent en lien avec certains paramètres (alcool potentiel et nutrition azotée) affecter les microorganismes.

## LES ACIDES GRAS

Les acides gras à courte et moyenne chaîne sont comme les phospholipides ou les stérols membranaires des composés amphiphiles. Cependant le rapport de la partie polaire (fonction acide) et de la partie hydrophobe (chaîne aliphatique) est inversé ce qui fait que contrairement aux stérols qui sont d'une aide certaine pour les cellules pour résister à l'alcool, les acides gras C5, C6, C8 et C10 sont des composés toxiques pour les cellules. Ces composés affectent aussi bien les levures en fin de fermentation que les bactéries lactiques lors du déclenchement de la FML. Les *Brettanomyces* sont quant à elle des organismes qui tolèrent relativement bien ces composés. Leur dosage est donc intéressant à la fois pour appréhender des problèmes de fermentation mais aussi estimer des risques de contaminations par *Brettanomyces*.

## LA MICROFLORE CONCURRENTIELLE

La microflore concurrentielle est également un paramètre à prendre en compte car évidemment les levures de FA et les bactéries de la FML cohabitent avec de nombreux autres microorganismes dont il est intéressant d'avoir une vision pour estimer les interactions. Appréhender la fermentescibilité sans disposer de telles informations microbiologiques n'est donc pas réaliste. Nous avons ajouté l'observation globale de la microflore par microscopie à épifluorescence et une mesure de la viabilité des cellules de levures dans les formules analytiques proposées ci-dessous. Dans la formule la plus détaillée, nous proposons des analyses en PCR quantitative permettant de quantifier précisément les cellules de *Brettanomyces*, de *Torulaspora*, de *Metschnikowia*, de *Pichia* et de *Lachancea* (des PCR quantitatives spécifiques de ces espèces ont été développées).

## LES FORMULES ANALYTIQUES

Les progrès techniques et nos efforts d'innovation font que le dosage de tous éléments cités en première partie sont désormais possibles au laboratoire EXCELL. Pour faire face aux demandes récurrentes de nos partenaires sur ces études de fermentescibilité, nous avons souhaité établir des formules analytiques qui soient relativement globales en termes d'informations mais également réactives. Nous avons aussi essayé de trouver des compromis dans le choix des paramètres à analyser et les délais d'analyses afin de disposer d'une formule dénommée « S » (S pour « Speed » = formule rapide et S pour « Small » = méthode resserrée sur les éléments les plus essentiels et les plus simples à doser rapidement) et d'une formule plus exhaustive permettant d'appréhender tous les paramètres évoqués ci-dessus.

	PACK FERMENTESCIBILITÉ	
	Formule S	Formule XL
Sucres/TAVP ou TAV (+pH, AV et acide acétique)	x	x
SO <sub>2</sub> libre et total	x	x
Azote assimilable totale	x	x
Forme minérale de l'azote assimilable	x	x
Forme aminée de l'azote assimilable	x	x
Dosage des acides aminés	Ø	x
Dosage de la thiamine (B1), l'acide pantothénique (B5) et de la biotine (B8)	Ø	x
Cuivre	x	x
Screening résidus de pesticides	Ø	x
Dosage des minéraux (magnésium, potassium, phosphore)	Ø	x
Acide gras à courte et moyenne chaînes	x	x
Epifluorescence (microflore globale)	x	x
Cytométrie de flux (viabilité des levures)	x	x
PCR quantitatives levures non-Saccharomyces (Q-PCR Brettanomyces, Q-PCR Torulaspora, Q-PCR Metschnikowia, Q-PCR Pichia, Q-PCR Lachancea)	Ø	x
<b>Délai</b>	<b>24h</b>	<b>5 jours</b>

### Plus d'informations

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