



Pour prédire le risque de contamination d'un vin rhodanien par les *Brettanomyces*, Inter Rhône développe un outil basé sur la microbiologie prévisionnelle et reposant sur des paramètres œnologiques simples.

# Prédire le risque de contamination par les *Brettanomyces*

► Mohand SADOUDI et Virginie SERPAGGI  
(Chargés d'étude Inter Rhône)

**I**NTER RHÔNE met en place une nouvelle approche d'étude de lutte contre les *Brettanomyces* et leurs capacités à contaminer un vin basé sur la microbiologie prévisionnelle.

La microbiologie prévisionnelle est une discipline qui permet de prévoir, par le biais de modèles mathématiques, si un micro-organisme va se multiplier, survivre, ou mourir dans un environnement donné. Il s'agit, à partir des données expérimentales, de construire un modèle établissant un lien entre condition expérimentale et croissance de façon à permettre une prévision.

La microbiologie prévisionnelle est déjà utilisée en agroalimentaire sur des aliments (poisson, viande) et des micro-organismes différents (*Listeria*, *Clostridium*, *Staphylococcus* et *Escherichia coli*).

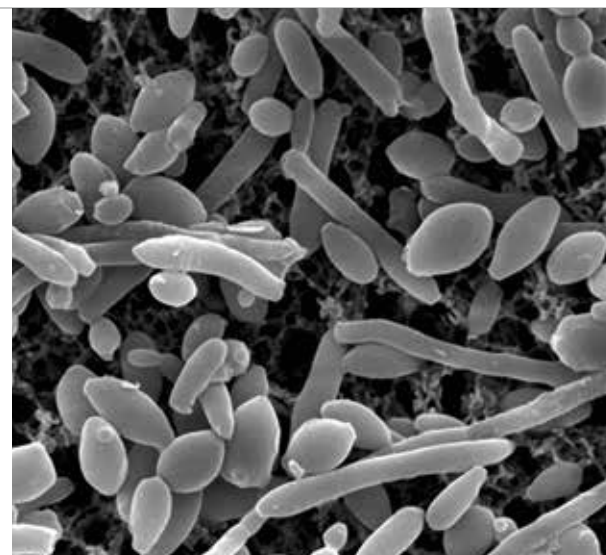
En ce qui concerne le vin, des outils de prévision du développement de *Brettanomyces* existent déjà. On trouve sur Internet le logiciel Brett Scoring® qui propose une gestion préventive du risque de développement de *Brettanomyces* en utilisant les données analytiques de la cuve (TAV, pH, Sucres, SO<sub>2</sub>, température) et les données qualitatives des raisins, la durée de la macération pré-fermentaire et de la FML. De la même façon, le logiciel Brett'Less® permet également de suivre l'évolution du risque de contamination au cours du temps sur ses cuves. Ceci en fournissant les données analytiques des cuves mais aussi les détails techniques sur les conditions de fermentation et d'élevage.

Il est important de noter que ces deux outils ont été développés grâce à des données issues de vins bordelais. La question

s'est donc posée quant à leur pertinence sur les vins de la Vallée du Rhône qui présentent des compositions physico-chimiques différentes. De plus, leur utilisation peut sembler lourde et fastidieuse du fait de la quantité de données à fournir. L'idée est donc de développer un outil adapté aux vins rhodaniens et basé uniquement sur les paramètres œnologiques de la matrice. Ce travail a été mené dans le cadre du projet national "Lutte contre *Brettanomyces*" financé par FranceAgriMer qui a fait l'objet de trois années d'expérimentation sur différents aspects curatifs et préventifs vis-à-vis de *Brettanomyces*. L'un de ces aspects est le développement d'un outil de diagnostic pour la prévention du caractère phénolé dans les vins rouges de la Vallée du Rhône.

## Un outil de prévision adapté aux vins rhodaniens

Une partie du projet "Lutte contre *Brettanomyces*" consiste à étudier la physiologie de cette levure d'altération. Le suivi de la croissance et de la production de phénols volatils de différentes souches a donc été réalisé. Un plan d'expériences a été mis en place afin de tester, en un minimum d'analyses, un grand nombre de facteurs différents : pH, concentrations en sulfite et en sucres, taux d'alcool, température, quantité de lies. Au cours de la première année d'étude, il a fallu s'assurer que le développement de *Brettanomyces* et sa production en phénols volatils étaient modélisables. Un vin synthétique a donc été utilisé pour maîtriser tous les paramètres du milieu et ainsi, voir si les six paramètres choisis permettent à eux seuls de mettre en œuvre un modèle mathématique de prédiction. Les résultats étant concluants, il a été décidé de poursuivre en deuxième année avec un vrai vin



◀ **La croissance de la levure ainsi que la production de phénols ont été suivies pendant deux mois d'élevage.**

qui présente de nombreux paramètres non maîtrisables afin de vérifier que le modèle est transposable sur vin rouge.

Pour ce faire, la levure *Brettanomyces* a été cultivée dans un vin rouge dans lequel ont été modifiées les teneurs des paramètres œnologiques : pH, température, SO<sub>2</sub> actif, alcool, sucres et lies. Trois valeurs pour chaque paramètre ont été testées.

Un plan d'expériences a été mis en place afin de tester, en un minimum d'analyses, les six facteurs. Ainsi 54 vins différents ont été mis en œuvre.

La croissance de la levure et la production de phénols ont été suivies pendant deux mois d'élevage. Trois cas de figure de croissance et de production de phénols ont été observés sur les 54 vins étudiés (Figure 1).

Pour le premier cas (E43), on observe une mortalité totale de *Brettanomyces* 21 jours après l'inoculation. Par conséquent, aucun éthylphénol n'a été produit.

Pour le deuxième cas (E13), le niveau de population reste stable dès l'ensemencement

et ne s'accompagne ni de croissance ni de production de phénols volatils. Nous constatons ici qu'un niveau de population inférieur ou égal à  $10^4$  cellules/mL n'entraîne pas de production de phénols détectables en deux mois d'élevage.

Concernant le troisième cas (E3 et E21), dans ces conditions, *Brettanomyces* se développe et produit des quantités importantes de phénols volatils. Contrairement au deuxième cas, il faut noter que la production de phénols est détectée à partir d'une population supérieure à  $10^5$  cellules/mL. En effet, E21 produit des phénols volatils plus tôt que E3 puisqu'elle atteint un taux de population supérieur à  $10^5$  cellules/mL avant cette dernière.

La cohérence des résultats entre croissance et production de phénols et leur concordance vis-à-vis de la littérature ainsi que la confirmation de la significativité de ces résultats par une analyse statistique permettent de modéliser ces données pour construire l'outil de prévision.

La modélisation de ces données a permis d'obtenir deux équations mathématiques (population, éthylphénols) à six variables (pH, T,  $SO_2$ , alcool, sucres, lies).

Comment utiliser ces équations? Après la fermentation alcoolique, il suffit de rentrer les six paramètres œnologiques dans les deux équations qui nous donnent alors la population et la quantité d'éthylphénols qu'on obtiendra en deux mois si les paramètres œnologiques restent inchangés.

Une application informatique sera créée à partir de ces équations pour faciliter leurs utilisations et ainsi présenter un outil de prédiction rapide et efficace.

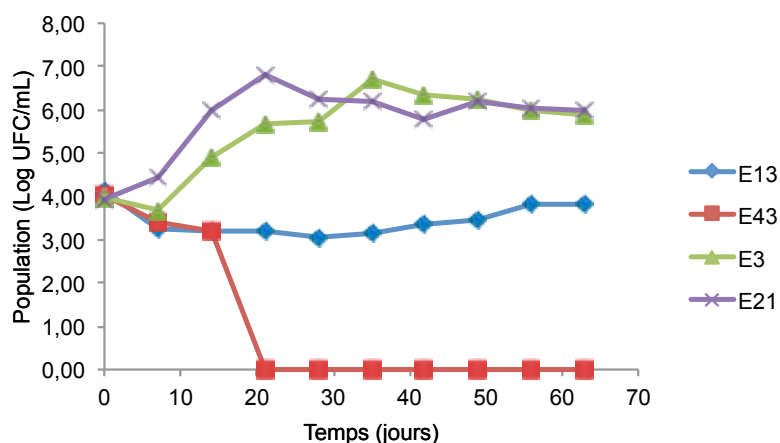
Ces deux années d'étude ont permis de créer et d'alimenter une base de données, qu'il faut maintenant tester en conditions réelles de contamination. Des analyses statistiques ont permis de vérifier la répétabilité et la robustesse du modèle. Pour la troisième année actuellement en cours, des vins rouges sans modification issus de différentes caves de la région ont été utilisés pour mesurer le niveau de pertinence de prédiction du modèle et le valider en conditions réelles. Un travail sur l'association entre actions préventives et niveau de risque reste également à mener, afin de déterminer au mieux les interventions à mettre en œuvre sur la cuve en fonction du niveau de risque déterminé par l'outil de prévision.

Pour conclure, il ne faut bien sûr pas considérer ces modèles de prévision comme des oracles, mais il s'agit de les utiliser comme des systèmes d'aide à la décision qui permettent de mettre en évidence les cuves susceptibles de subir un développement de *Brettanomyces*. Une attention toute particulière peut alors être prêtée à ces cuves pour éviter toute contamination. ■

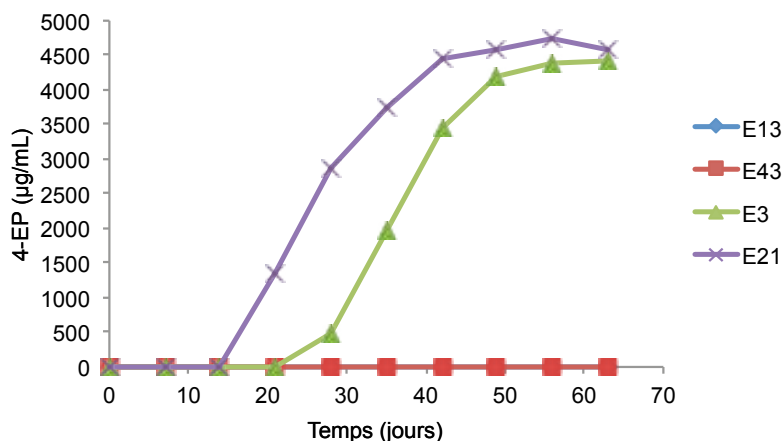
**FIGURE 1 : EXEMPLES DE CROISSANCE DE BRETTANOMYCES ET PRODUCTION DE 4-ETHYLPHÉNOL DANS QUATRE VINS**

	pH	Température (°C)	SO2 actif (mg/L)	Alcool (% vol.)	Sucres (g/L)	Lies (g/L)
E13	3,75	12	0	14,5	1,5	5
E43	4	12	0,3	13,5	3,75	5
E3	3,5	17	0	14,5	3,75	0
E21	3,75	17	0	15,5	3,75	0

### Croissance



### Production de 4-EP



**REDÉMARRER SIMPLEMENT VOTRE FERMENTATION !**

**YSEO** YEAST SELECTION

UVAFERM 43 RESTART™ permet aux vignerons de résoudre efficacement la plupart des problèmes d'arrêt de fermentation avec un protocole en seulement quelques étapes tout en préservant la qualité du vin. Lallemand CEnologie en collaboration avec Inter-Rhône a mis au point un processus de production qui rend la levure naturellement plus résistante aux stress causés par les teneurs en alcool élevées et d'autres conditions hostiles liées aux arrêts de fermentation. UVAFERM 43 RESTART™ est pré-acclimaté ce qui permet de simplifier les protocoles de reprise de fermentation.

Un monde de solutions naturelles pour valoriser vos vins | [www.lallemmandwine.com](http://www.lallemmandwine.com)