

Brettanomyces et phénols volatils

Outils pratiques
pour prévenir et limiter
les altérations dans les vins



Chez le même éditeur

La fermentation malolactique dans les vins – Mécanismes et applications pratiques
V. Renouf, 2013

Microbiologie du vin – Bases fondamentales et applications
A. Lonvaud-Funel, V. Renouf, P. Strehaiano, 2010

Analyses et décisions en œnologie – Guide pratique du laboratoire et de la cave
C. Bonder, 2014

Changement climatique et terroirs viticoles
H. Quénel, 2014

Le vin – De l'analyse à l'élaboration (6^e Éd.)
D. Delanoë, D. Maisondieu, C. Maillard, 2012

Manuel de viticulture (11^e Éd.)
A. Reynier, 2011

Bases scientifiques et technologiques de la viticulture (Coll. Manuels) (2^e Éd.)
Bac pro CGEA option vigne et vin modules MP 141-142 (Coll. TEAM)
G. Girard, 2010

Bases scientifiques et technologiques de l'œnologie (2^e Éd.)
Bac pro CGEA, option vigne et vin, modules MP 141 et 143 (Coll. TEAM)
G. Girard, 2012

L'œnologie (7^e Éd.) (Coll. Agriculture d'Aujourd'hui)
C. Navarre, F. Langlade, 2010

Le champagne – De la tradition à la science
B. Duteurtre, 2010

Traité de viticulture de terroir – Comprendre et cultiver la vigne pour produire un vin de terroir
R. Morlat, 2010

Les climats sur les vignobles de France
R.-P. Dubrion, 2010

Brettanomyces et phénols volatils

*Outils pratiques pour prévenir
et limiter les altérations dans les vins*

Vincent Renouf

Docteur-ingénieur en œnologie

Photo de couverture : Xtrachêne®

Direction éditoriale : Fabienne Roulleaux

Édition : Brigitte Peyrot

Fabrication : Estelle Perez-Le Du

Composition et couverture : Patrick Leleux PAO, Caen

Impression et brochage : Présence Graphique, Monts

© 2015, Lavoisier, Paris
ISBN : 978-2-7430-2086-6

Table des matières

Avant-propos	XI
Abréviations	XV
Introduction	1

Chapitre 1

Brettanomyces, origine et caractéristiques

1. Quelques rappels de microbiologie	7
1.1. Qu'est-ce qu'une levure ?	7
1.2. Bases de taxonomie microbienne	8
1.3. Reproduction des levures	8
2. L'espèce <i>Brettanomyces bruxellensis</i>	9
2.1. <i>Brettanomyces bruxellensis</i> , une espèce du genre <i>Brettanomyces</i>	9
2.2. Petit rappel historique autour de <i>B. bruxellensis</i>	10
3. Notion de souches.	11
3.1. Définition et identification de la notion de souches	11
3.2. Conséquences de la diversité des souches.	11
3.2.1. Différences dans la production des phénols volatils.	11
3.2.2. Autres différences phénotypiques.	14
4. Principales caractéristiques des levures <i>B. bruxellensis</i>	17
4.1. Données morphologiques	17
4.2. Données génétiques	17
4.3. Données métaboliques	17
4.4. Spécificités nutritives	18
4.4.1. L'azote.	18
4.5. Tolérance à l'éthanol	21
5. <i>B. bruxellensis</i> et impacts sur les vins	21
5.1. <i>B. bruxellensis</i> et production des phénols volatils.	21
5.2. Perception des phénols volatils dans les vins	22
5.3. Évolution de la teneur en phénols volatils	23
5.4. Production de phénols volatils chez les autres germes œnologiques	24
5.5. Disponibilité en substrats (acides phénols)	28
5.5.1. Richesse en substrats	28
5.5.2. Disponibilité en substrats	28
5.6. Les autres composés produits par <i>Brettanomyces</i>	29
5.6.1. Acide acétique	29

5.6.2. Amines biogènes	29
5.6.3. Tétrahydropyridines.....	30
5.6.4. Acides gras.....	30
5.6.5. Indicateurs de développement	31
5.6.6. Indicateurs de développement et synergie aromatique	31
5.7. Exemples de cinétique de production par <i>Brettanomyces</i>	33
5.8. Autres perceptions sensorielles des défauts « Brett »	34
6. Origine de <i>Brettanomyces</i> dans les vins	35
6.1. Voies de colonisation de <i>Brettanomyces</i>	35
6.2. <i>Brettanomyces</i> au sein de l'organisation du système microbien à la surface des raisins	36
6.3. Suivi des <i>Brettanomyces</i> du raisin au vin.....	37
6.3.1. Origine des <i>Brettanomyces</i> : le raisin	37
6.3.2. Effets de données viticoles sur la présence des <i>Brettanomyces</i>	39
6.4. Suivis de la population microbienne sur raisins et des populations dans les vins.....	41
7. Facteurs favorables au développement des <i>Brettanomyces</i> dans les vins	44
8. L'état VNC, mythe ou réalité ?	46
9. Des <i>Brettanomyces</i> dans les vins blancs ou rosés ?	48

Chapitre 2

Outils de contrôle durant les phases pré-fermentaires

1. Gestion de la vendange.....	53
1.1. Maturité, état sanitaire et sulfitage de la vendange	53
1.2. Ne pas sulfiter une vendange parfaitement saine	54
1.3. Cas particulier : l'usage adapté de LSA pour protéger le moût.....	55
1.4. Cas particulier du chauffage de vendanges	57
2. Gestion des phases pré-fermentaires.....	59
2.1. Macérations pré-fermentaires à froid	59
2.1.1. Une température maximale de 10 °C, la condition <i>sine qua none</i>	59
2.1.2. Levurage fractionné lors d'une MPF.....	61
2.2. Autres macérations pré-fermentaires	62
2.2.1. Macération sulfiteuse.....	62
2.2.2. Macération carbonique.....	64
2.3. Non-fouillage des baies de raisins.....	65
3. Opérations de concentration.....	66
3.1. Techniques soustractives.....	66
3.1.1. Effets directs et indirects sur la dynamique des <i>Brettanomyces</i>	66
3.1.2. Effet de la concentration sous vide sur le pH.....	67
3.2. Techniques additives	67

Chapitre 3

Gestion des fermentations

1. FA spontanée ou après inoculation avec une levure sélectionnée.....	69
1.1. Données sur la flore indigène	69

1.2. Conséquences possibles d'une FA spontanée	70
1.2.1. Maîtrise des autres populations	70
1.2.2. Maîtrise des paramètres physicochimiques	72
1.3. Inoculation par pied-de-cuve	74
1.3.1. Mise en œuvre d'un pied-de-cuve	74
1.3.2. Transfert du pied-de-cuve	75
1.3.3. Diversité intraspécifique dans un pied-de-cuve	76
1.3.4. Avantages et inconvénients de la gestion par pied-de-cuve	78
2. FA avec inoculation d'une levure sèche active (LSA)	78
2.1. Intérêts de l'usage d'une LSA vis-à-vis de <i>Brettanomyces</i>	78
2.2. Quelle LSA choisir ?	79
2.3. Bon usage d'une LSA	80
2.3.1. Stade de l'inoculation avec une LSA	80
2.3.2. Ne pas confondre inoculation précoce et début de fermentation rapide	81
2.3.3. Doses d'usage de la LSA	82
2.3.4. Cas pratique de l'ajout d'une LSA	82
2.3.5. « Assécher » le milieu en sucres	82
2.4. Protection de la LSA	84
2.4.1. Préparateurs de levures	84
2.4.2. Doses d'emploi des préparateurs de levures	85
2.5. Nutrition de la LSA	86
2.5.1. Nutrition azotée	86
2.5.2. Qu'est-ce qu'une réelle carence azotée ?	86
2.5.3. Azote ammoniacal, azote aminé et stades d'apports	87
2.6. Détoxifier le milieu pour aider la LSA	89
2.7. Généralités sur le choix des activateurs de fermentation	90
3. Gestion de la période entre la fin de la FA et l'enclenchement de la FML	92
3.1. Compétition entre <i>Brettanomyces</i> et les bactéries de la FML	92
3.2. FML précoce ou tardive ?	92
3.3. Enclencher la FML	93
3.4. Les quatre situations possibles	94
3.5. Optimiser la fermentescibilité malolactique	95
4. Levains malolactiques, des outils pour la prévention du risque <i>Brettanomyces</i>	97
4.1. Inoculer en bactéries sélectionnées	97
4.2. Optimiser le succès d'une inoculation en bactéries sélectionnées	98
5. Intérêt de la co-inoculation levures/bactéries	99
6. Gestion du sulfitage post-FML	100
7. Des alternatives possibles au SO ₂ post-FML ?	102

Chapitre 4

Outils de contrôle durant l'élevage

1. Rôle de l'élevage dans la stabilité microbienne des vins	105
2. Préparer son élevage de façon sécuritaire	107
2.1. Inhibition des cellules par le SO ₂	108
2.1.1. Calcul du SO ₂ moléculaire	108

2.1.2. Combinaison du SO ₂	109
2.1.3. Un objectif de SO ₂ moléculaire.....	112
2.1.4. Optimiser le SO ₂ moléculaire.....	112
2.2. Élimination des cellules.....	116
3. Gestion des vins de presse.....	117
4. Gestion des vins de lies.....	120
5. Gestion des vins d'ouillage.....	122
6. La vie microbienne dans la barrique.....	123
6.1. Barriques neuves et barriques usagées.....	124
6.1.1. Microflore intrinsèque du bois neuf.....	124
6.1.2. Lors du premier contact bois/vin.....	125
6.1.3. Différences entre les fûts neufs et les fûts usagés.....	126
6.1.4. Variabilité entre les barriques.....	127
6.2. Échantillonner correctement son parc à barriques.....	130
6.2.1. Nombre de barriques à échantillonner.....	130
6.2.2. Quelles analyses choisir et comment traiter les échantillons?.....	130
6.2.3. Mode de prélèvement dans la barrique.....	131
6.3. Entretien des barriques.....	135
6.3.1. Pénétration des <i>Brettanomyces</i> dans le bois des barriques lors du contact avec le vin.....	135
6.3.2. Procédures de nettoyage des barriques.....	136
6.3.3. Conservation des barriques vides.....	138
6.3.4. Hygiène des faces externes de la barrique.....	139
7. Effets des soutirages.....	141
7.1. Phénomènes généralement observés lors des soutirages.....	141
7.2. Différences observées selon le type de soutirage mis en œuvre.....	142
7.3. Effet des cliquages.....	146
8. Effets du collage.....	146
8.1. Collage au blanc d'œuf.....	147
8.2. Les autres types de colles.....	149
8.3. La bonne dose de colle pour une réelle baisse des populations.....	150
9. Chitosane.....	151
9.1. Données générales.....	151
9.1.1. Qu'est-ce que le chitosane?.....	151
9.1.2. Domaines d'utilisation du chitosane hors œnologie.....	152
9.1.3. Origine du chitosane utilisé en œnologie.....	153
9.1.4. Paramètres physicochimiques particuliers du chitosane.....	153
9.2. Actions antimicrobiennes du chitosane.....	154
9.3. Chitosane et lutte contre <i>Brettanomyces</i> dans les vins.....	155
9.3.1. Usage du chitosane en cas de détection d'une population préoccupante de <i>Brettanomyces</i>	155
9.3.2. Usage du chitosane en complément d'un soutirage ou d'un collage....	157
9.3.3. Doses d'emploi du chitosane.....	157
9.3.4. Optimisation de l'effet du chitosane.....	159
9.3.5. Contrôle de l'efficacité d'un traitement au chitosane.....	161
9.3.6. Recommandations pratiques d'un traitement au chitosane.....	163
9.4. Associations chitosane-lysozyme.....	163

10. Traitements physiques.....	167
10.1. Les trois principaux traitements physiques à visée antimicrobienne en œnologie : la filtration, le traitement thermique et la centrifugation.....	168
10.1.1. Techniques soustractives : filtration et centrifugation	168
10.1.2. Technique inhibitrice : flash-pasteurisation.....	169
10.2. Quel traitement choisir ?	172
10.2.1. Opérations physiques possibles en début d'itinéraire	172
10.2.2. Opérations de fin d'itinéraire	178
10.3. Quels sont les autres traitements physiques possibles ?	181
10.3.1. Traitements aux UV-C.....	181
10.3.2. Traitements à l'ozone	183
10.3.3. Champs électriques pulsés	183
11. Mise en bouteilles.....	184
11.1. S'assurer une dernière fois de la stabilité du vin.....	184
11.2. Préparer la mise en bouteilles.....	186
11.2.1. Anticiper la mise en bouteilles.....	186
11.2.2. Derniers ajustements possibles	187

Chapitre 5

Outils d'analyse des *Brettanomyces*

1. Points essentiels d'un contrôle microbien	189
1.1. Paramètres à doser	189
1.2. Corrélation coût/fiabilité.....	190
1.3. Délai escompté pour obtenir l'information	191
1.4. Mode de prélèvement	192
2. Les différentes analyses possibles	192
2.1. Techniques d'observation au microscope	192
2.1.1. Observation en état frais.....	192
2.1.2. Observation de la viabilité.....	193
2.2. Cytométrie de flux	198
2.3. Dénombrements sur boîte de Petri.....	199
2.3.1. Définition de la culture et du dénombrement sur boîte de Petri	199
2.3.2. Avantages et inconvénients du dénombrement sur boîte de Petri	200
2.3.3. Sélectivité des milieux de culture	202
2.3.4. Données de cultivabilité.....	206
2.3.5. Interprétation des résultats de dénombrement sur boîtes de Petri	208
2.4. Milieux liquides.....	212
2.4.1. Milieux d'enrichissement.....	212
2.4.2. Milieux à sniffer	212
2.5. Analyses de biologie moléculaire	213
2.6. Analyses chimiques	216
2.6.1. Dosage du SO ₂	216
2.6.2. Dosage des phénols volatils.....	219
2.6.3. Dosage des autres composés produits par <i>Brettanomyces</i>	220
2.7. Vers une bonne interprétation des résultats	221

3. Propositions de plans de suivi	226
3.1. Suivi analytique d'un lot de 290 hL dans une propriété en 2011	226
3.2. Suivi analytique d'un lot de 2 800 hL dans une cave coopérative en 2011	230
Conclusion	231
Remerciements	237
Bibliographie	239
Index	241

Avant-propos

La première fois que j'ai entendu parler de *Brettanomyces*, c'était à école d'ingénieur à l'INSA de Toulouse. À l'époque, tous les phénomènes fermentaires liés à la transformation des fromages, du pain, des vins, des bières, du tabac... m'intriguaient. Je ne savais pas encore que j'allais m'orienter vers l'œnologie. Lors d'un cours de fermentation industrielle, *Brettanomyces* nous avait été présentée comme un contaminant des fermenteurs utilisés dans la production de bioéthanol. « Contaminant » car les *Brettanomyces*, plus résistantes à éthanol que les *Saccharomyces*, se développaient en fin de cycle au détriment des *Saccharomyces*. Lors de recherches bibliographiques, je constatai que cette levure était célèbre dans le vin pour impacter négativement certaines perceptions aromatiques. Je découvris que cette levure conférait des notes « animales », « d'étable » ou « de cuir » aux vins. Mes origines normandes et des souvenirs de cidres fermiers m'évoquèrent très facilement ces impressions.

Quelques mois plus tard, après plusieurs expériences en propriétés viticoles et un DEA mené sur la fermentation alcoolique, tandis que ma passion pour le vin augmentait peu à peu au gré des bouteilles découvertes dans des cadres familiaux ou amicaux, je postulai à une offre de thèse pour le « Club des 8 », l'association des 8 premiers crus de Bordeaux : Ausone, Cheval Blanc, Petrus, Haut-Brion, Margaux, Latour, Mouton-Rothschild, Lafite-Rothschild. Le sujet de la thèse évoquait une étude « d'écologie microbienne du raisin au vin ». Ce terme dissimulait, en réalité, la thématique *Brettanomyces*. Dans la nébuleuse diversité des microorganismes du vin, celui qui importe le plus aux vinificateurs est véritablement cette levure. Chaque époque a son ennemi microbien. Après « les bactéries qui détruisent » le vin (Pasteur), l'objectant microbien contemporain est *Brettanomyces*. Mais, en 2003, la problématique était encore relativement taboue. L'opinion disait même que seuls « ceux qui travaillaient mal avaient des *Brettanomyces* ». Cet augure découlait d'études qui incriminaient systématiquement des défauts d'hygiène. Restreindre la problématique à l'hygiène évitait, en réalité, de se poser les bonnes questions : d'où proviennent ces fétides levures ? comment se développent-elles ? quels sont les outils adaptés pour les contenir ?

Et si l'essor de la problématique *Brettanomyces* découlait de changements bien plus significatifs ? Les *Brettanomyces* avaient probablement toujours existé alors pourquoi devenaient-elles soudain l'objet de toutes les attentions ? Le détail cache souvent l'ensemble. Et si les développements de *Brettanomyces* semblent plus fréquents et plus impactants, n'est-ce pas une conséquence indirecte d'autres évolutions telles que, d'un côté, l'augmentation des pH, des TAV, de la charge en composés phénoliques et donc des évolutions essentielles en termes d'équilibre

des vins, en lien bien sûr avec, de l'autre côté, une modification des attentes des consommateurs ? Il est évident aussi que les phénols volatils ne font pas bon ménage avec « le fruité » et « la sucrosité », évoqués à tout-va par les consommateurs actuels.

En 2003, étudier à nouveau *Brettanomyces*, plus de 40 ans après les premiers travaux d'Emile Peynaud, avec le support des techniques actuelles (notamment de biologie moléculaire) devait être l'occasion de s'interroger sur la pertinence de certaines pratiques. *Brettanomyces* était peut-être devenue une problématique essentielle parce que certains fondamentaux avaient trop rapidement été oubliés pour satisfaire opportunément de nouveaux modes de consommation de vin.

L'objectif de la thèse fut donc, sous couvert d'étudier les microorganismes des raisins et des vins dans leur globalité, de mieux comprendre la problématique *Brettanomyces*. Si, pour les initiateurs de la thèse, l'étude d'écologie microbienne était le prétexte à l'étude des *Brettanomyces*, pour le jeune passionné de vins que j'étais, la microbiologie était le prétexte à la découverte et à l'apprentissage d'un milieu œnologique envoûtant. Cette thèse fut ensorceleuse et fondamentale à titre personnel. Quel bonheur pour le gamin de 22 ans que j'étais que de travailler dans le cadre si prestigieux des premiers grands crus bordelais, tout en disposant, pour satisfaire mon attrait originel pour la microbiologie, de moyens analytiques performants au laboratoire du professeur Aline Lonvaud-Funel à la faculté d'œnologie de Bordeaux. Les personnes rencontrées m'apprenaient le vin, la vinification et la dégustation. J'étais une éponge qui emmagasinait toutes ces informations. En retour, avec le dynamisme d'Aline-Lonvaud-Funel, nous avançons ensemble peu à peu. Nous comprîmes que *Brettanomyces* était véritablement au centre du consortium microbien œnologique et que la problématique concernait potentiellement tous les vins. Nous appréhendâmes l'intérêt de certaines pratiques et la dangerosité de certaines tendances actuelles.

Quelques temps après la fin de ma thèse, un des responsables d'un cru essentiel dans mon parcours me proposa de rencontrer un scientifique qui, quelques années auparavant, avait réalisé certains travaux fondateurs sur *Brettanomyces*. Mon enthousiasme traduisit cette possibilité de rencontre comme une formidable opportunité d'échanges. La rencontre devait avoir lieu à Saint-Emilion dans l'une des plus belles caves qui m'a, à ce jour encore, été donné de visiter. Ce cadre prestigieux amplifiait mon excitation. Après plusieurs années de manipulations au laboratoire et d'essais dans les chais, évoquer *Brettanomyces* dans l'ancre des grands vins rouges bordelais avec un référent en matière de *Brettanomyces* provoquait en moi une réelle jubilation. Mais l'excitation est très vite retombée. Mon supposé interlocuteur balaya toute discussion avant même que je puisse lui poser la moindre question. « Ah, c'est vous qui faites encore joujou avec *Brettanomyces* ! Tout est découvert depuis bien longtemps ! Aujourd'hui il n'y a que les c... qui ont encore des problèmes de *Brettanomyces* ! » Très déçu, je m'effaçai. Le dialogue technique se convertit en un monologue qui dura, en tout et pour tout, dix minutes. Pour lui encore seuls les défauts d'hygiène pouvaient être responsables des contaminations. « Les bons vinificateurs n'ont jamais de problème » invectivait-il. Dans

la voiture sur la route du retour, alors que j'écoutais mon chanteur préféré, ses paroles rebondirent dans mon esprit : « *À hurler du silence sûr que l'on n'entend plus rien !* » (Damien Saez) ; voilà bien ce qui en matière de *Brettanomyces* est le plus dommageable. Depuis plus d'un demi-siècle de nombreuses études ont été menées sur *Brettanomyces* à Bordeaux, à Toulouse, à Dijon, en France, à l'étranger. Chacune a livré son lot de résultats, d'expériences et ses avis mais parce que, depuis son origine, la thématique est associée à une certaine volupté, les échanges sont vains. Chacun campe sur ses positions. À force de certitudes et de préjugés le « mythe » *Brettanomyces* s'est entretenu de lui-même.

Les pages qui suivent ont été écrites avec une volonté simple d'information et de partage. L'objectif n'est pas d'évoquer des recettes miracles. *Brettanomyces* ne doit jamais être la principale préoccupation lors de l'élaboration des grands vins rouges. Même au gré des tendances présentes ou à venir, elle ne devrait jamais l'être. Il n'y a pas de grands vins rouges à zéro en phénols volatils. Et espérons même qu'il n'y en aura jamais ! *Brettanomyces* est à concevoir comme un véritable « *mal nécessaire* » qui rappelle à chaque vinificateur que la microbiologie du vin est un équilibre instable constant et incontournable qui peut très vite devenir une pénitence en cas de déséquilibre avec les autres paramètres du système : matière première, techniques et équipement de production, objectifs produits... L'élaboration des grands vins rouges repose sur des compromis entre des prises de risques, des traditions, des innovations et des authenticités scientifiques. Et c'est là, et seulement là, que *Brettanomyces* rentre en jeu...

Chers amis techniciens et passionnés du vin, bonne lecture.

Vincent Renouf