





Découvrez les nouveaux packs 2023

« On arrive à la simplicité malgré soi en s'approchant du sens réel des choses... », c'est cette citation du sculpteur Constantin Brâncuşi que nous rappelle le millésime 2022. Les conditions de vinifications des dernières vendanges ont été, en parties, marquées par deux fondamentaux : la microbiologie et l'acidité.

Si au cours de ces précédentes années, les développements analytiques du laboratoire se sont concentrés sur des analyses complexes et innovantes (l'analyse du δC13 ou encore l'olfactométrie...), ces axiomes œnologiques nous ont amenés à travailler et à proposer plusieurs formules analytiques très appliquées lors des vendanges 2023. Compte-te-nu des évolutions climatiques et techniques, il nous a paru primordial de pouvoir mieux diagnostiquer ces éléments essentiels qui seront certainement à l'avenir au centre de toutes les attentions.

Le pack microflore sur raisin

Le démarrage de la fermentation alcoolique est évidemment une étape clef de la vinification. Pour autant, force est de constater qu'il est très paradoxal que malgré cette importance, le pilotage de cette opération se fasse sans une objectivation de la population microbienne naturellement présente sur les raisins et dans le moût. En effet, il est constaté qu'un dosage des sucres et de l'azote est réalisé mais plus rarement un comptage des levures présentes. Pourtant cette microflore est très importante. Des suivis débutés dès 2003 (début de la thèse de doctorant de Vincent Renouf, aujourd'hui directeur général du laboratoire) laissent même supposer que cette teneur en microorganismes indigènes est de plus en plus importante sur raisins ces derniers millésimes comme le montrent le graphique ci-dessous.

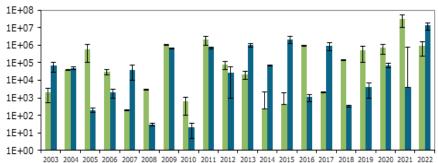


Figure 1 : Populations microbiennes (levures en vert et bactéries en bleu, toutes deux exprimées en cellules/baie) sur raisin lors des vendanges.

NB : si les premières années les dénombrements concernaient quelques dizaines de points de prélèvements sur le vignoble Bordelais, ces dernières années il s'agit des moyennes de plusieurs centaines d'échantillons répartis sur l'ensemble des vignobles français.

Deux hypothèses peuvent être émises pour tenter d'expliquer ces évolutions :

- La première, confortée par les données analytiques dont le laboratoire dispose au travers des analyses de résidus de pesticides, est que l'évolution des pratiques viticoles, avec notamment la réduction de l'usage de certains produits dont des anti-botrytis, a amené à réduire l'effet contraignant de ces produits sur le développement du consortium microbiologique sur raisins.
- La seconde hypothèse peut être attribuée à une optimisation de la maturité des raisins. On observe grâce à des suivis que les populations microbiennes progressent avec la maturité.

Quoi qu'il en soit, les populations de levures présentes sur les raisins au moment des vendanges sont à confronter aux données du tableau de Delteil et al. issu d'un article publié dans la Revue des Œnologues en 1990 à une période où l'usage des Levures Sèches Actives (LSA) commençait à émerger. Ce tableau évoque que pour avoir un taux de réussite d'une inoculation convenable il faut à minima un facteur 10 entre la population de LSA à utiliser et la flore indigène. Or comme indiqué sur la figure 1, la population moyenne des levures sur raisin ces 4 derniers millésimes est d'environ d'un million de cellules par baie. A peu de choses près, la conversion en millilitre de moût conserve cette valeur (=1 million de cellules par mL de moût). On arrive donc vite au constat que, sans action anticipative, la marge de manœuvre est réduite pour l'implantation de la LSA. Parmi ces actions anticipatives, le sulfitage de la vendange est l'outil le plus évident pour abaisser la charge microbienne indigène. Même si les raisons sont certainement plus idéologiques que scientifiques (car sulfiter la vendange à 2 ou 3 g/hL n'a qu'un effet très limité voire nul sur les arômes, couleurs...), l'usage du sulfitage de la vendange est manifestement de moins en moins pratiqué.

Ratio LSA/ Levures indigènes	0,1	1	10	100
Probabilité	0,1	1,5	60	98
d'implantation (%)				
	1	15	95	100

Figure 2 : tableau extrait de Revue Française d'Oenologie , 119 , 23–26 . Delteil , D. (1990) Contrôle de l'efficacité du levurage par suivi de l'implantation d'une souche oenologique

Outre l'aspect quantitatif, le type de levures présent joue également un rôle essentiel. La figure 3 montre que la principale levure retrouvée sur les raisins est *Hanseniaspora uvarum*. La rebaptisation taxonomique de cette levure a légèrement brouillé ce constat. Cette levure s'appelait auparavant *Kloeckera apiculata*! Cette fameuse levure apiculée, qui durant des années a été décrite comme une levure d'altération tout aussi contaminante que *Brettanomyces* (pour d'autres raisons évidemment), est d'autant bonne productrice d'acidité volatile que les bactéries acétiques... Aujourd'hui, les risques « oxydatifs » liés au développement non contrôlé de cette levure sont mieux maitrisés. Néanmoins la réduction des doses de SO₂ de la vendange peut aussi rajouter une relative fragilité. Indiquons également qu'il peut y avoir des effets invisibles durant les phases réductrices de la fermentation qui deviendront significatifs par la suite. De nombreux métabolites d'*Hanseniaspora* sont des composés combinant fortement le SO₂. Les vins issus de moûts dans lesquels *Hanseniaspora* a eu la liberté de se développer présentent donc des taux de combinaison très élevés.

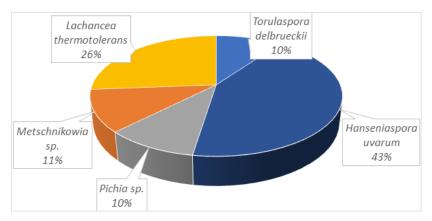


Figure 3 : Principales levures non-Saccharomyces et non-Brettanomyces détectées sur raisins au laboratoire EXCELL (analyses réalisées en Q-PCR) lors du millésime 2022.

Pour remédier à cela, de nombreuses options (alternatives ou plutôt complémentaires au sulfitage de la vendange) ont été développées (concepts de bio-protection). Certains ont également fait le choix d'augmenter la quantité de LSA à inoculer (stratégie parfaitement cohérente puisque le nombre de levures indigènes a lui aussi augmenté). Au Laboratoire EXCELL, nous avons développé l'outil de crèmes de levures, qui réalisé sous un contrôle analytique strict, permet de disposer des individus indigènes exempts de risques d'altération.

En amont de ces actions, il nous semblait essentiel de proposer une formule analytique permettant d'objectiver le niveau de charge microbienne sur les raisins à l'approche des vendanges. Ces derniers millésimes, nous proposions un pack microflore (focus *Brettanomyces*) pour quantifier les populations de bactéries et de levures sur raisins. En 2023, nous avons souhaité parachever ce pack, détaillé ci-après :

- D'une quantification précise de l'espèce *Hanseniaspora uvarum* par PCR quantitative puisqu'il semble s'agir de la levure la plus redoutable à ce stade
- D'une recherche de l'espèce *Brettanomyces bruxellensis* par digitale PCR (d-PCR). *Brettanomyces* est, quant à elle, l'espèce la plus redoutée en vinification et en élevage. Sa présence sur raisins a toujours été débattue (même si démontrée à plusieurs reprises). La d-PCR est la dernière technologie de biologie moléculaire développée au Laboratoire EXCELL. Par dispersion de l'échantillon en près de 30 000 gouttes réactionnelles accueillant chacune une réaction PCR, la technologie assure une « quantification absolue » de la cible (*Brettanomyces*) et augmente considérablement la sensibilité de l'analyse (d'un facteur 100). En disposant d'une technique à la pointe en matière de sensibilité et de précision, il est donc judicieux de l'appliquer sur raisin. La D-PCR a été proposée à nos clients ce printemps après plusieurs mois de développements et de tests. Pour favoriser son entrée sur le marché en 2023, nous souhaitons accompagner nos partenaires dans la découverte de cette analyse avec un tarif ultra-préférentiel.

Pour ce prochain millésime, voici nos nouveaux packs :

	Population totale de levures	Population totale de bactéries	Q-PCR Hanseniaspora uvarum	D-PCR Brettanomyces bruxellensis
Pack Microflore S	X	X		
Pack Microflore L	X	X	X	Х

NOTRE NOUVEAU PACK MICROFLORE, EN RÉSUMÉ, C'EST :



Ces derniers millésimes, nous proposions un pack microflore (focus *Brettanomyces*) pour quantifier les populations de bactéries et de levures sur raisin, aujourd'hui renommé « Pack S ». En 2023, nous avons souhaité proposer un second pack (le pack L) comprenant :

- Une quantification de la population de levures totales
- Une quantification de la population de bactéries totales
- Une quantification précise Hanseniaspora uvarum par Q-PCR
- Une recheche Brettanomyces bruxellensis par D-PCR

EN PRATIQUE



- Besoin au minimum de 100 baies de raisins ou d'environ 1kg en grappes entières (selon les précautions habituelles inhérentes aux prélèvements microbiologiques : matériel et contenant propres, pas de contact avec les mains et le sol...).
- Résultats délivrés sous 48H à réception des échantillons, afin de disposer de l'information pour adapter les itinéraires de vinification.
- Des interprétations précises réalisées grâce à la base de données du laboratoire forte de ses nombreux résultats accumulés à travers les différents vignobles français.

Le pack acidimétrique

L'acidité a aussi été au centre des réflexions lors du millésime 2022. Le pH est la grandeur exprimant l'acidité d'une solution. Elle est liée à la concentration en ions hydrogènes (H+) par la relation pH = -log₁₀[H+]. Puisque l'acidité est d'autant plus grande que [H+] est grand, il en résulte que des valeurs basses du pH correspondent à une acidité forte. Dans le vin, les ions H+ sont principalement issus des acides organiques. En œnologie, il a donc été défini la grandeur d'acidité totale. L'acidité totale est la somme des acidités titrables à un pH neutre. Il y a donc une relative distinction à faire en termes de chimie entre le pH et l'acidité totale. De plus, dans le vin comme dans toute autre solution, les ions H+ sont en équilibre avec les ions OH+, eux-mêmes en équilibre avec des éléments minéraux, le potassium en premier lieu.

En 2022, les données analytiques classiques : pH et acidité totale n'étaient pas toujours simples à exploiter. Par exemple, nous observions parfois des pH hauts mais des acidités totales « correctes ». Sans rentrer dans les détails, il est probable que ces différences découlaient de phénomènes viticoles différents. Certains vignobles ont été marqués de stress hydrique alors que pour d'autres il s'agissait plus de stress thermique et les mécanismes réactionnels de la plante (dégradation ou concentration d'acides, accumulation de minéraux...) mises en jeu dans les deux cas ne sont pas strictement les mêmes.

Lors des vinifications 2022, nous avons aussi pu observer des remodelages dans les perceptions d'acidité à l'issue des fermentations, en partie du fait de la production de certains acides organiques par les microorganismes. Nous proposons donc un pack acidimétrique raisin et un pack acidimétrique vin.

	Analyses
Pack Acidimétrique Raisin	pH, Acidité Totale, Acide Tartrique, Acide L-Malique, Acide Citrique, Acide Acétique, Potassium, Calcium, δC13
Pack Acidimétrique Vin	pH, Acidité Totale, Acide Tartrique, Acide L-Malique, Acide Citrique, Acide Acétique, Acide L-Lactique, Acide D-Lactique, Acide Pyruvique, Acide Succinique, Acide Galacturonique, Potassium, Calcium, δC13

NOS NOUVEAUX PACKS ACIDIMÉTRIQUE EN RÉSUMÉ, C'EST:



- Le pH
- L'acidité totale
- Le dosage des principaux acides organiques présents dans le raisin et des principaux acides organiques potentiellement présents dans les vins (cf tableau ci-dessus)
- Le dosage des principaux minéraux : potassium et calcium.
- Le dosage par la méthode de référence du δ13C (le stress hydrique et l'état d'acidité des raisins étant corrélés)



EN PRATIQUE

- Échantillon minimum de 100 baies ou de 100 mL de moût ou de vin.
- Résultats délivrés sous 48H pour le pack acidimétrique raisin et sous 3 JO pour le pack acidimétrique vin, à réception des échantillons
- Interprétation des résultats avec les bases de données du laboratoire

Le pack azote

En œnologie, l'azote du moût est d'ordinaire exclusivement évalué pour appréhender la fermentescibilité alcoolique. Il a donc été défini la notion d'azote assimilable. Au travers de cette terminologie, il aurait été opportun de
préciser « pour Saccharomyces » puisque cette notion a été adaptée spécifiquement à cette dernière. Dans d'autres
produits alimentaires issus de fermentations, comme notamment le cidre et la bière, c'est la notion d'azote total qui
est principalement appliquée. La diversité des microorganismes mis en jeu lors des vinifications (bio-protection, co-levurage, co-inoculation...), tout comme la nutrition azotée sont des notions bien admises de la fermentescibilité malolactique. Mais c'est aussi un des points clefs au terme des fermentations : alors que se pose la question de la stabilité
microbienne, l'azote peut demeurer un substrat de choix pour le maintien voire le développement de flores d'altération
(Brettanomyces). Sur ce dernier point, il est également de possible de pousser jusqu'au dosage des acides aminés et
de confronter leurs valeurs aux acides préférentiellement assimilés par Brettanomyces selon Parente et al. (2017). En
2023, nous avons souhaité proposer un second pack (Pack Azote L) comprenant en plus le dosage des acides aminés.
Les deux packs proposés par le Laboratoire Excell sont donc les suivants :

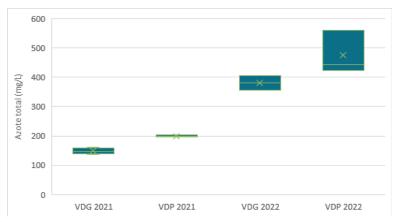


Figure 4 : Illustration de l'azote total en mg/L dans les vins de goutte (VDG) et les vins de presse (VDP) d'un partenaire sur les vins du millésimes 2022 et 2023 illustrant la quantité significative de « matière azotée » disponible.

	Azote assimilable*	Azote total	Acides aminés
Pack Azote S	X	X	
Pack Azote L	X	Х	X

^{* :} concernant l'azote assimilable, le Laboratoire Excell fournit déjà la différence entre la partie minérale et la partie organique.



NOTRE NOUVEAU PACK AZOTE, EN RÉSUMÉ, C'EST :

- Le dosage de l'azote assimilable*
- · Le dosage de l'azote total
- Le dosage des acides aminés

EN PRATIQUE



- Échantillon minimum de 100 baies ou 100 mL de moût ou de vin.
- Résultats délivrés sous 24H pour le pack azote S et sous 3 JO pour le pack azote L à réception des échantillons

QUAND FAIRE CETTE ANALYSE?

- Sur raisin, pour mieux estimer les teneurs présentes
- Lors d'une fermentation malolactique languissante
- Lors des bilans de fin de fermentations pour appréhender les risques de vulnérabilité vis-à-vis de Brettanomyces de ses différents lots (les lots avec plus d'azote résiduel seront certainement parmi les plus à risques).

N'HÉSITEZ PAS À CONTACTEZ VOS INTERLOCUTEURS EXCELL



ZONE BORDEAUX

- Vincent RENOUF: vrenouf@labexcell.com // 07.89.63.65.54
- Steve GALISSAIRE : sgalissaire@labexcell.com // 06.86.66.40.38 (Rive droite)

ZONE EST

Loïc LAFAY : llafay@labexcell.com // 07.85.60.52.13

ZONE SUD-EST

- Doriane VISSE : dvisse@labexcell.com // 06.88.16.91.83
- Ombeline MALBRUNOT : omalbrunot@labexcell.com // 07.88.77.10.11