

## Évaluation de la présence de *Brettanomyces* au vignoble.

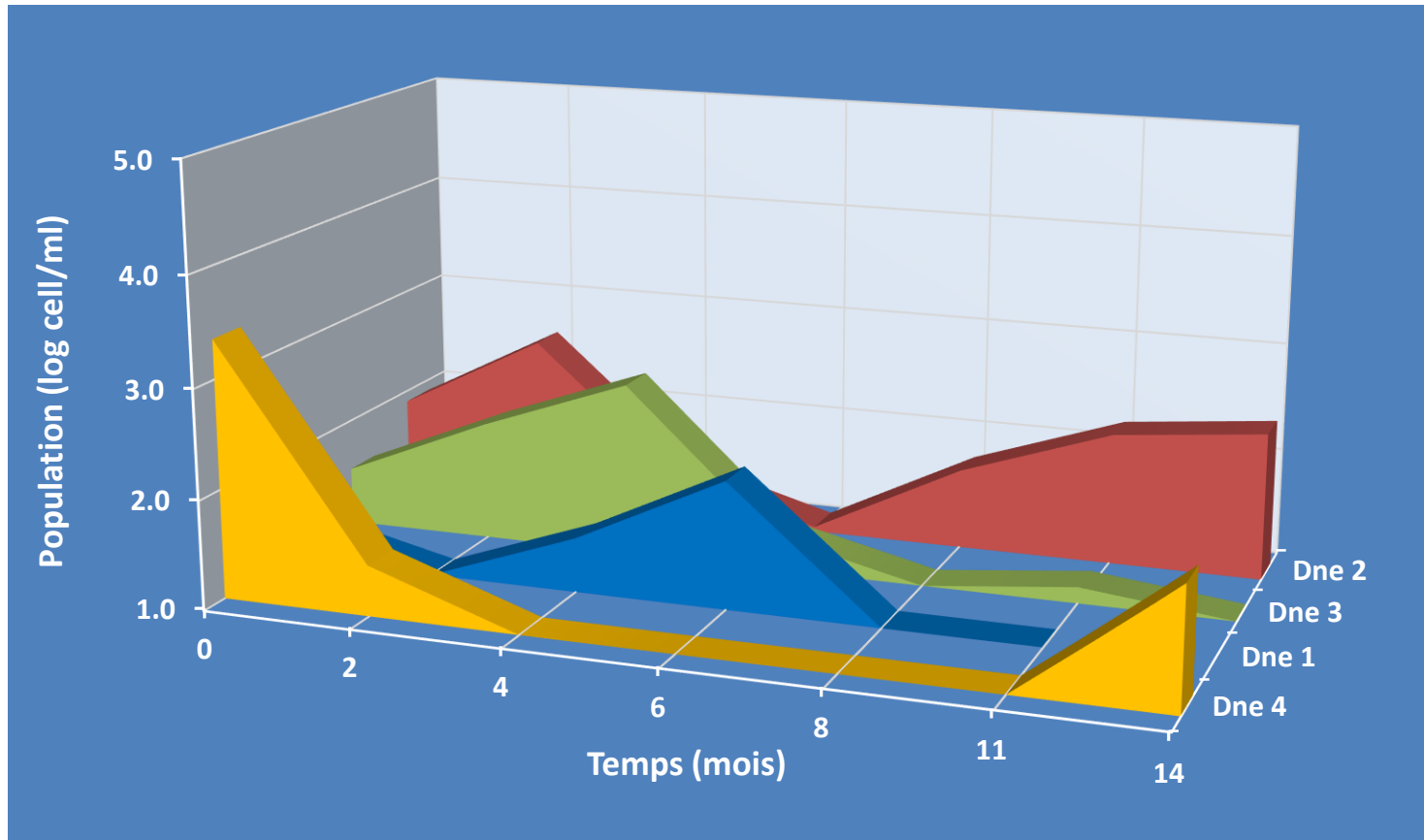
*Incidence œnologique de la microflore du raisin à  
maturité.*

Travaux réalisés dans le cadre du programme régional  
« Au Cœur du Vignoble » cofinancé par le BIVB et l'IFV.

Vincent Gerboux et Jérôme Thomas  
*IFV, Unité de Beaune*

Constat : *Brettanomyces* est une levure très présente en vinification.

Evolution moyenne durant l'élevage de la population de *Brettanomyces* de 4 cuvées, millésime 2015, pour 4 Domaines.



## Question :

**Le vignoble est-il une source de contamination en  
*Brettanomyces*?**

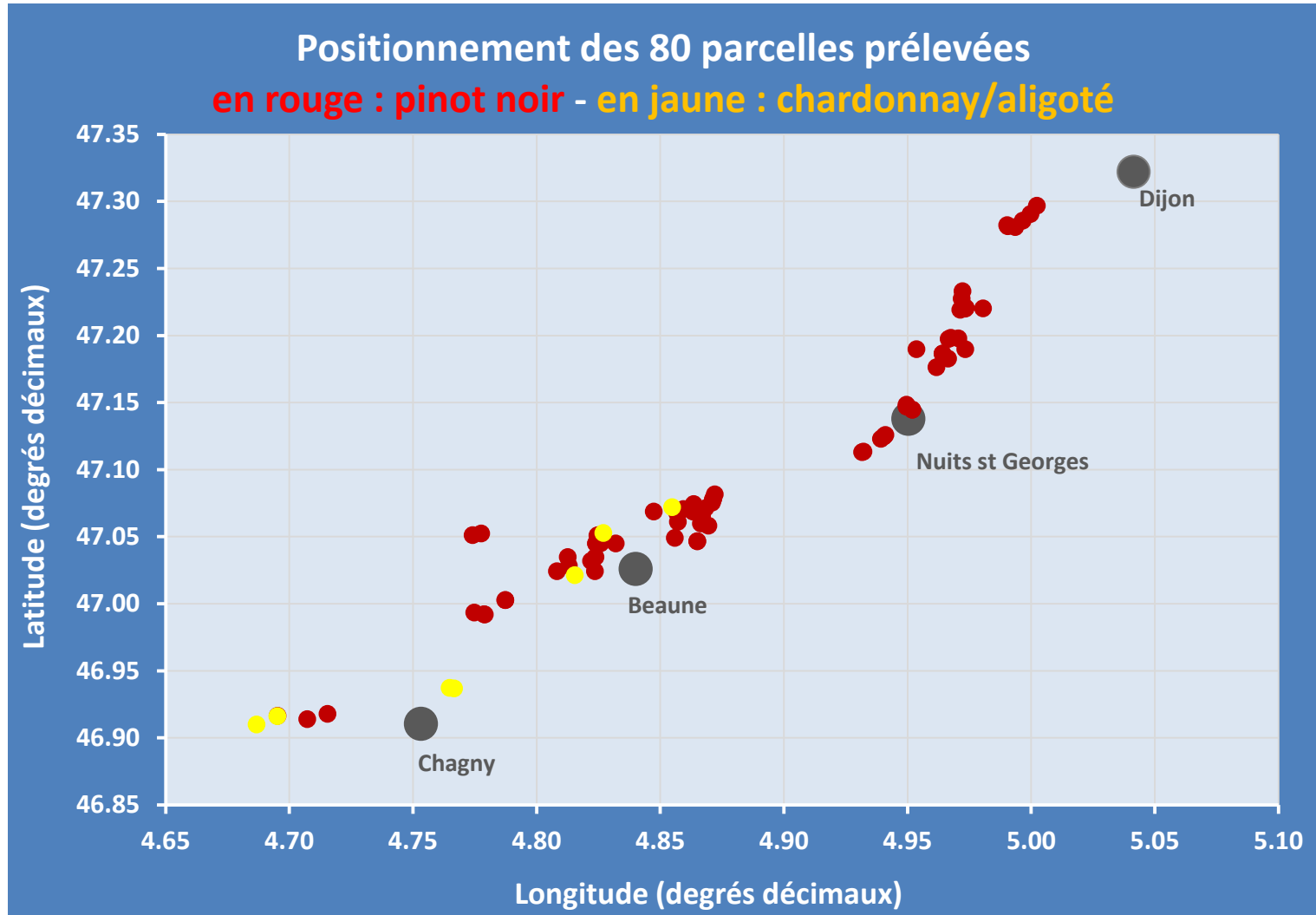
**Travaux conduits avec le millésime 2016 :**

**14 Domaines situés entre Dijon et Chagny**

**80 Parcelles : 73 Pinot noir, 5 Chardonnay, 2 Aligoté**

**Mode de conduite : 11 « Bio », 69 Conventiennel**

**Appellations : 13 Régionales, 34 Villages, 25 Premiers crus, 8 Grands Crus**



## Données au prélèvement

- Prélèvements réalisés entre le 19 et le 23 septembre 2016 (quelques jours à une semaine avant la récolte de la parcelle).
- Etat sanitaire bon à très bon (attaque très limitée de Botrytis sur certaines parcelles).
- Rendement (très) faible pour certaines parcelles à cause du gel de printemps.
  - 65% des prélèvements réalisés le matin / 35% l'après-midi
    - Température de l'air : 18 +/- 3°C
    - Hygrométrie : 66 +/- 12%
  - Teneur moyenne en sucres des raisins prélevés : 202 +/- 10 g/L

## Protocole :

Récoltes de 200 baies de raisins sains

Foulage

Micro-macération en flacon

Incubation à 20°C

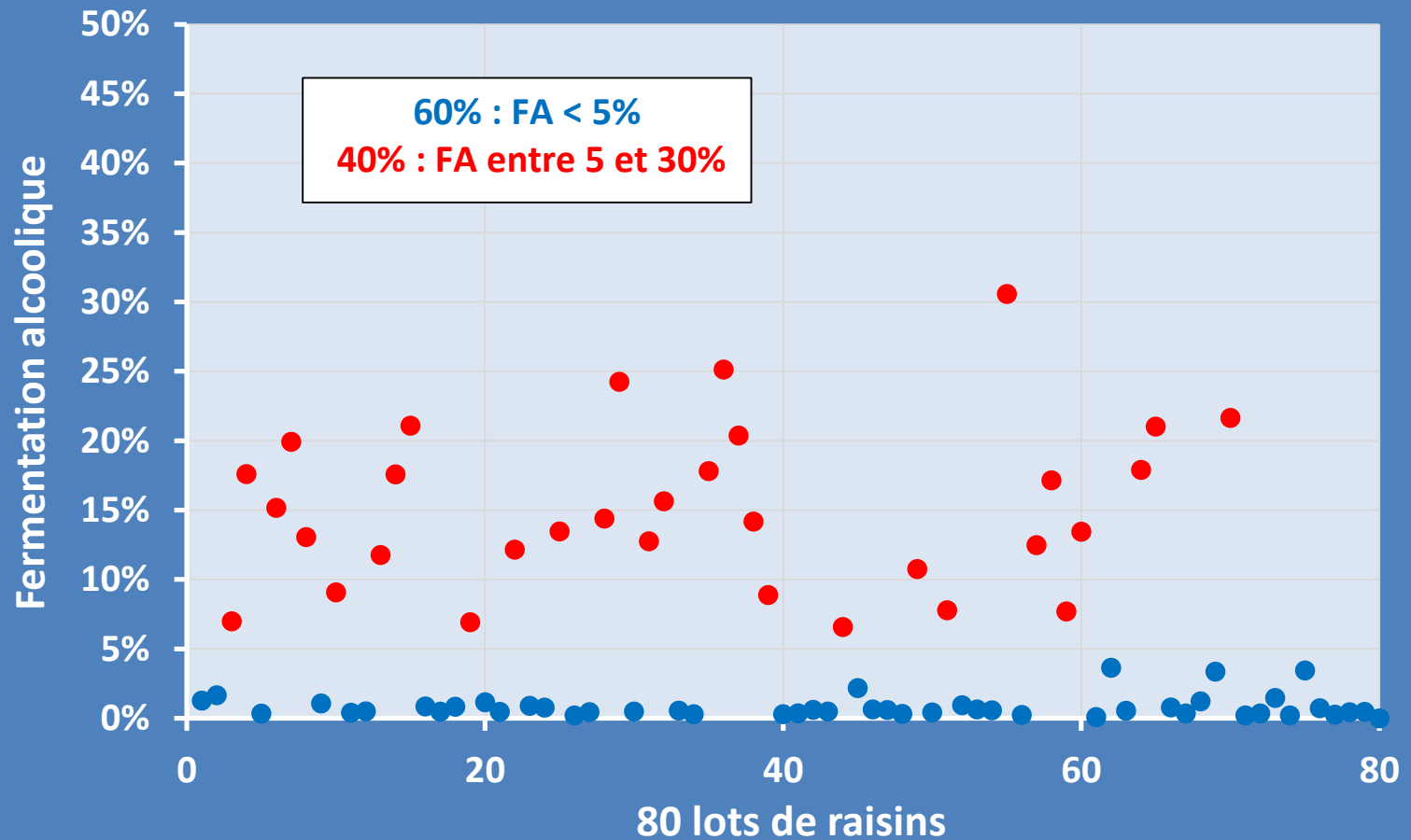
Suivi de la FA (*par pesée*)

Bilan Analytique

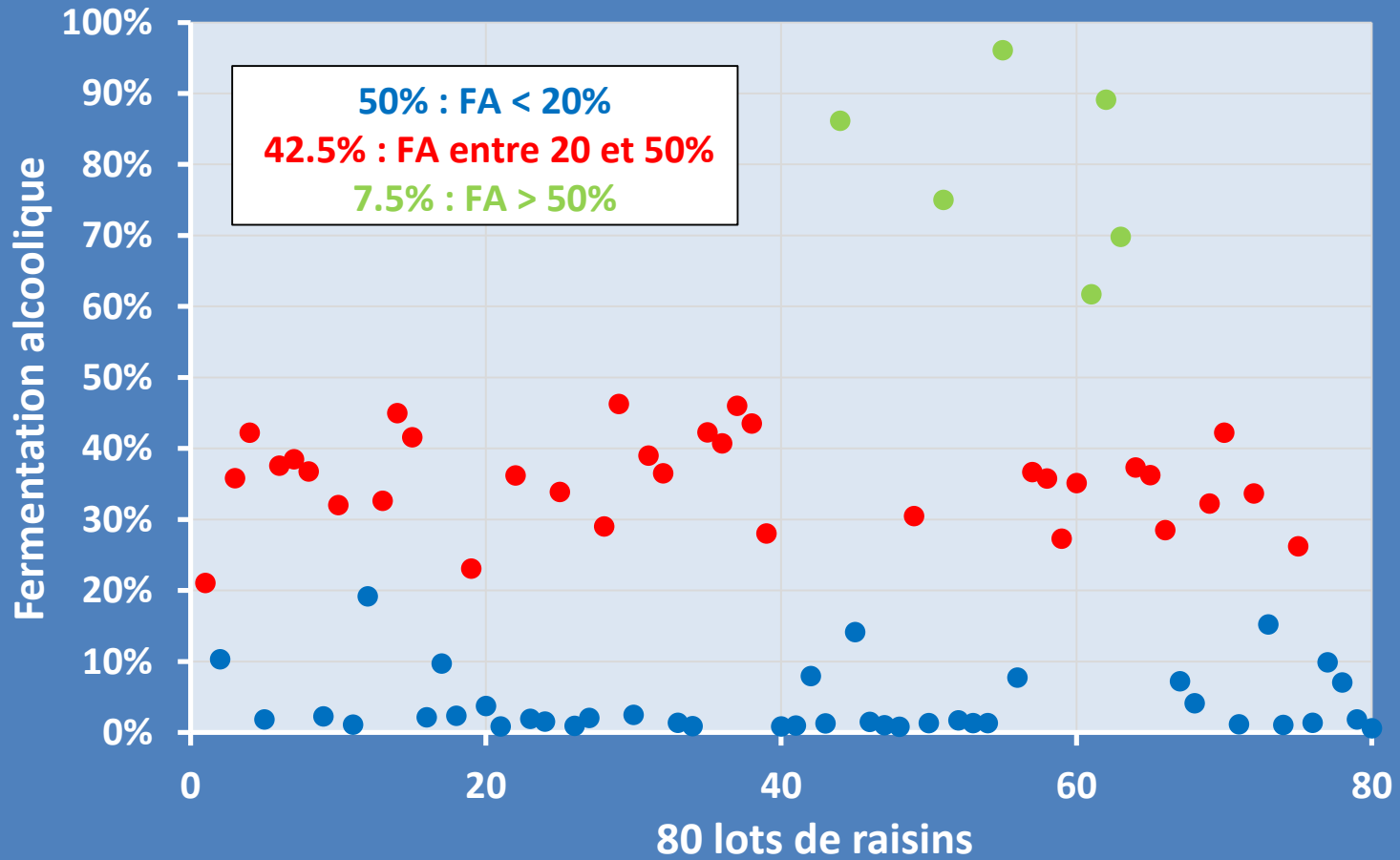
Etude de la microflore

*Toutes les opérations sont réalisées avec du matériel désinfecté.*

### Etat de la FA après 9 jours à 20°C.



Etat de la FA après 18 jours à 20°C.



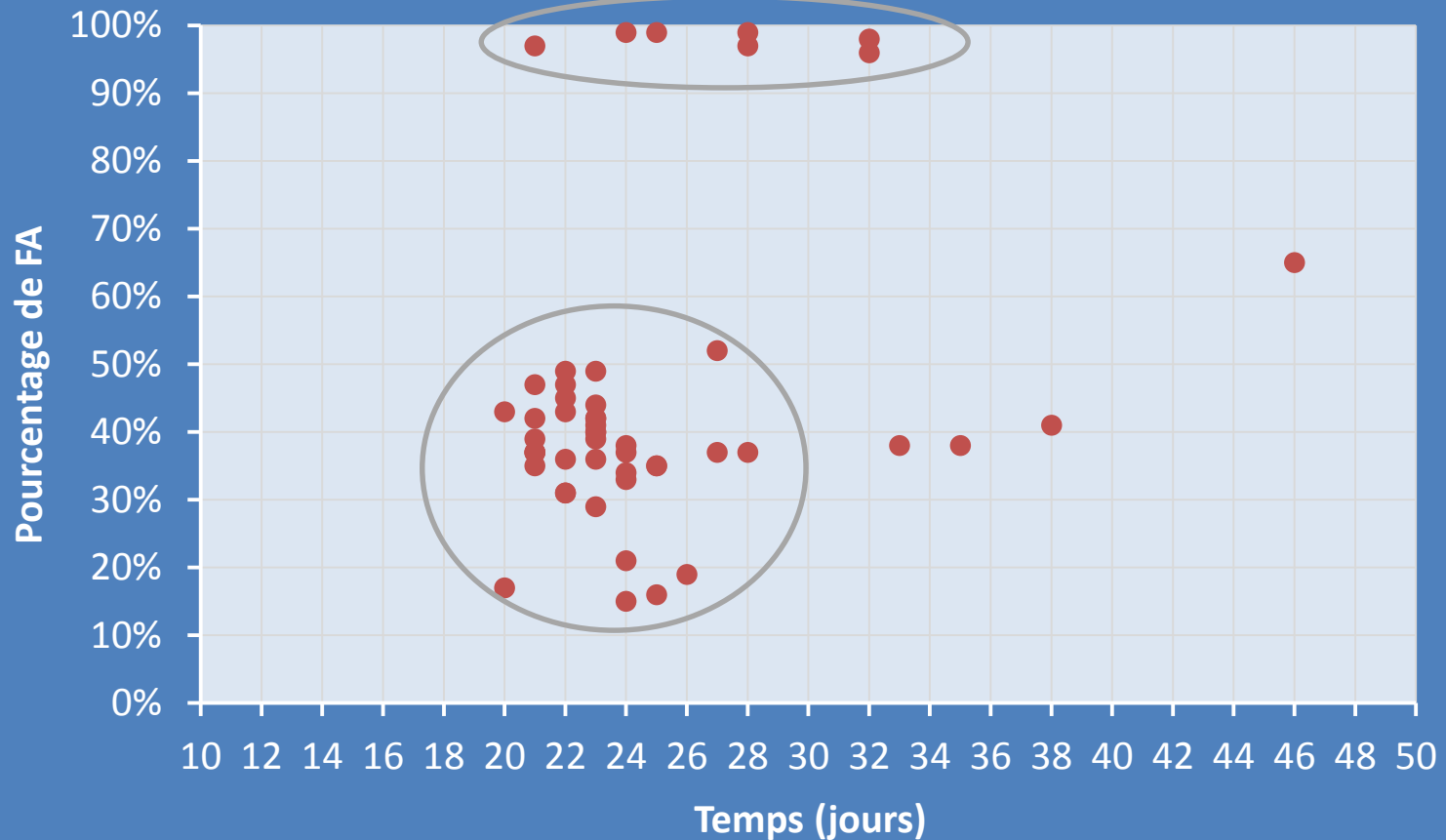


**A T 20 jours (+/- 1) :**

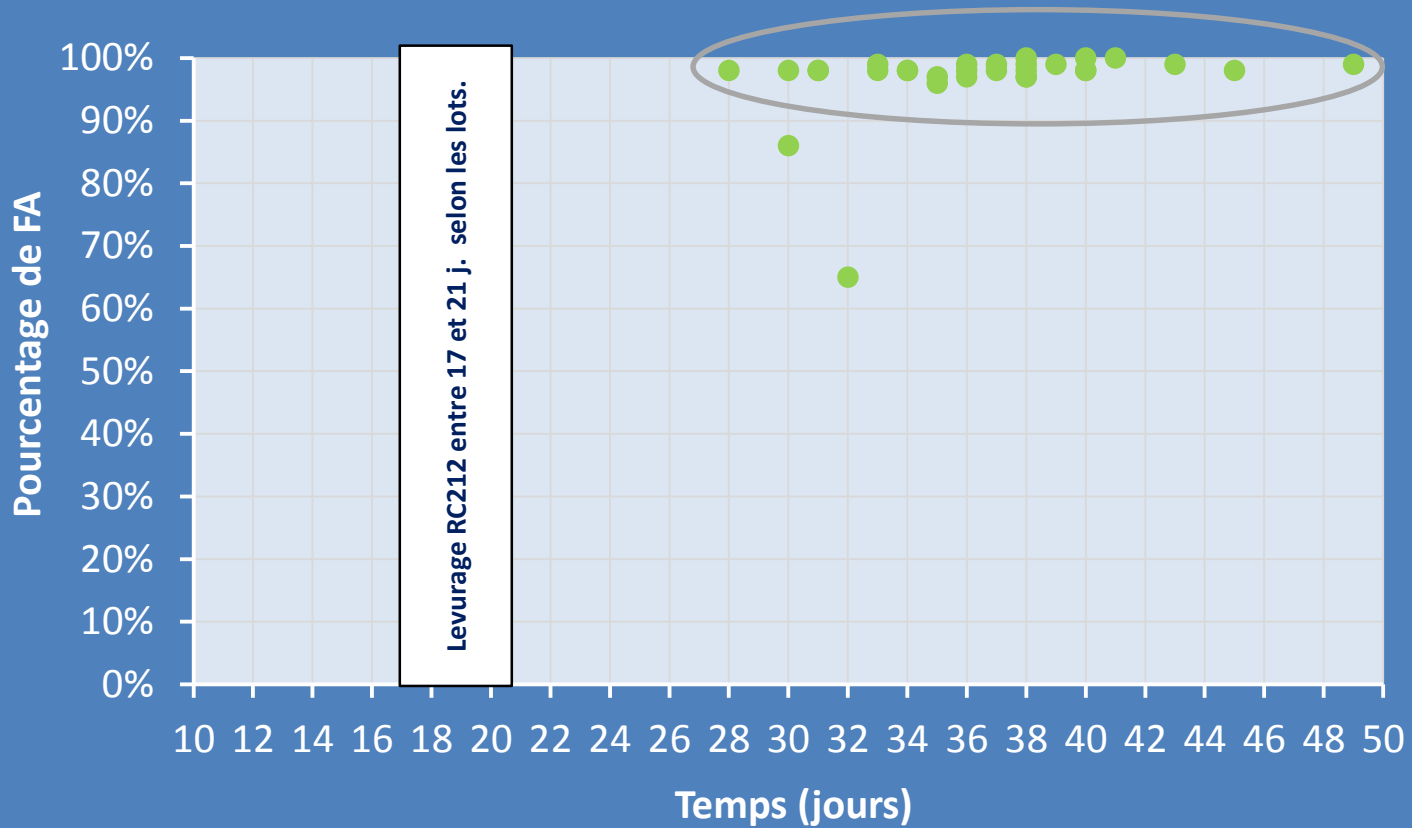
**Levurage avec *Saccharomyces cerevisiae* (RC212)  
de tous les lots avec une FA réalisée à moins de 5%**

**Soit 30 lots sur 80.**

Etat de la FA à l'arrêt de la dégradation des sucres pour les 50 lots non levurés (évolution FA de 3% max sur 3 jours).



Etat de la FA à l'arrêt de la dégradation des sucres pour les 30 lots levurés (évolution FA de 3% max sur 3 jours).



Code Rouge : pinot noir

Code jaune : blanc

Fond blanc : conventionnel

Fond noir : biologique

FA < 10%

FA 10% à 50%

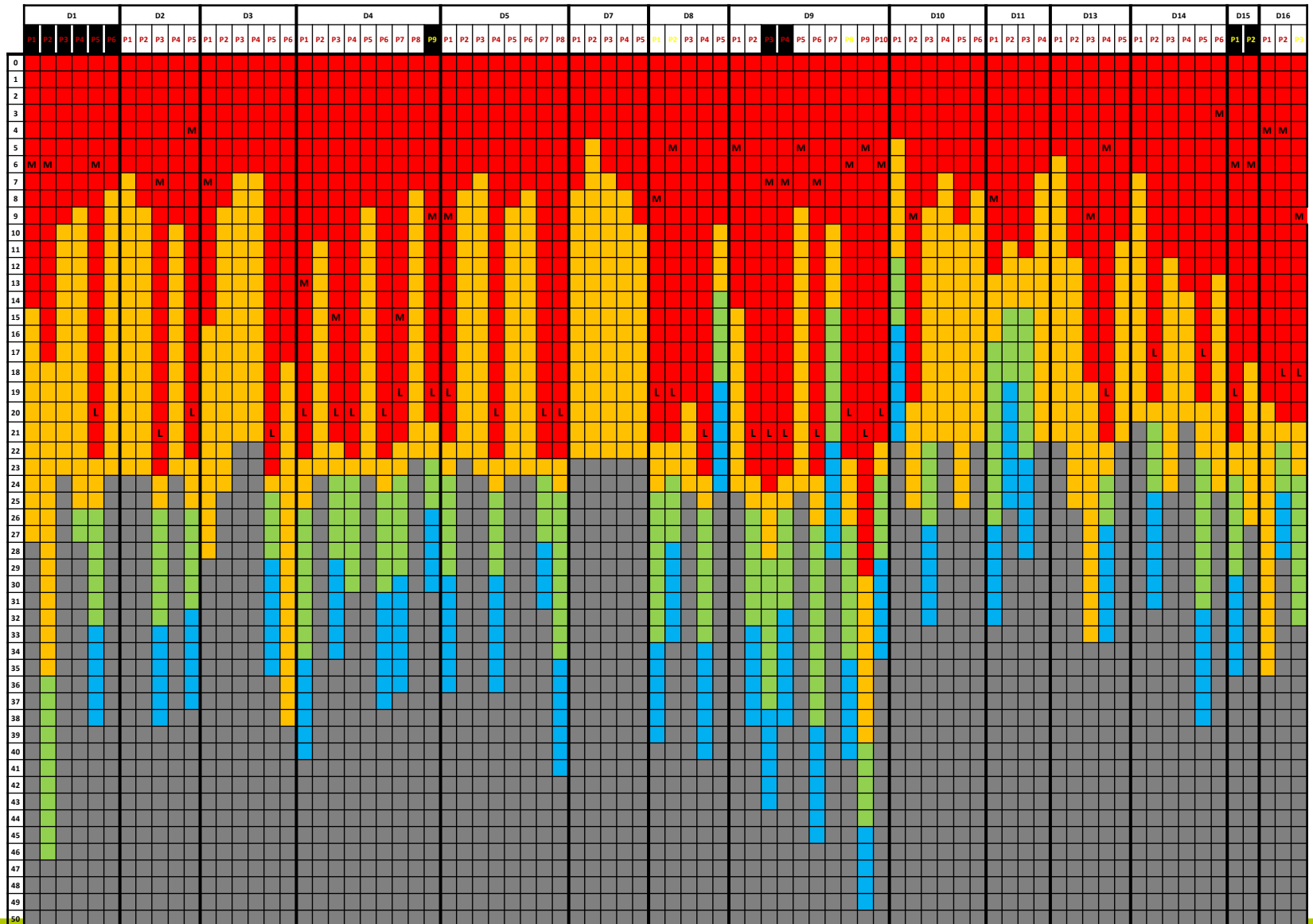
FA 50% à 90%

FA >= 90%

M Moisissures

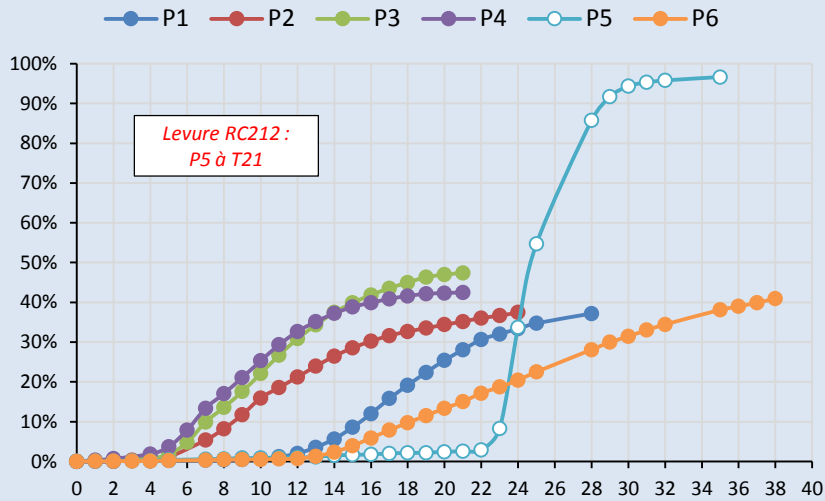
L Levurage SC (FA<5%)

Soutirage (fin FA)

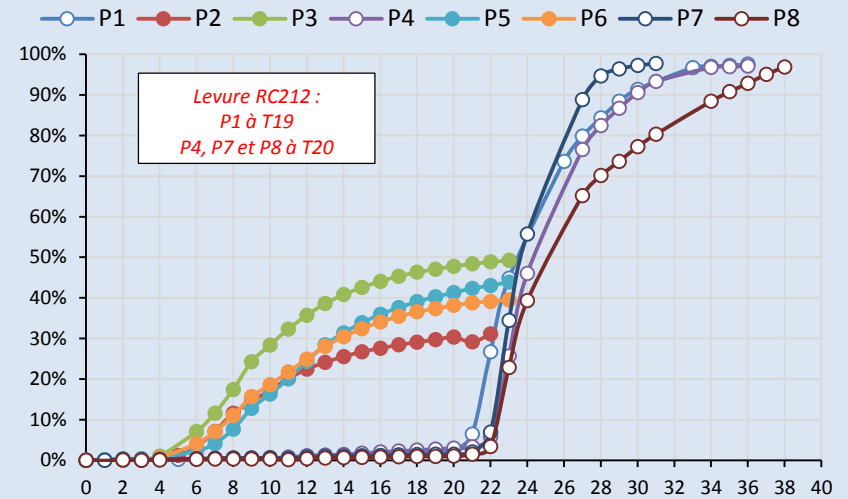


**Moisissures en surface pour 39% des lots après 4 à 15 jours d'incubation (FA inférieure à 10%)**

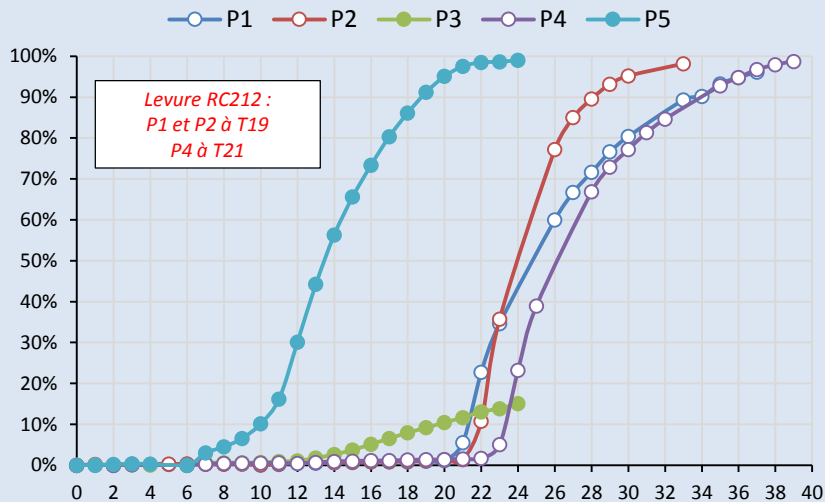
Dne 3 - Evolution de la FA (%) au cours du temps (jours)



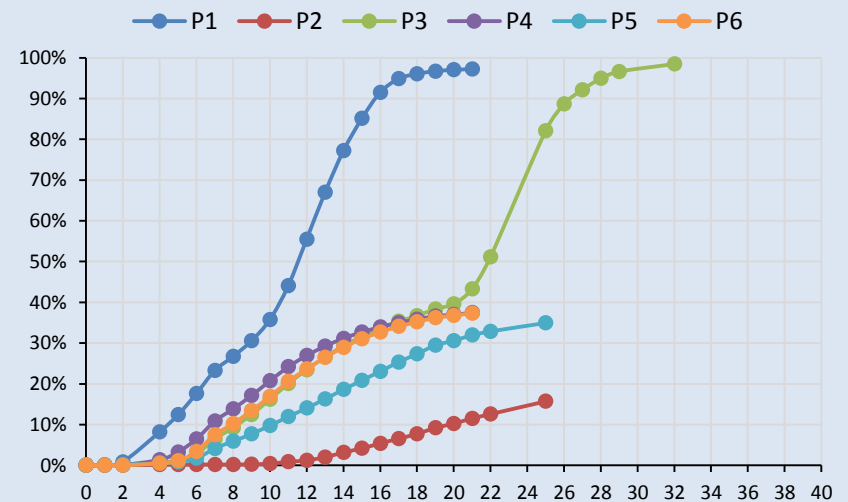
Dne 5 - Evolution de la FA (%) au cours du temps (jours)



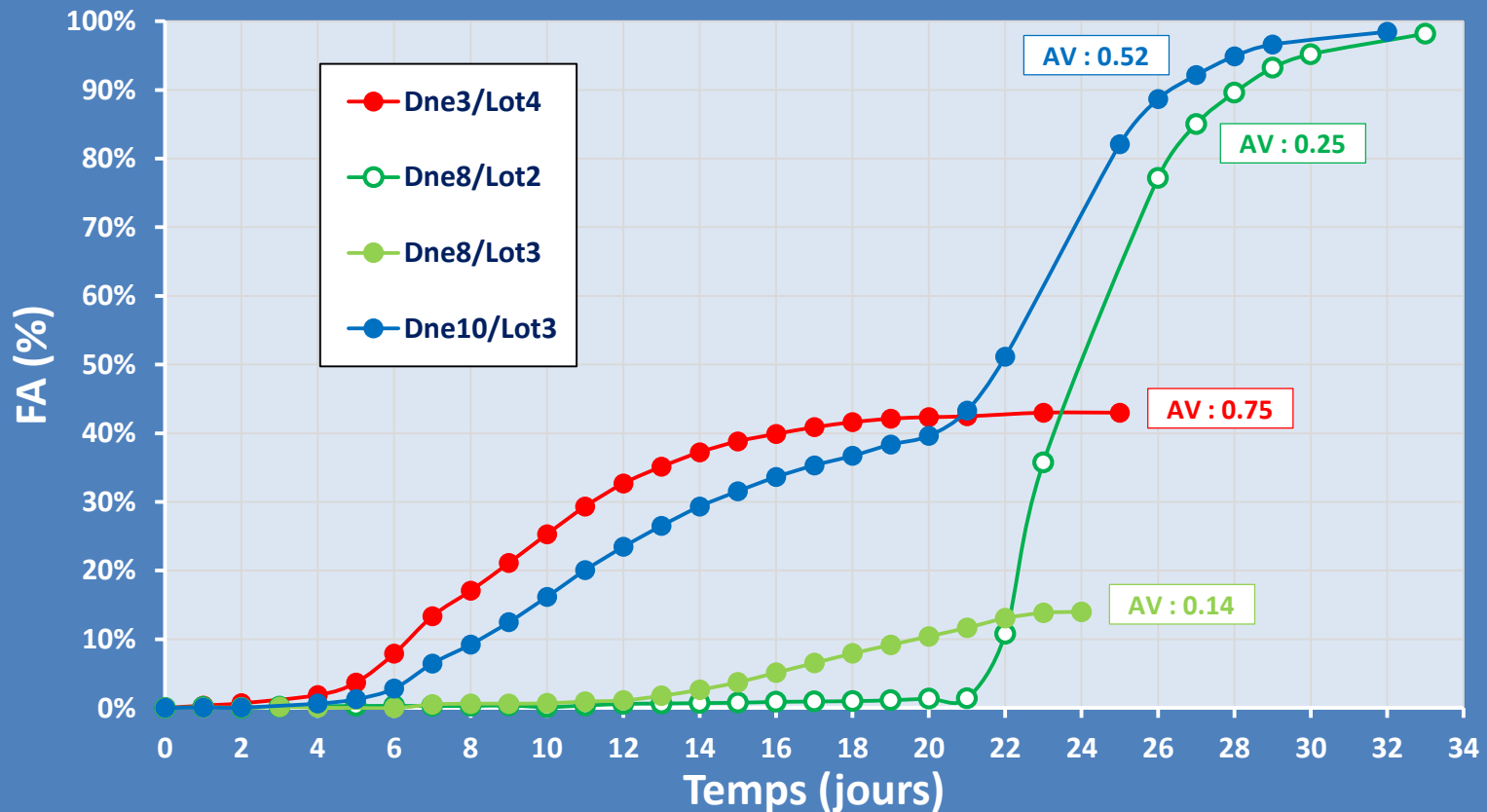
Dne 8 - Evolution de la FA (%) au cours du temps (jours)



Dne 10 - Evolution de la FA (%) au cours du temps (jours)

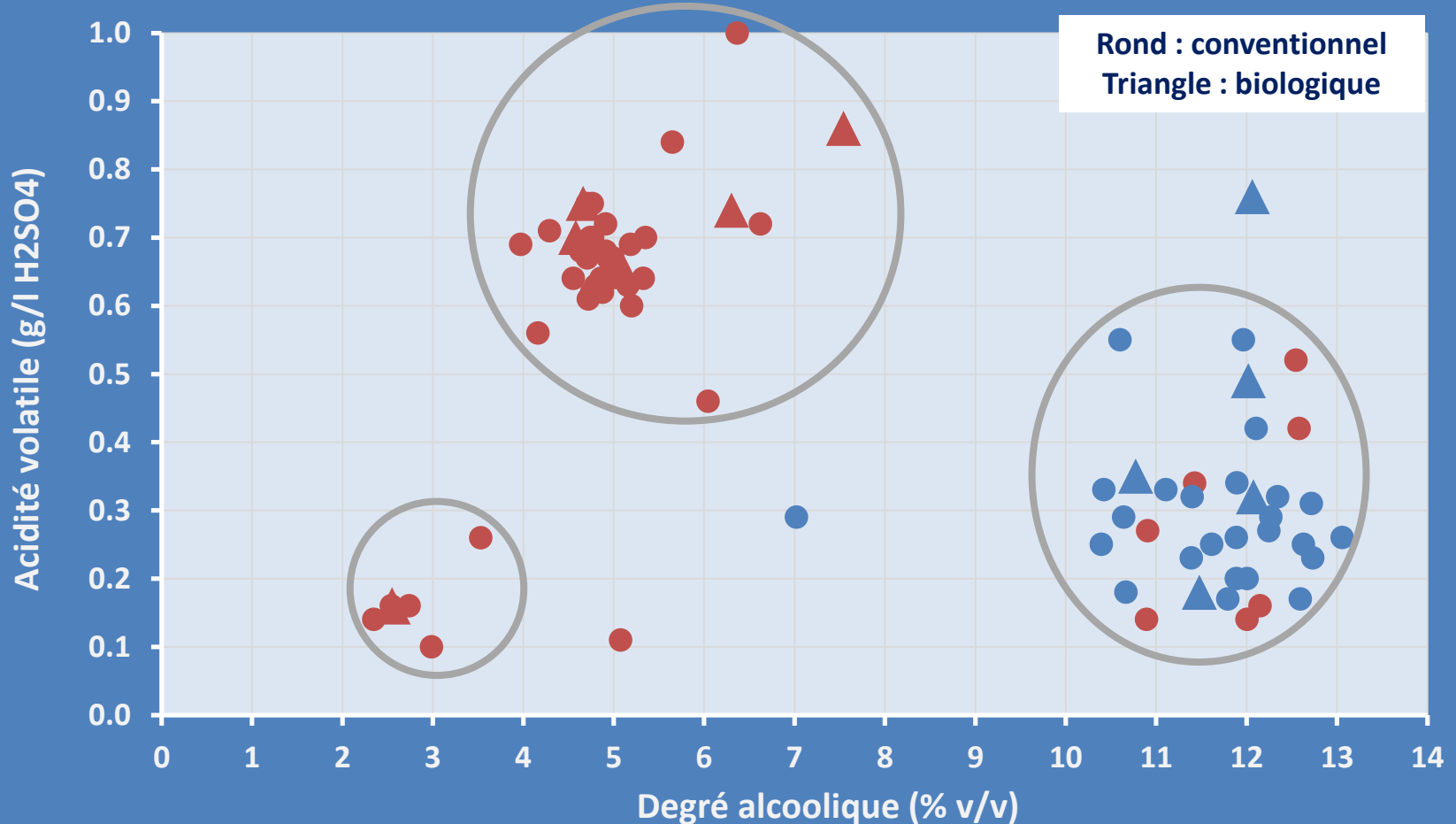


Evolution de la fermentation alcoolique et acidité volatile finale (g/L H2SO4) pour 4 parcelles.  
*Dne8/Lot2 : levuré avec RC212 à 20 jours.*



Analyses des vins à l'arrêt de la dégradation des sucres  
(20 à 50 jours d'incubation à 20°C)

Marque rouge : lots non levurés - Marque bleue : lots levurés





## Bilan analytique à la fin de la dégradation des sucres.

Réalisation de la FA	< 33 %	33 à 66 %	> 66 %	
Lots concernés (80 au total)	7.5%	46%	8.5%	38%
Levurage (SC)	Non	Non	Non	Oui
Teneur initiale en sucres (g/l)	203 +/- 9	202 +/- 10	202 +/- 8	200 +/- 10
Fin de dégradation sucres (j.)	24 +/- 2	25 +/- 5	27 +/- 4	37 +/- 5
Réalisation de la FA (%)	23 +/- 4	43 +/- 7	99 +/- 1	98 +/- 6
Degré alcoolique (% v/v)	2.8 +/- 0.4	5.1 +/- 0.7	11.8 +/- 0.7	11.6 +/- 1.1
Acidité volatile (g/l H2SO4)	0.16 +/- 0.05	0.67 +/- 0.13	0.28 +/- 0.15	0.31 +/- 0.13
Mise en évidence d' <i>Hanseniaspora</i>	0 sur 6	35 sur 37	0 sur 7	0 sur 30

## Recherche de *Brettanomyces* dans la flore des 80 lots de raisins (dénombrement sur boîte de Pétri avec un milieu spécifique)

Population (en cellules / ml)	Résultat obtenu pour les 80 lots
« fin FA » + 7 jours	< 10
« fin FA » + 2 mois	< 10
« fin FA » + 4 mois	< 10

« fin FA » : fin de la dégradation des sucres (FA +/- partielle)

**Recherche de *Brettanomyces***  
**dans 56 cuvées vinifiées en conditions pratiques**  
**et issues des 80 lots de raisins**  
*(prélèvements réalisés en novembre /décembre 2016)*

<b>Nbre de cuvées contaminées</b>	<b>17 sur 56</b>
<b>Population moyenne</b>	<b>2.5 +/- 1.0 Log cell./ml</b>
<b>Population mini</b>	<b>10 cell./ml</b>
<b>Population maxi</b>	<b>51 000 cell./ml</b>

## Les micro-organismes du raisin (sain)

Le raisin (sain) est contaminé par des moisissures.

Le raisin est contaminé par des levures :

- (Forte) Présence de levures faiblement fermentaires et très productrices d'acide acétique (notamment *Hanseniaspora*).
- Présence de levures très faiblement fermentaires et très peu productrices d'acide acétique (notamment *Metschnikowia*).
- Très faible présence de levures fortement fermentaires (notamment *Saccharomyces*).
- Quasi-absence de *Brettanomyces* sur le raisin ?

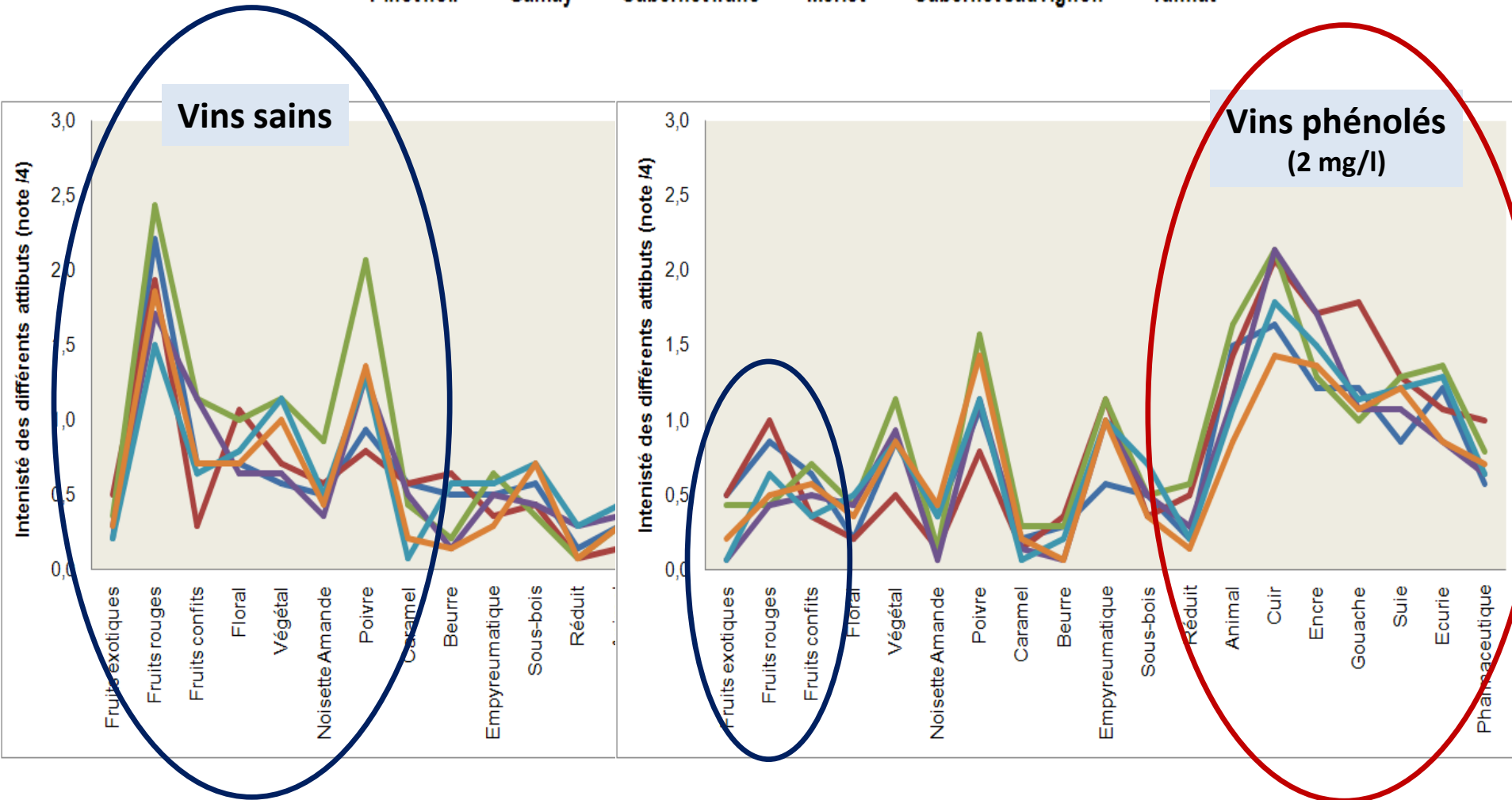
*L'activité de ces levures peut marquer la phase pré-fermentaire. Ces levures peuvent également augmenter la flore résidente de la cave. Ces phénomènes sont accentués avec la diminution de l'utilisation de SO<sub>2</sub>. La voie du biocontrôle est une alternative intéressante...*

# Evaluation du potentiel en phénols volatils du Pinot noir.

Travaux réalisés dans le cadre du programme régional  
« Au Cœur du Vignoble » cofinancé par le BIVB et l'IFV.

Vincent Gerboux et Jérôme Thomas  
*IFV, Unité de Beaune*

— Pinot noir — Gamay — Cabernet franc — Merlot — Cabernet sauvignon — Tannat'



Une présence dominante de phénols volatils est une négation du terroir.

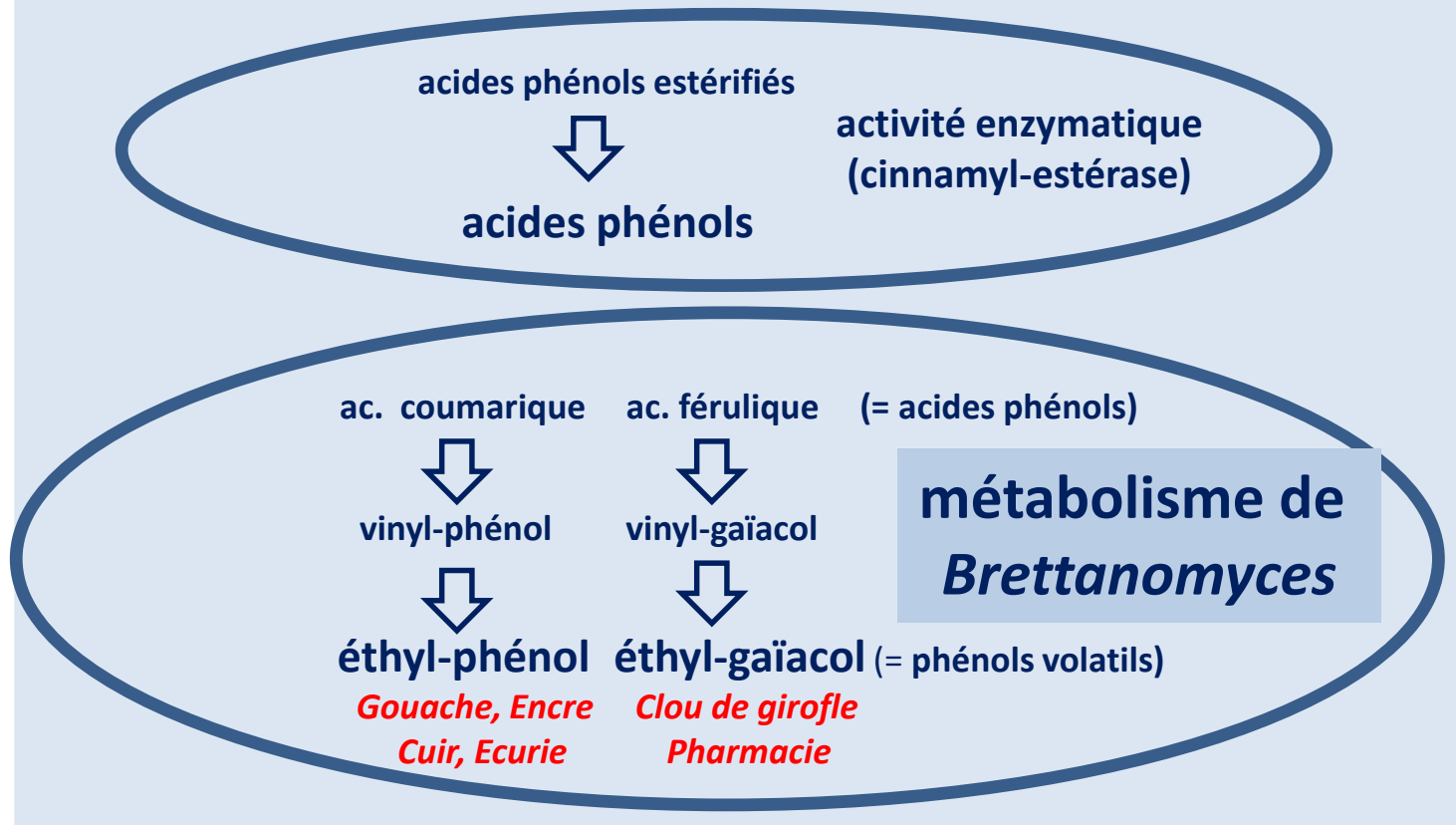
## Seuil de détection des phénols volatils.

**Ratio de 2/3 d'éthyl-phénol pour 1/3 d'éthyl-gaïacol (\*)**  
(utilisation de la méthode BET).

en $\mu\text{g/l}$	Chardonnay		Pinot noir	
	Non boisé	Boisé	Non boisé	Boisé
<b>Seuil de détection</b>	<b>128</b>	<b>241</b>	<b>173</b>	<b>231</b>

*(\*) Ratio établi à partir de l'analyse de 379 vins de pinot noir et 72 vins de chardonnay présentant une teneur en phénols volatils au maximum de 600  $\mu\text{g/l}$ ).*

## Origine des phénols volatils dans les vins





## Question :

**Quelle est la teneur en acides phénols des vins  
de Pinot noir de Bourgogne?**

**Ou**

**Quel est le niveau de risque de gout phénolé en cas de  
développement de *Brettanomyces*?**

## Problème

Si le dosage des phénols volatils est aujourd'hui précis (env. 10 µg/l), ce n'est pas le cas de celui des acides phénols précurseurs.

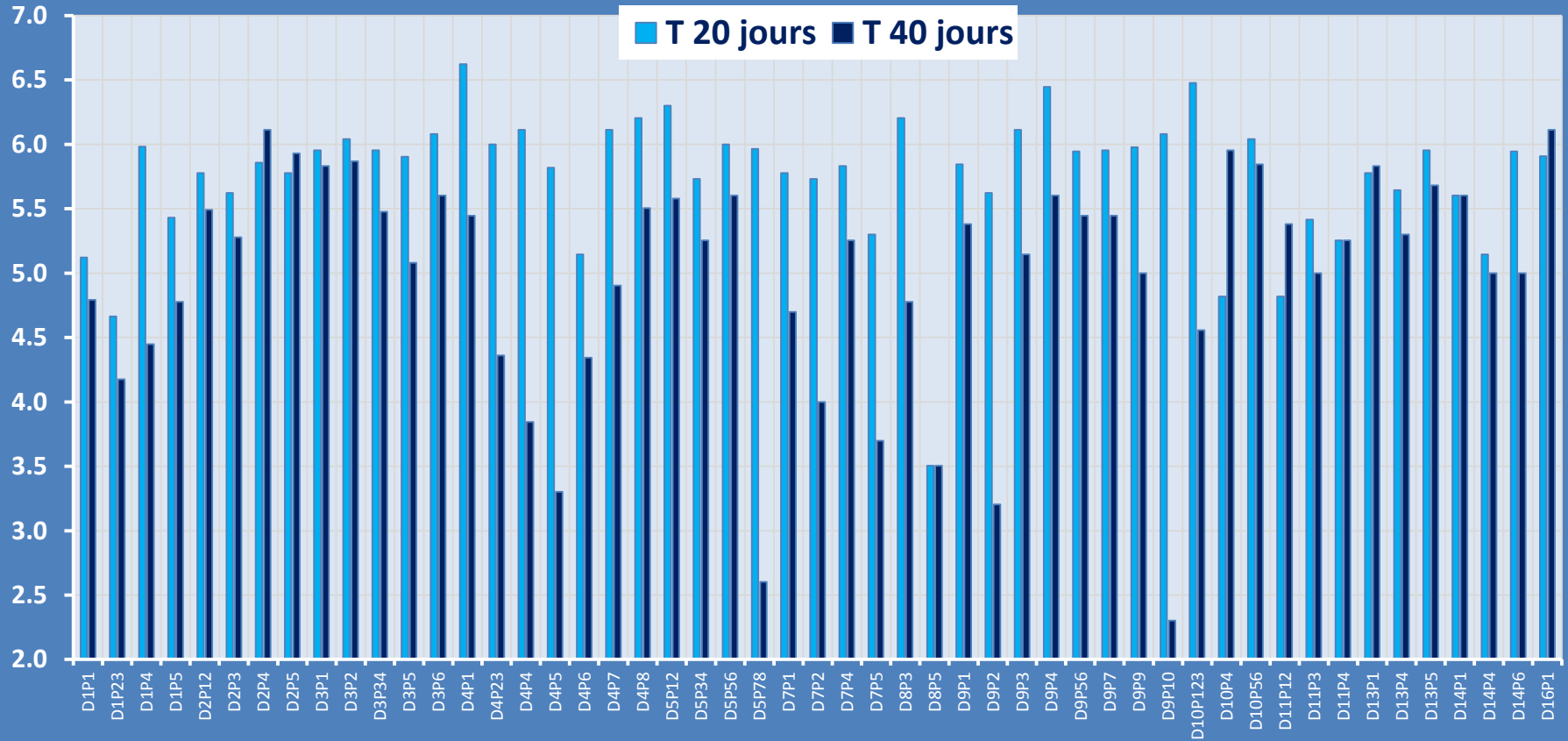
Il n'est donc pas (aujourd'hui) possible de déterminer le « risque phénols volatils » en analysant les précurseurs.

En provoquant la contamination en *Brettanomyces* pour dégrader l'ensemble des précurseurs disponibles, il est possible d'en déduire la quantité initiale de précurseurs.

## Protocole

- Prélèvements de 51 cuvées (13 Domaines) de Pinot noir 2016 après décuvage.
- Ajout de 1 g/l de glucose.
- Contamination avec *Brettanomyces* à 10 000 cell./ml (souche IFV L02B4, préalablement réactivée et pré-cultivée).
- Incubation à 20/22°C.
- Suivi de la population de *Brettanomyces* à T20, 40 et 60 jours
- Analyses des phénols volatils à T60 jours (Vinyl & Ethyl Gaïacol et Vinyl & Ethyl Phénol).
- Calcul du potentiel initial en acides phénols libres (acide férulique et coumarique).

Population de *Brettanomyces* après contamination (en Log cellules/ml)



**Présence de *Brettanomyces* indigènes dans la cuvée prélevée :**

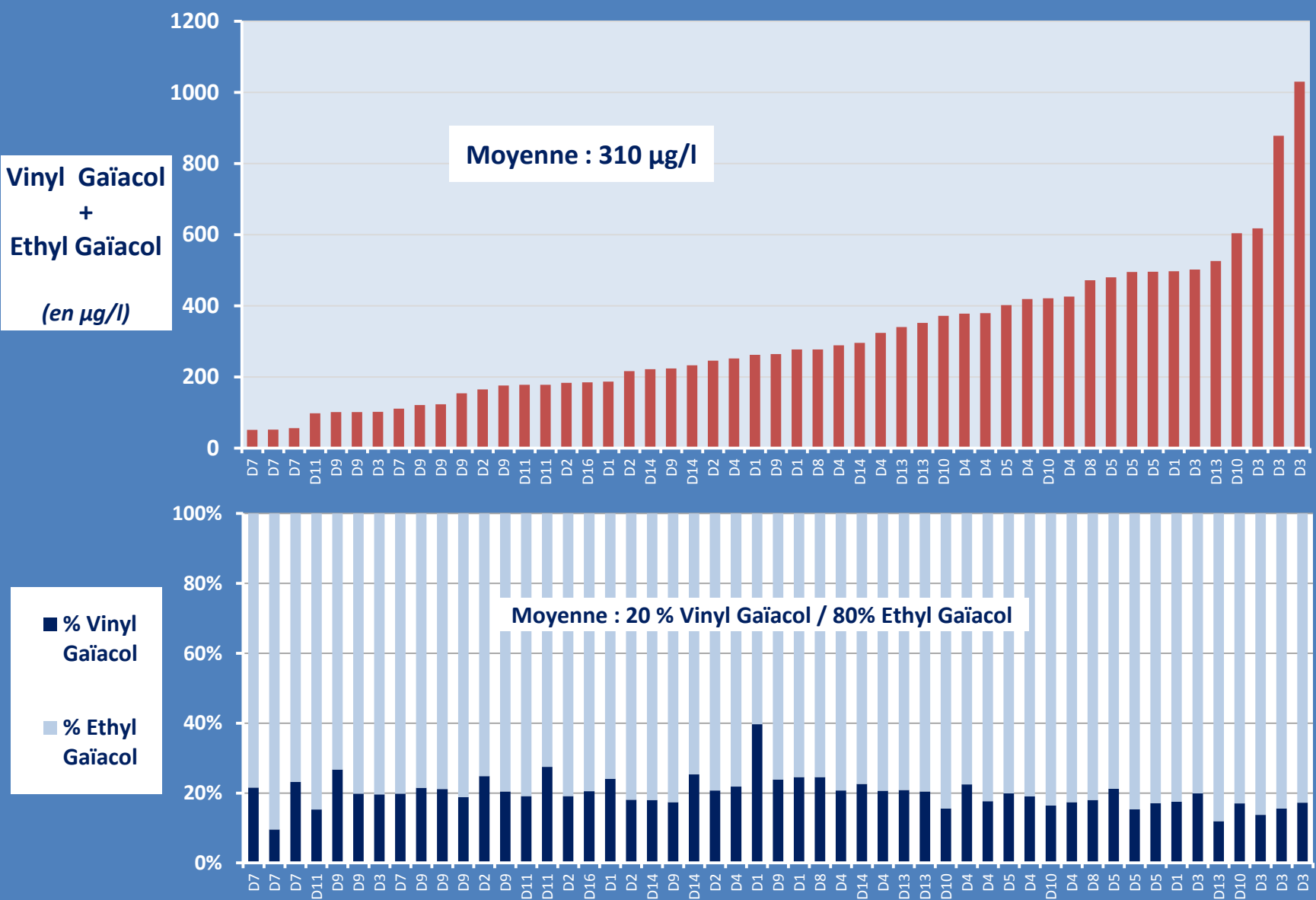
- 8 cuvées sur 51 concernées
- Population moyenne 920 cell./ml (2.3 log cell./ml)
- Mini 10 cell./ml / Maxi 3 100 cell./ml

## Validité de la méthode employée

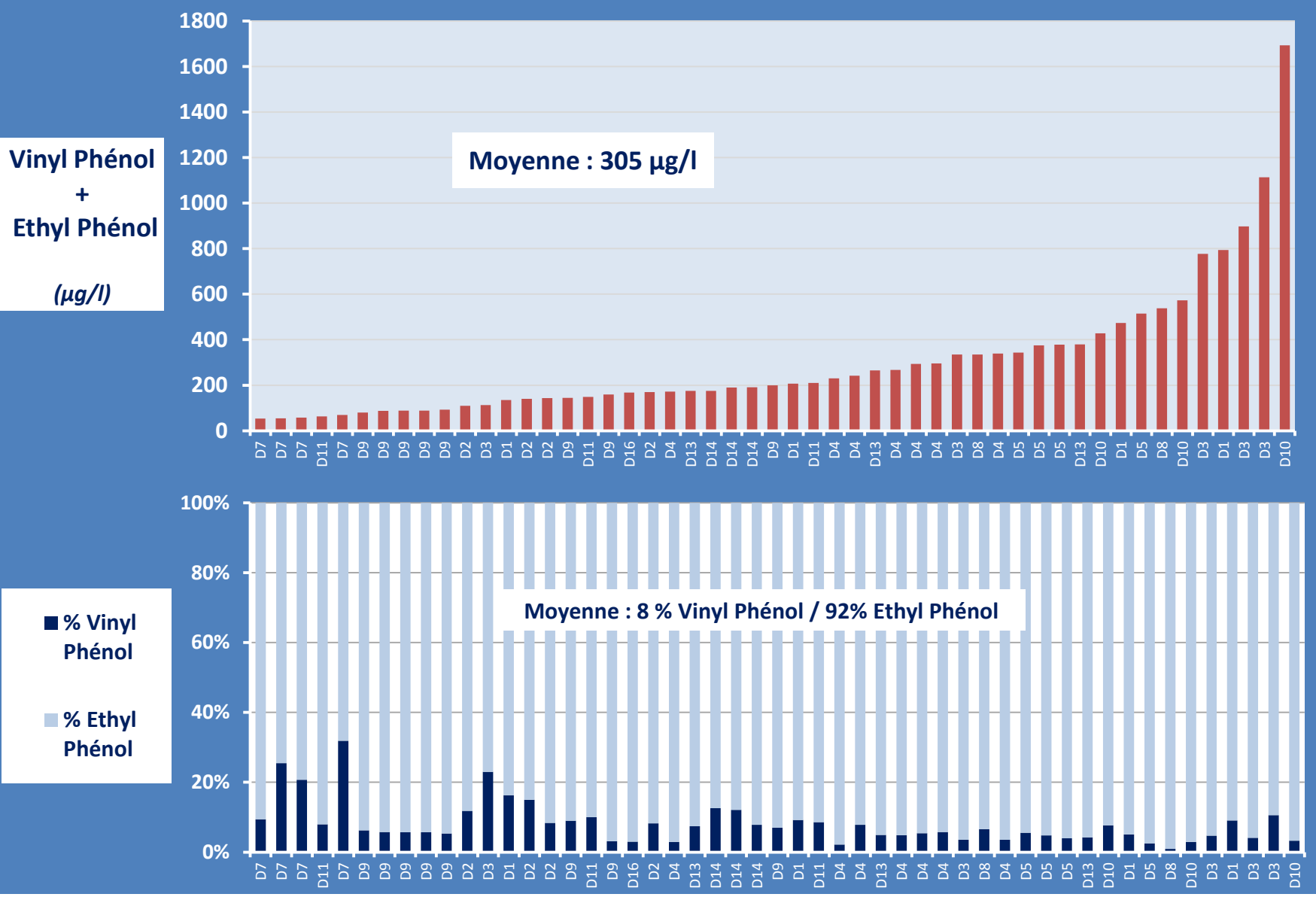
		C1 A	C1 B	B - A	C2 A	C2 B	B - A
Ajout dosé initial	ac. férulique (µg/l)	0	<b>500</b>		0	<b>500</b>	
	ac. coumarique (µg/l)	0	<b>1000</b>		0	<b>1000</b>	
<i>Brettanomyces</i> (cyto. Flux)	pop. T20j. (log cell./ml)	6.2	6.2		5.9	6.0	
	pop. T40j. (log cell./ml)	5.5	5.7		5.4	5.6	
Analyse phénols volatils à T60 j.	vinyl & éthyl gaïacol (µg/l)	362	778		166	493	
	vinyl & éthyl phénol (µg/l)	317	849		155	736	
Calcul acides phénols	ac. férulique (µg/l)	432	927	<b>495</b>	197	587	<b>390</b>
	ac. coumarique (µg/l)	430	1150	<b>720</b>	210	998	<b>787</b>

**89 % de l'ac. férulique et 75% de l'ac. coumarique, ajoutés initialement, sont retrouvés en final**

Teneurs croissantes en phénols volatils des 51 Pinot noir.



Teneurs croissantes en phénols volatils des 51 Pinot noir.



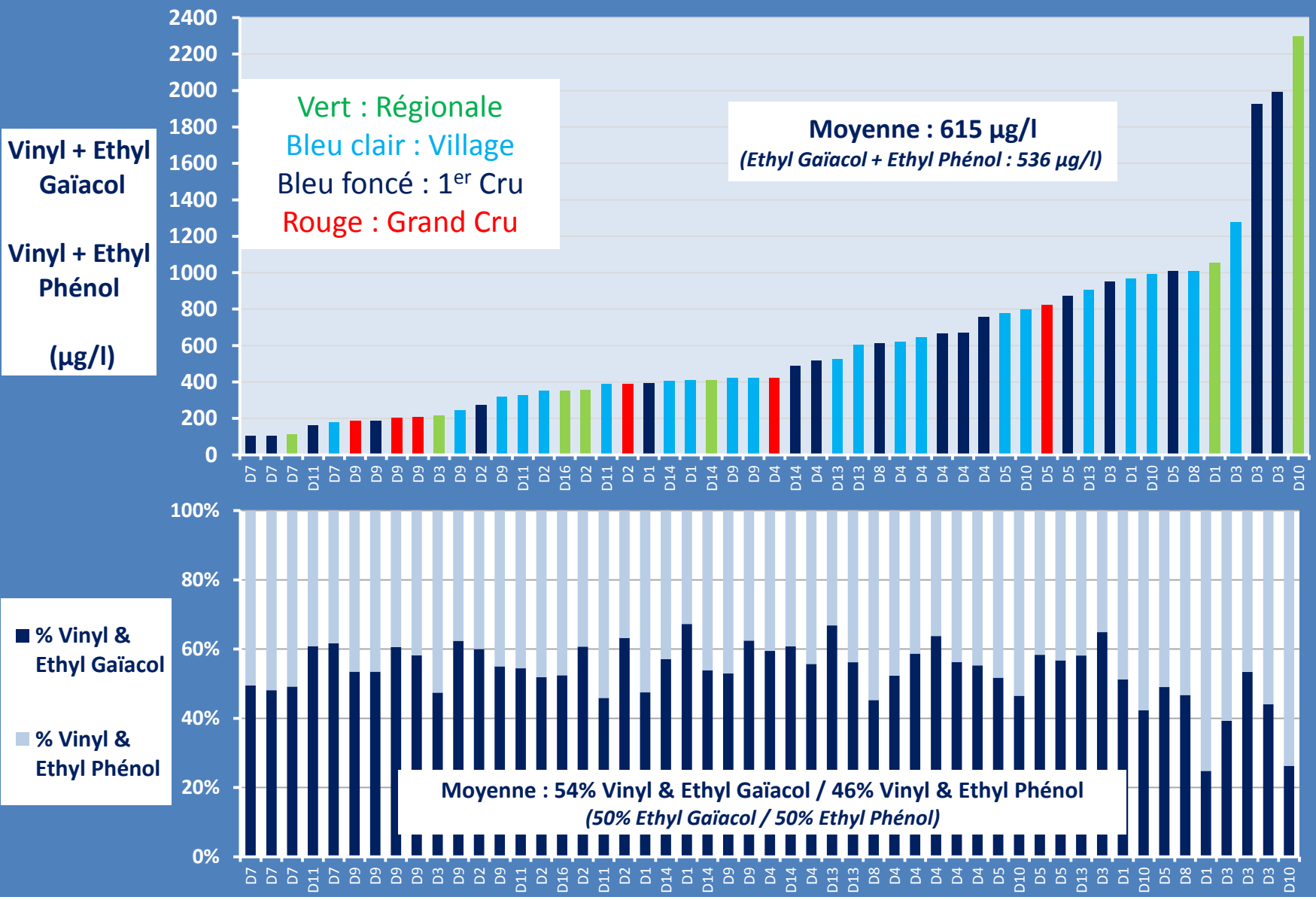
## Evolution temporelle de l'analyses des phénols volatils.

	fin d'incubation (T60j.)	fin d'incubation + 3 mois	diff
éthyl 4 gaïacol (µg/l)	367	412	12%
éthyl 4 phénol (µg/l)	468	514	10%
vinyl 4 gaïacol (µg/l)	97	23	-76%
vinyl 4 phénol (µg/l)	24	23	-4%

*La transformation du vinyl gaïacol en éthyl gaïacol (réductase) n'est pas complète en fin d'incubation.*



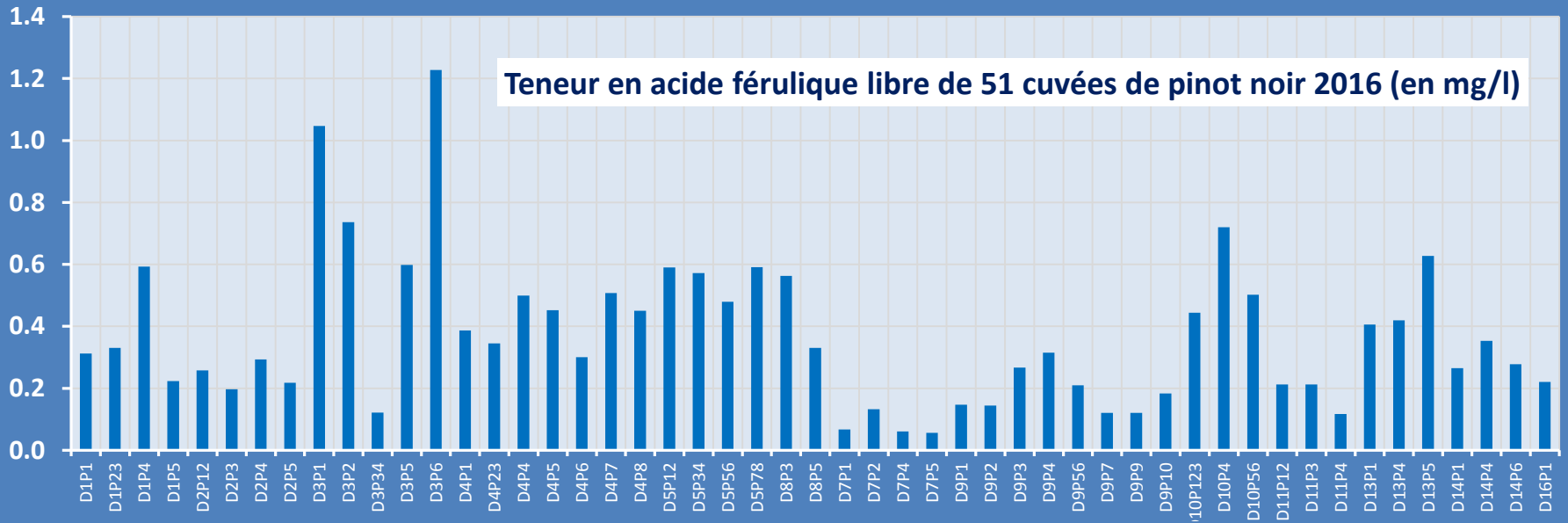
Teneurs croissantes en phénols volatils des 51 Pinot noir.



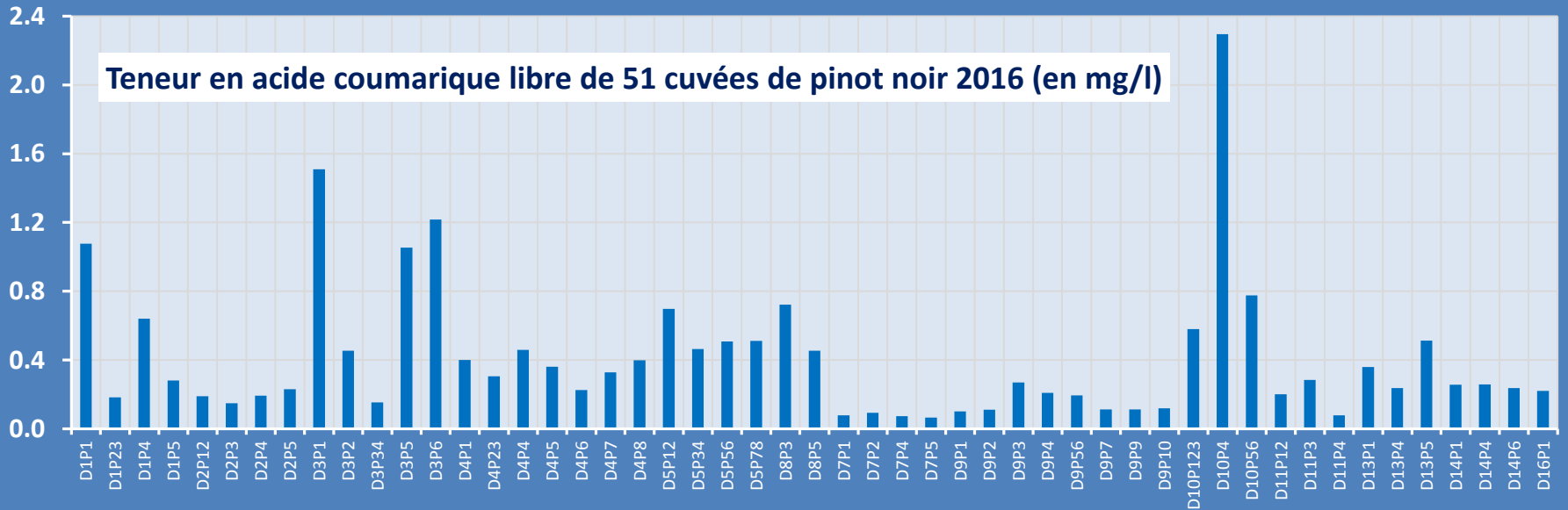
## Répartition des teneurs en phénols volatils de 51 Pinot noir. (millésime 2016, contamination en *Brettanomyces*).

Classes de teneurs en phénols volatils (en µg/l)	nbre de seuil de perception	Vinyl & Ethyl Gaïacol + Vinyl & Ethyl Phénol			Ethyl Gaïacol + Ethyl Phénol		
		Nbre de cuvées	% des cuvées	% cumulé	Nbre de cuvées	% des cuvées	% cumulé
entre 0 et 200	inf. à 1	7	14%	14%	10	20%	20%
entre 200 et 400	1 à 2	13	25%	39%	16	31%	51%
entre 400 et 600	2 à 3	9	18%	57%	9	18%	69%
entre 600 et 800	3 à 4	9	18%	75%	5	10%	78%
entre 800 et 1000	4 à 5	6	12%	86%	7	14%	92%
entre 1000 et 1400	5 à 7	4	8%	94%	1	2%	94%
supérieur à 1400	sup. à 7	3	6%	100%	3	6%	100%

Teneur en acide férulique libre de 51 cuvées de pinot noir 2016 (en mg/l)



Teneur en acide coumarique libre de 51 cuvées de pinot noir 2016 (en mg/l)



## Conclusions

- La teneur en acides phénols, précurseurs des phénols volatils, est faible dans l'absolu, pour les vins de pinot noir de Bourgogne.
- Après contamination en *Brettanomyces*, la production moyenne de phénol volatil pour 51 cuvées de pinot noir 2016 s'établit à environ 600 µg/L, soit environ 3 fois le seuil de perception.
  - La répartition entre éthyl phénol et éthyl gaïacol est de 50 / 50.
- Il existe cependant une grande disparité d'une cuvée à l'autre ou d'un domaine à l'autre, sans lien avec le niveau d'appellation.
  - La (les) cause de ces disparités reste à expliquer.
  - Les travaux sont reconduits pour le millésime 2017.