

Revue Française d'

ŒNOLOGIE

PUBLICATION OFFICIELLE DES ŒNOLOGUES DE FRANCE

312

JUILLET/AOÛT 2022

**Cahier bilingue spécial
"cytométrie en flux"**

Témoign d'ailleurs

Caroline Schaller : la Colombie-Britannique, à l'extrême limite de la production viticole

Portrait d'œnologue

Amélie Bimont, jeune œnologue entre la plume et l'éprouvette

DOSSIER

**PREMIÈRES RECHERCHES
FINANÇÉES PAR LE
FONDS DE DOTATION DES
ŒNOLOGUES DE FRANCE**

ÉDITO



Je suis particulièrement heureux et fier de vous présenter, dans ce numéro de la Revue Française d'Œnologie, les premiers travaux financés par le Fonds de Dotation des Œnologues de France. Nous avons voulu lancer ce fonds en 2020 pour aider davantage notre filière à relever les défis de demain, pour contribuer concrètement au financement de projets de recherche ainsi qu'à la formation des œnologues et des étudiants.

Notre souhait est bien sûr de favoriser l'innovation vitivinicole dans son ensemble mais également d'agir pour l'environnement, d'agir dans un souci de responsabilité sociétale et d'agir pour une meilleure prise en compte de la santé, à la fois des acteurs de la filière et des consommateurs.

A ce jour, le fonds a déjà permis de financer 15 projets de recherche sur des thèmes variés. Vous allez découvrir les résultats des 6 premiers.

Je tiens à remercier l'ensemble de nos généreux donateurs, anonymes ou affichés, petits ou grands, qui ont rendu et vont continuer à rendre ce beau projet réalisable.

Nous nous devons d'agir ensemble, de porter ces projets ensemble, de trouver des solutions ensemble. Il y a urgence !

Cette année encore les dérèglements climatiques n'ont pas épargné la filière ; fortes chaleurs et sécheresse ont succédé aux fléaux gel et grêle ; les incendies ont menacé les vignobles de leur fumée. J'invite d'ailleurs les chercheurs à lancer des projets de recherche sur ce risque émergent pour nos vinificateurs qu'est le goût de fumée. Sachez que le Fonds de Dotation des Œnologues de France sera là pour vous soutenir financièrement.

Je suis également heureux et fier de vous annoncer l'ouverture d'une collaboration entre les Œnologues de France et la chaire Unesco « Culture et traditions du vin » de l'université de Bourgogne. L'Union a demandé à pouvoir rejoindre le réseau international de la chaire Unesco. Cela ne sera effectif qu'en 2023 mais d'ores et déjà un partenariat s'engage. Nous préparons ensemble, sous le pilotage de la rectrice Patricia Taillandier que je remercie, une journée commémorative du bicentenaire de la naissance de Louis Pasteur, qui se déroulera en décembre prochain à Arbois dans le Jura.

En attendant, je voudrais souhaiter de bonnes vendanges au « Clos de Rosières », vigne jurassienne chère à Pasteur, ainsi qu'à toutes et tous les œnologues !

Didier Fages
Président de l'Union des Œnologues de France

Parce que le monde change



Le réchauffement climatique et la transition écologique, la santé et la protection de chacun, l'éthique de production... tels sont les sujets d'avenir qui nécessitent d'agir aujourd'hui. **Devenez acteur de ces changements** en donnant au Fonds de Dotation des Œnologues de France.

Les œnologues, à la fois pluridisciplinaires et experts, sont au cœur de la filière. Il en va de leur responsabilité à relever ces défis avec tous les acteurs du monde du vin.

CONTRIBUER AU FONDS DE DOTATION DES ŒNOLOGUES DE FRANCE, C'EST :

- FINANCER LA RECHERCHE
- ACCOMPAGNER LES FUTURS ŒNOLOGUES
- SOUTENIR LES ŒNOLOGUES
- SOUTENIR LA FORMATION CONTINUE

COMMENT DONNER AU FONDS DE DOTATION ?

Rendez-vous sur notre site internet www.oenologuesdefrance.fr et téléchargez le formulaire de don ou contactez nous par mail : fondsdedotation@oenologuesdefrance.fr

PARTICULIERS :

Votre don est déductible à **66%** de l'impôt sur le revenu (dans la limite de 20% du revenu imposable).

Exemple : un don de 100 € vous coûte réellement 34 €.

ENTREPRISES :

Votre don est déductible à **60%** de l'impôt sur les sociétés (dans la limite de 5‰ du chiffre d'affaires).

Exemple : un don de 1000€ coûte réellement à l'entreprise 400 €.

DOSSIER

© Emmanuel Perrin

PREMIÈRES RECHERCHES FINANCÉES PAR LE FONDS DE DOTATION DES ŒNOLOGUES DE FRANCE

Depuis sa création en 2020, le Fonds de Dotation de l'Union des Œnologues de France, a déjà permis de financer 15 projets de recherches concernant l'innovation dans la filière, la santé et la responsabilité sociétale des entreprises. Nous vous présentons les résultats des six premiers travaux financés en 2021.

« Soutenir la recherche scientifique, la formation continue et la formation des jeunes œnologues », telle est la mission que s'est donnée le Fonds de Dotation lancé par les Œnologues de France il y a deux ans. Concernant le volet recherche scientifique, « nous aidons au financement de projets dans le respect des trois orientations que nous avons identifiées, à savoir l'innovation bien sûr, mais aussi la responsabilité sociétale des entreprises et enfin la santé, incluant notamment la sécurité alimentaire, la consommation d'alcool, les problèmes d'anosmie et d'agueusie », explique Fabrice Plançon, le responsable opérationnel de ce fonds. L'objectif est donc avant tout d'accompagner les changements actuels et à venir de la filière : la lutte contre le dérèglement climatique, la transition écologique, la meilleure prise en compte de la protection de chacun et de l'éthique de production.

Deux appels à projets ont déjà été lancés, notamment auprès des équipes de recherche des universités de Bordeaux, Bourgogne, Montpellier, Reims, Toulouse et de SupAgro de Montpellier, particulièrement liées aux Œnologues de France. Le Fonds s'est doté d'un Comité scientifique piloté par Patricia Taillandier, enseignante chercheuse à l'INP de Toulouse et rectrice des Œnologues de France, pour sélectionner les projets qui seront financés parmi l'ensemble des candidats. 8 projets ont ainsi été retenus début 2021 et 7 autres début 2022 (voir les thèmes ci-contre).

Pour Patricia Taillandier, « les financements attribués aux laboratoires de recherche par le Fonds de Dotation donnent l'opportunité de tester des idées ou de démarrer des recherches sur des sujets d'actualité et ainsi « d'amorcer la pompe » pour obtenir par la suite des projets de plus grande ampleur. C'est donc une aide inestimable pour une recherche pouvant intéresser à terme à la fois les scientifiques et les professionnels de la filière. »

Pour financer ces projets, plusieurs appels de fonds ont été lancés depuis 2020, auprès de donateurs privés et professionnels. Un total d'environ 150 000 euros a pu être attribué et réparti entre les 15 projets de recherche 2021 et 2022.

Les six premiers projets présentés dans les pages à suivre concernent des thèmes aussi variés que la valorisation des lies, la caractérisation des anthocyanes des vins de variétés résistantes, l'oxydabilité des moûts et vins blancs champenois, les biofilms pour lutter contre *Brettanomyces*, le biocontrôle contre les mycotoxines de la vigne et la récupération de l'odorat et du goût.

Catherine Bioteau

LISTE DES PROJETS FINANCÉS PAR LE FONDS DE DOTATION EN 2021 ET 2022 :

*Projets de recherche :

2022 :

- Concept d'un procédé de décontamination alliant fibres de charbon actif et actinobactéries pour réduire la contamination en aflatoxine B1 et en ochratoxine A des produits de la vigne
- Effet de la contrainte hydrique sur l'accumulation des précurseurs de thiols dans les raisins de variétés résistantes aux maladies
- Utilisation de dioxyde de carbone supercritique pour la désalcoolisation du vin
- Expression fruitée des vins rouges de Bordeaux issus de cépages prometteurs dans un contexte de changement climatique
- Valorisation de sous-produits vinicoles, extraction et recherche de molécules bioactives dans les marcs et bourbes
- Enquête sur la récupération post-anosmie ou agueusie chez les professionnels de la dégustation
- Absence de dioxyde de soufre et bioprotection pendant les phases préfermentaires : étude de la biodiversité bactérienne

2021 :

- L'intelligence artificielle au service de l'analyse des vins
- Langue électronique antioxydante : évaluation de la capacité antioxydante des vins blancs en lien avec leur composition en molécules à propriétés antioxydantes
- Développement d'un procédé d'extraction verte pour la valorisation des lies de vin blanc
- Recherche d'anthocyanes diglucosides et triglucosides, dans les vins de variétés résistantes (hybrides)
- Oxydabilité et composition phénolique des vins blancs issus du fractionnement au pressurage des moûts champenois
- Biofilms positifs bactériens pour la maîtrise de *Brettanomyces*
- Production et formulation d'agents de biocontrôle d'origine microbienne pour limiter la contamination par les mycotoxines à la vigne
- L'imagerie mentale comme outil de récupération des capacités sensorielles des professionnels du vin

*Formation continue:

- Aide aux œnologues participant à la journée technique du 60^e Congrès des Œnologues à Mâcon
- Aide à la formation d'œnologues à la reconversion de vignoble en Beaujolais

*Formation des jeunes :

- Invitation de 6 étudiants DNO majors de promotion à la journée technique du 60^e Congrès des Œnologues à Mâcon
- Aide à la passation du TOEIC aux étudiants du DNO de Reims
- Prise en charge d'un déplacement en Alsace des étudiants du DNO de Reims
- Aide à la réalisation de planches de bande dessinée sur l'œnologie par une étudiante en DNO

QUI PEUT SOUTENIR LE FONDS ?

Particuliers et entreprises peuvent soutenir le Fonds. Les dons, au montant laissé libre, sont déductibles de l'impôt sur le revenu à hauteur de 66% pour les particuliers et de l'impôt sur les sociétés à 60%.

POUR EN SAVOIR PLUS

Toutes les informations concernant le fonctionnement du Fonds de Dotation et les projets soutenus sont disponibles sur le site : www.soutenir-oenologuesdefrance.fr

LE CHALLENGE DE LA VALORISATION DES LIES DE VIN BLANC : AUGMENTER LA DURABILITÉ DE LA FILIÈRE ET CONTRIBUER À LA RÉDUCTION DU SO₂

Par Emma Cholet, Benjamin Poulain, Claudia Nioi
Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, UMR GENOLOGIE 1366, Villenave d'Ornon (33)

Les lies de vin blanc sont bien connues pour leur potentiel antioxydant. En vue de la valorisation de ce sous-produit, l'étude des procédés de pré-traitement industriel des lies est fondamentale pour envisager l'obtention de produits d'intérêt œnologique.

Le dioxyde de soufre (SO₂) est l'additif chimique le plus employé en œnologie du fait de ses différentes propriétés. Néanmoins, la teneur de ce dernier dans le vin suscite de multiples interrogations d'ordre sanitaire. De nombreux travaux ont été réalisés proposant des voies alternatives chimiques, biologiques ou physiques pour garantir la stabilité microbiologique des vins. Toutefois, à ce jour, aucune stratégie, aucune substance n'est en mesure de remplacer l'emploi du SO₂, compte tenu de son large spectre d'action : antioxydant et antiseptique. Surtout, le remplacement de son action antioxydante reste un challenge.

Par ailleurs, la production de vin génère une quantité importante de déchets : 100 tonnes de raisin produisent environ 20 tonnes des différents sous-produits, dont 60% de marc de raisin, 25% de lies de vinification et 14% de rafles. L'ensemble de ces effluents se caractérise par une importante concentration en matière organique, dont le rejet dans le milieu naturel a un impact environnemental fort. Des stratégies de valorisation ont auparavant été mises en avant pour le marc de raisin, les rafles ainsi que les pépins. En revanche, peu d'activités de recherche ont été consacrées à la valorisation des lies de vin blanc. Pourtant, leur intérêt œnologique a bien été montré pour améliorer le potentiel de vieillissement des vins et plus particulièrement pour la protection des phénomènes d'oxydation (Lavigne et al., 2007). Dans un contexte d'économie circulaire et de durabilité environnementale, la valorisation de lies de vin blanc (sous-produits de la filière vitivinicole),

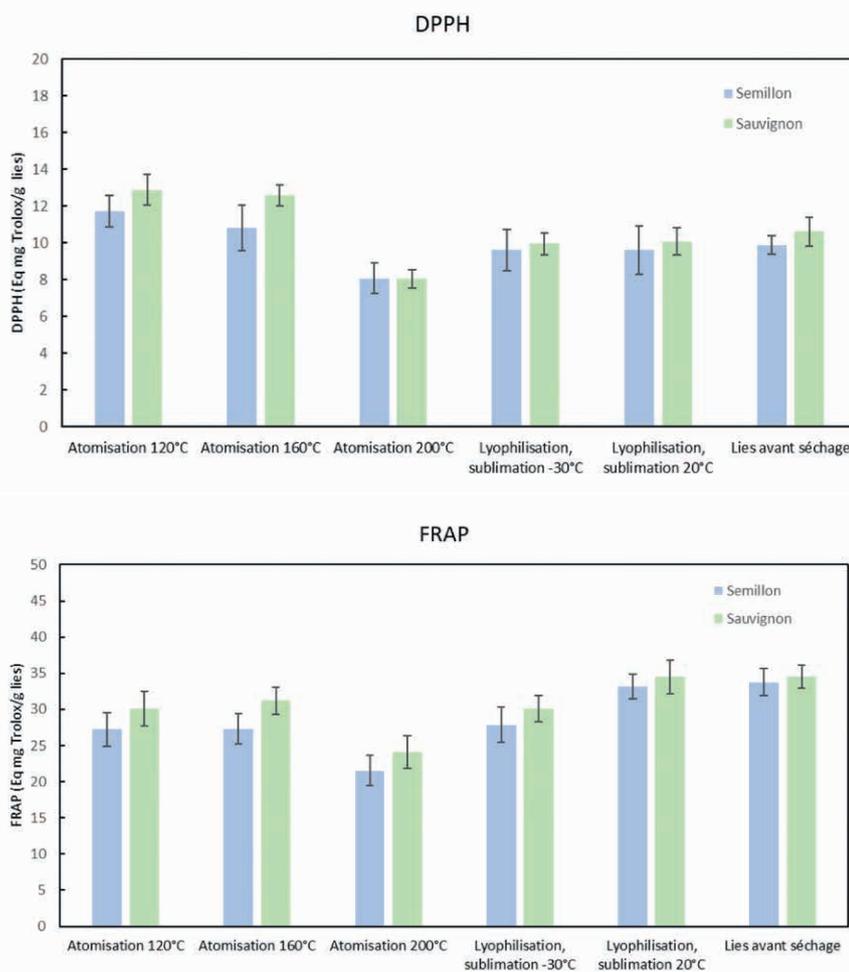


Figure 1. Capacité antioxydante (pouvoir antiradicalaire : DPPH et capacité de chélation du fer : FRAP) des lies de sauvignon et sémillon avant et après différents procédés de séchage.

connues pour leurs propriétés antioxydantes, est un enjeu de taille en vue de l'obtention de produits d'intérêt œnologique pour réduire la teneur en SO₂ dans les vins.

Généralement, la valorisation des sous-produits passe par différentes étapes : le séchage, l'extraction et la purification. Le séchage est une étape primordiale puisqu'il permet la stabilisation microbiologique et enzymatique d'un produit. Toutefois les conditions de séchage peuvent altérer les bioactivités des molécules d'intérêt. L'impact des différents procédés de séchage des lies sur le maintien de la capacité antioxydante a fait donc l'objet de notre étude et les résultats sont présentés dans cet article technique.

MÉTHODOLOGIE

La matière première utilisée pour cette étude est représentée par deux matrices de lies de vin blanc, issues de deux cépages bordelais, le sauvignon et le semillon (sauternes, premier cru classé supérieur, millésime 2021). Deux procédés de séchage ont été étudiés, la lyophilisation et l'atomisation, afin d'évaluer l'impact de leurs conditions opératoires sur la capacité antioxydante des lies sèches. La lyophilisation est un procédé de séchage à basse température et sous vide permettant d'éliminer l'eau contenue dans un produit. Il se déroule en trois étapes : la congélation, le séchage primaire ou sublimation et le séchage secondaire. En règle générale, l'étape de séchage primaire est la plus longue et son optimisation a un grand impact sur le coût du procédé. L'atomisation permet le séchage instantané par entraînement de l'humidité par l'air chaud (100°C-300°C).

Nous avons mesuré l'influence de différentes températures de séchage : 120°C, 160°C et 200°C pour le procédé par atomisation et -30° et 20 °C pour la sublimation dans le cas du procédé par lyophilisation. La capacité antioxydante a été évaluée par deux méthodes : la méthode DPPH, qui mesure le pouvoir anti-radicalaire et la méthode FRAP, mesurant le pouvoir de chélation du fer, catalyseur des réactions d'oxydation. L'activité antioxydante est déduite par comparaison avec un antioxydant fort, le Trolox (analogue hydrophile de la vitamine E).

RÉSULTATS

L'activité antioxydante des lies des deux cépages après différents modes de séchage est montrée dans la **figure 1**,

elle est évaluée par DPPH et FRAP et exprimée en équivalent Trolox/g. D'après les résultats nous n'observons pas de différence significative entre l'activité oxydante des lies avant et après séchage par lyophilisation et atomisation. Cependant, nous observons des différences selon les températures appliquées : le séchage par atomisation à une température de 200 °C diminue la capacité antioxydante des lies. La dégradation des molécules antioxydantes à des températures supérieures à 160 °C a déjà été observée dans la littérature (Chua et al., 2019, Saifullah et al., 2019).

L'impact du procédé et des paramètres opératoires de séchage sur la capacité antioxydante des lies est ainsi mis en évidence. Le séchage par atomisation est un processus fonctionnant en continu, peu coûteux, et rapide ce qui justifie son application à l'échelle industrielle. Le procédé de lyophilisation est un procédé discontinu et long (plusieurs jours) et par conséquent plus coûteux en temps et en énergie par rapport à l'atomisation (procédé continu). La température de sublimation pendant la lyophilisation n'affecte pas la capacité antioxydante. En effet, nos résultats ne montrent pas de différences de capacité antioxydante pour des températures de séchage entre -30 °C et 20 °C. La sublimation est l'étape la plus critique de la lyophilisation en terme d'énergie et donc de coût. De ce fait, il sera préférable de pratiquer la sublimation à température ambiante (20°C au lieu de -30°C). De plus, une augmentation de 1°C de la température de sublimation permet une réduction du temps de séchage d'environ 13%.

L'atomisation est donc conseillée dans le cadre d'une application à l'échelle industrielle et la lyophilisation à l'échelle de laboratoire.

À ce jour, aucune étude n'a été reportée sur l'évaluation de la capacité antioxydante des lies. Ces résultats permettent donc de montrer l'intérêt de moduler les conditions opératoires de prétraitement des lies en vue de leur valorisation ciblée.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Fonds de Dotation des Œnologues de France pour le soutien financier et le Château d'Yquem pour avoir fourni les lies de vin. Nous souhaitons remercier aussi Hassana Hsein et Pierre Tchoreloff de l'Institut de Mécanique et d'Ingénierie - I2M (UMR CNRS 5295), pour leur soutien dans la mise en œuvre des procédés de séchage.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Chua, L. Y. W., Chong, C. H., Chua, B. L., & Figiel, A. (2019). Influence of Drying Methods on the Antibacterial, Antioxidant and Essential Oil Volatile Composition of Herbs : a Review. *Food and Bioprocess Technology*, 12(3), 450-476. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2227-x>
- [2] Lavigne, V., Pons, A., & Dubourdiou, D. (2007). Assay of glutathione in must and wines using capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1139(1), 130-135. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.10.083>
- [3] Saifullah, M., McCullum, R., McCluskey, A., & Vuong, Q. (2019). Effects of different drying methods on extractable phenolic compounds and antioxidant properties from lemon myrtle dried leaves. *Heliyon*, 5(12), e03044. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03044>

PROJET IMPROV

L'IMAGERIE MENTALE COMME OUTIL DE RÉCUPÉRATION DES CAPACITÉS OLFACTIVES CHEZ LES PROFESSIONNELS DU VIN

Par **Sophie Tempère¹, Gilles Sicard², Clémence Litti¹, Gilles de Revel¹**

(1) Univ. Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, Bordeaux Sciences Agro, OENO, UMR 1366, ISVV, Villenave d'Ornon (33).
(2) Chercheur CNRS, olfactologue, directeur scientifique Fondation Edmond Roudnitska - Fondation de France, Paris.

Ce projet avait pour objectif principal de fournir aux professionnels de la dégustation des outils d'entraînement olfactif pour la récupération et le maintien de leur acuité (en cas de déficits spécifiques ou de troubles généraux de l'olfaction). Le protocole proposé a pour intérêt d'être pratique et adapté aux capacités sensorielles spécifiques des œnologues.

CONTEXTE

Tout expert de la dégustation peut être touché par des troubles de la perception olfactive. La crise sanitaire de la COVID-19 a mis en lumière les troubles généraux de l'olfaction tels que l'anosmie, l'hyposmie ou la parosmie. En outre, la COVID-19 n'est pas la seule cause possible de troubles de la perception olfactive. On peut aussi citer pour les causes les plus fréquentes les traumatismes crâniens, les maladies rhino-sinusiennes ou les infections des voies respiratoires supérieures (Landis, 2007).

En outre, dans des conditions dites normales de perception, de grandes différences interindividuelles apparaissent entre les experts en termes de sensibilité. En effet, la mesure de la sensibilité à différents composés clés des vins chez une large population de professionnels de la filière met en évidence qu'il n'existe pas de dégustateur parfait d'un point de vue de la sensibilité et que tout dégustateur est susceptible de présenter une/des anosmie(s) spécifique(s) ou hyposmie(s) spécifique(s) (c'est-à-dire avoir un sens normal de l'odorat, mais ayant néanmoins des difficultés à percevoir certaines substances odorantes particulières ou ne pouvant les détecter qu'à de fortes concentrations) (Tempère et al., 2011).

Dans le cas de troubles généraux de l'olfaction, l'exposition quotidienne à différents odorants (huiles essentielles, épices, herbes aromatiques, café etc.) a largement démontré son efficacité pour une optimisation en temps et en qualité de la récupération de l'acuité olfactive (Hummel et al., 2009).

Pour les déficits spécifiques de sensibilité que nous présentons tous, l'exposition répétée au composé d'intérêt

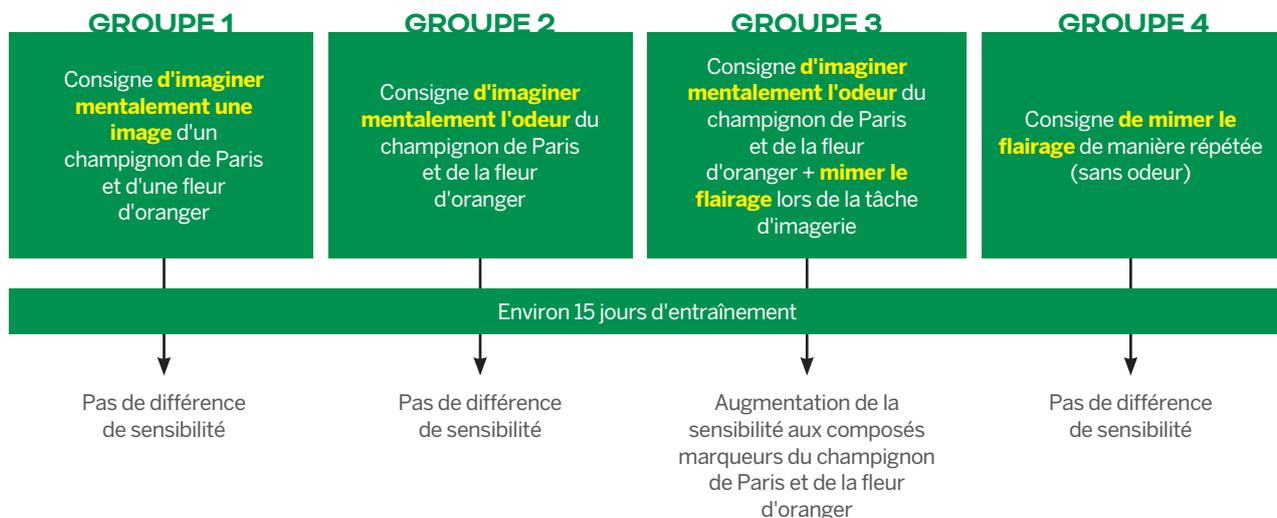
permet dans de nombreux cas une augmentation spécifique de la sensibilité (Tempère et al., 2012).

Cependant, des méthodes complémentaires doivent être proposées et utilisées pour palier la difficulté d'accès aux composés aromatiques ou pour permettre une stimulation du système olfactif même en cas d'obstruction des voies nasales empêchant le passage des molécules aromatiques. L'imagerie mentale est un bon exemple de méthode complémentaire pour l'entraînement et le maintien des capacités olfactives.

DÉMARCHE/MÉTHODOLOGIE

Dans des travaux précédents, nous avons démontré la capacité des professionnels du vin à imaginer mentalement des odeurs et la possibilité de l'utiliser comme entraînement afin d'augmenter leur sensibilité d'une amplitude similaire à celle d'un entraînement par exposition répétée (Tempère et al., 2014). Cependant, les conditions favorisant la création d'une image mentale olfactive sont peu connues. L'objectif de ce projet était donc de préciser les consignes à donner aux sujets souhaitant utiliser cette méthode. Plusieurs facteurs peuvent aider le dégustateur à créer ces illusions olfactives sur commande. Dans ce travail, un focus particulier a été fait sur le rôle du flairage, acte moteur clé de la perception (Laing et al., 1983 ; Mainland et al., 2006). En se basant sur notre précédent protocole (Tempère et al., 2014), l'importance de la consigne explicite de flairage lors de l'entraînement a été testée. Afin d'évaluer le bénéfice de celle-ci, les résultats obtenus auprès de différents groupes de sujets (12 sujets par groupe) ayant suivi différentes procédures d'entraînement quotidien ont été comparés.

Les sujets ont réalisé des tests olfactifs avant et après une période d'entraînement d'environ 15 jours. Les tests olfactifs consistaient en des mesures de la sensibilité à différents composés volatils du vin relatifs aux notes de champignon de Paris (ciblées lors de l'entraînement), de fleur d'oranger (ciblées lors de l'entraînement), et de rose (non ciblées lors de l'entraînement et utilisées comme témoin).



PRINCIPAUX RÉSULTATS

Les résultats obtenus démontrent l'importance de la consigne de flairage dans la création d'une image mentale olfactive, et donc de ses bénéfices en termes d'entraînement. Le flairage seul n'induit pas d'augmentation de la sensibilité indiquant bien que celui-ci va favoriser la création d'une image mentale olfactive, celle-ci induisant à son tour des modifications de l'acuité des sujets. Des chercheurs avaient déjà observé hors contexte d'entraînement, que le flairage améliorerait la vivacité (force) de l'odeur imaginée (Bensafi et al., 2003). A noter que comme pour un entraînement classique à l'aide d'un flacon odorant (par exposition répétée), l'augmentation de la sensibilité est spécifique aux items entraînés (pas de modification pour l'odeur de rose).

PERSPECTIVES DE TRANSFERT

La méthode proposée ici est directement transférable ou applicable par les professionnels. L'utilisation de l'imagerie mentale olfactive en complément d'un entraînement olfactif classique pourrait :

- Aider les professionnels présentant des troubles olfactifs généraux post-infections virales (type Covid-19). Elle est la seule pouvant avoir une efficacité dans le cas de l'obstruction des voies nasales.
- Permettre aux professionnels d'entretenir quotidiennement leur acuité olfactive et notamment de palier des manques de sensibilité spécifique que nous présentons tous (anosmies spécifiques / hyposmies spécifiques).

La méthode de création d'images mentales olfactives pourrait avoir vocation et intérêt à être enseignée, mais peut aussi devenir un outil universel pour les métiers liés à l'olfaction (œnologue, sommelier, parfumeur, cuisinier etc.).

BIBLIOGRAPHIE

- Bensafi M., Porter J., Pouliot S., Mainland J., Johnson B., Zelano C., Young N., Bremner E., Aframian D., Khan R., Sobel N. 2003. Olfactomotor activity during imagery mimics that during perception. *Nature Neuroscience*, 6, 11, 1142-1144.
- Hummel T., Rissom K., Reden J., Hähner A., Weidenbecher M., Hüttenbrink K-B. 2009. Effects of olfactory training in patients with olfactory loss. *The Laryngoscope*, 119, 496-499.
- Laing D.G. Natural sniffing gives optimum odor perception for humans. *Perception*, 1983, 100, 2, p. 99-117.
- Landis BN. 2007. Les troubles de l'odorat. *Revue Médicale Suisse*, 2, 2221-2224.
- Mainland J, Sobel N. 2006. The sniff is part of the olfactory percept. *Chemical Senses* 31, 181-196.
- Tempère S., Cuzange E., Bougeant J. C., de Reve, G., Sicard G. 2012. Explicit sensory training improves the olfactory sensitivity of wine experts. *Chemosensory Perception*, 5, 2, 205-213.
- Tempère S., Cuzange E., Malak J., Bougeant J.C., de Revel G., Sicard G. 2011. The training level of experts influences their ability to detect some wine key compounds. *Chemosensory Perception*, 4, 3, 99-115.
- Tempère S., Hamtat M. L., Bougeant J. C., de Revel G., Sicard G. 2014. Learning Odors : The impact of visual and olfactory mental imagery training on odor perception: mental imagery: a new olfactory training method. *Journal of Sensory Studies*, 29, 6, 435-449.

LE BIOCONTRÔLE MICROBIEN POUR RÉDUIRE L'AFLATOXINE B1

DES AGENTS DE BIOCONTRÔLE D'ORIGINE MICROBIENNE POUR RÉDUIRE LA CONTAMINATION DES PRODUITS DE LA VIGNE PAR L'AFLATOXINE B1, UNE MYCOTOXINE CANCÉRIGÈNE ÉMERGENTE DANS LES VIGNOBLES EUROPÉENS.

Par Florian Boyer¹, Vanessa Durrieu², Florence Mathieu¹ and Selma P. Snini¹

(1) Laboratoire de Génie Chimique, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS - Toulouse

(2) Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (LCA), Université de Toulouse, INRAE, INPT - Toulouse

Le développement d'une agriculture durable, respectueuse de l'environnement est au cœur des préoccupations des acteurs du secteur agricole et des consommateurs. Parmi les principaux risques qui menacent cette durabilité, la contamination par les mycotoxines est prédominante. Ce sont des substances toxiques produites par des champignons filamenteux au cours de leur croissance. En plus des pertes économiques, ces contaminants constituent un problème de sécurité sanitaire vis à vis des consommateurs. En raison de leur toxicité, 6 mycotoxines sont réglementées dans l'alimentation humaine (règlement CE1881/2006). L'aflatoxine B1 (AFB1) est la plus préoccupante car c'est le plus puissant cancérigène naturel. Elle est classée par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) dans le groupe 1A (CIRC, 1997) pour provoquer des hépatocarcinomes chez l'homme. L'AFB1 est produite par de nombreuses espèces fongiques du genre *Aspergillus* dont *A. flavus* qui est l'espèce la plus préoccupante (Amaïke et Keller, 2011). En raison des propriétés physiologiques des champignons aflatoxinogènes, il est généralement admis que l'AFB1 est un contaminant majeur des régions tropicales et subtropicales. Cependant, les changements climatiques globaux influencent la répartition géographique de toutes les mycotoxines, entraînant une augmentation des niveaux de contamination et même l'apparition de certaines mycotoxines dans des zones qui étaient auparavant considérées comme indemnes. Depuis de nombreuses années, c'est l'approche

préventive, par l'application d'intrants chimiques, qui est privilégiée pour inhiber partiellement ou totalement la croissance fongique. Cette application, bien qu'efficace, peut conduire à un déséquilibre de l'écosystème microbien naturel et entraîner l'émergence potentielle de nouveaux microorganismes encore plus dangereux. De plus, la toxicité et l'impact de ces intrants sur l'environnement conduisent les chercheurs à développer des stratégies alternatives. Ces stratégies de biocontrôle consistent à utiliser notamment des microorganismes et des composés naturels en substitution totale ou partielle aux intrants chimiques. Concernant la filière vigne, seule la présence de l'ochratoxine A (OTA) est réglementée à 2 ppb dans le vin et le jus de raisin notamment. Or dans un contexte de réchauffement climatique, les pays européens sont confrontés à une menace émergente grave liée à l'apparition d'AFB1 dans les produits de la vigne [2-4]. Ainsi, de par la toxicité avérée de l'AFB1 et de son occurrence grandissante, il est nécessaire de développer des méthodes efficaces pour prévenir son apparition au vignoble. Dans ce contexte, nous avons mené une étude exploratoire sur la capacité de surnageants de culture de bactéries filamenteuses, les actinobactéries, à réduire la concentration d'AFB1 dans les cultures d'*A. flavus*.

OBJECTIFS DU PROJET

L'objectif principal de cette étude est de formuler des surnageants de cultures bactériennes déjà retenus pour leur efficacité à réduire la contamination en AFB1. La formulation des agents de biocontrôle est une condition sine qua none avant leur application au vignoble. Il est donc nécessaire, avant la mise en place de tests à plus grande échelle, de s'assurer de l'efficacité in vitro de l'agent de biocontrôle formulé. Dans ce contexte, différentes stratégies seront utilisées pour la formulation de ces surnageants de cultures (encapsulation et lyophilisation avec différents supports).

MÉTHODOLOGIE

Nous disposons d'une dizaine de souches d'actinobactéries, des bactéries du sol, déjà sélectionnées sur leur capacité à réduire en co-culture (**Figure 1**) les concentrations en AFB1 produites in vitro par *A. flavus*. La première tâche du projet a consisté à produire des surnageants de culture puis à tester leur efficacité à réduire la concentration d'AFB1 dans les cultures d'*A. flavus*. Ensuite, nous avons sélectionné une souche pour la suite de l'étude. Dans la seconde tâche, nous avons réalisé deux types d'essais de formulation des

Figure 1
Co-culture *A. flavus* /
actinobactéries



surnageants, soit sous forme de poudre lyophilisée, soit par encapsulation par atomisation. La dernière tâche du projet a été de valider *in vitro* que l'efficacité du surnageant est bien conservée après sa formulation.

PRINCIPAUX RÉSULTATS

Dans la **figure 2A** sont présentés les résultats obtenus pour l'étude de l'effet du surnageant de la souche sélectionnée produit à différents temps d'incubation (4 jours (CFS4), 5 jours (CFS5) et 6 jours (CFS6)) sur les concentrations d'AFB1 produites par *A. flavus* dans un milieu de culture gélosé. Tous les surnageants testés induisent une réduction significative des concentrations en AFB1 par rapport au témoin (Ctrl). Celui produit à 4 jours (CFS4) présente le meilleur pourcentage de réduction lorsqu'il est utilisé aux concentrations de 0,75 et 1,5 g/L. Ce surnageant est donc utilisé pour les essais de formulation. Sur la **figure 2B** sont présentés les résultats obtenus après la formulation du surnageant par deux voies différentes, la lyophilisation et l'atomisation, avec deux supports naturels différents (F1 et F2).

Le surnageant a été lyophilisé (SL) ou atomisé (SA) sans et avec support afin de mesurer l'impact de chacun des procédés sur l'activité du surnageant testé à 1,5 g/L. Lorsque celui-ci est formulé sans support, son activité a été conservée mais réduite, permettant d'atteindre des pourcentages de réduction de la concentration d'AFB1 de 58% et 62% contre une efficacité de près de 100% sans formulation (concentration inférieure à la LOD). La formulation par

lyophilisation avec les 2 supports utilisés (F1 ou F2) conduit à des pourcentages de réduction de la concentration d'AFB1 équivalents (59% et 51%). Cependant, la formulation par atomisation avec les 2 supports utilisés (F1 ou F2) conduit à des pourcentages de réduction de la concentration d'AFB1 inférieurs (34 et 31%) par rapport au surnageant atomisé seul. Cette réduction d'efficacité peut être due aux rendements d'atomisation où une perte de matières (surnageant + support) est observée lors du procédé.

PERSPECTIVES DE SUITE OU DE TRANSFERT

Ces résultats sont très encourageants pour le développement d'une solution de biocontrôle pour lutter efficacement contre la contamination émergente en AFB1 au vignoble. En effet, les procédés de lyophilisation et d'atomisation associés ou non à des supports naturels permettent de conserver une très bonne efficacité d'un surnageant de culture *in vitro*. C'est une étape importante dans le sens où un agent de biocontrôle sous forme de surnageant non formulé ne peut pas être appliqué.

De nombreux verrous doivent être encore levés avant de pouvoir passer à la réalisation de tests au vignoble comme par exemple la validation de la non toxicité de l'agent formulé, la capacité à produire des quantités importantes de surnageants ou encore le choix du stade d'application le plus optimal par rapport à la survenue de la contamination fongique.

Figure 2A

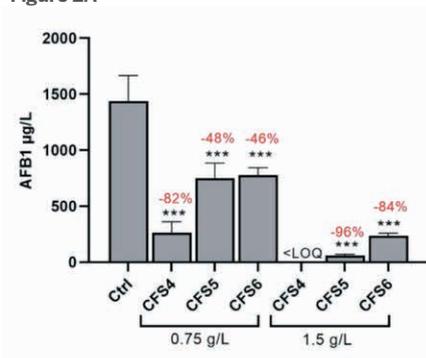


Figure 2B

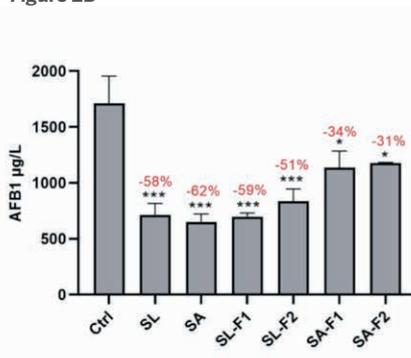


Figure 2 :

A – Concentration d'AFB1 dans les cultures d'*A. flavus* sur milieu gélosé supplémenté avec du surnageant de culture d'actinobactérie 1,5 g/L, produit à différents temps d'incubation (4 jours (CFS4), 5 jours (CFS5) ou 6 jours (CFS6)).
 B – Concentration d'AFB1 dans les cultures d'*A. flavus* sur milieu gélosé supplémenté avec du surnageant de culture d'actinobactérie produit à 4 jours et formulé par lyophilisation (SL-F1 et SL-F2) et atomisation (SA-F1 et SA-F2) ; SL = Surnageant Lyophilisé seul et SA = Surnageant Atomisé seul. Les concentrations d'AFB1 dans les essais sont comparées à la concentration d'AFB1 mesurée dans la condition de culture contrôle (milieu de culture non supplémenté) et les pourcentages de réduction de la concentration en AFB1 sont indiqués en rouge. One-way ANOVA, Dunett's post-hoc test, **p-value < 0.01 *p-value < 0.001, LOQ: limit of quantification

RÉFÉRENCES

- Amaike, S.; Keller, N.P. *Aspergillus flavus*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2011, 49, 107–133, doi:10.1146/annurev-phyto-072910-095221.
- Paterson, R.R.M.; Venâncio, A.; Lima, N.; Guilloux-Bénatier, M.; Rousseaux, S. Predominant mycotoxins, mycotoxigenic fungi and climate change related to wine. *Food Res. Int.* 2017, 103, 478–491, doi:10.1016/j.foodres.2017.09.080.
- El Khoury, A.; Rizk, T.; Lteif, R.; Azouri, H.; Delia, M.L.; Lebrihi, A. Occurrence of ochratoxin A- and aflatoxin B1-producing fungi in Lebanese grapes and ochratoxin A content in musts and finished wines during 2004. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 8977–8982, doi:10.1021/jf062085e.
- Di Stefano, V.; Avellone, G.; Pitonzo, R.; Capocchiano, V.G.; Mazza, A.; Cicero, N.; Dugo, G. Natural co-occurrence of ochratoxin A, ochratoxin B and aflatoxins in Sicilian red wines. *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* 2015, 32, 1343–1351, doi:10.1080/194440049.2015.1055521.

DIGLURESITVIN : RECHERCHE D'ANTHOCYANES DIGLUCOSIDES POUR DES VINS DE CÉPAGES RÉSISTANTS/HYBRIDES

Par Christina Tampaktzi, Anne-Laure Gancel, Pierre-Louis Teissedre

Université de Bordeaux - Institut des Sciences de la Vigne et du Vin- UMR Oenologie, 1366 INRA, IPB ; Villenave d'Ornon (33) - France
E-mail : pierre-louis.teissedre@u-bordeaux.fr

OBJECTIFS DU PROJET

De nouveaux cépages rouges résistants aux maladies (mildiou, oïdium) sont proposés (ex. : vidoc, regent...). Leurs niveaux d'anthocyanes glycosylés, diglycosylés, ne sont aujourd'hui pas connus et documentés. Les composés d'anthocyanes diglycosides, ou autres composés phénoliques fluorescents, peuvent servir comme marqueurs d'intérêt alternatifs ou complémentaires pour différencier les cépages résistants rouges et blancs par rapport aux cépages rouges et blancs issus de *Vitis vinifera* traditionnels. Il s'agissait de rechercher, d'identifier et de quantifier les anthocyanes totales, libres et combinées, ainsi que les marqueurs moléculaires d'anthocyanes (glucosides, diglycosides, etc.) de vins rouges ou marqueurs fluorescents de vins blancs (par HPLC-UV/Fluo -MS-TOF...) issus de cépages hybrides résistants aux maladies, en vue de pouvoir les comparer aux vins rouges de *Vitis vinifera*.

Hormis les différences génétiques entre les *Vitis* sauvages et traditionnels, les vins issus des cépages hybrides présentent une composition chimique différente de celle des vins issus des cépages classiques. Une des caractéristiques intéressantes de ce type de vins, est la détection des anthocyanes diglycosides, la malvidine-3,5-diglycoside étant la plus abondante. Cette molécule serait considérée comme une molécule pouvant provoquer des problèmes de santé ou qualitatif si sa concentration est suffisamment élevée. L'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV) a fixé une limite réglementaire de 15 mg/L de malvidine-3,5-diglycoside dans les vins commerciaux. Cette limite permet de différencier les vins de *Vitis vinifera* des vins issus d'hybrides. Comme beaucoup de nouveaux croisements sont apparus assez récemment, et que très peu d'informations sont disponibles dans la littérature, quant à leur composition chimique et leurs caractéristiques, il est nécessaire de comparer ces paramètres

pour les vins issus d'hybrides et les vins issus des cépages monovariétaux *Vitis vinifera* communs.

DÉMARCHE/MÉTHODOLOGIE

Les échantillons analysés sont des vins issus de cépages hybrides rouges (artaban, marselan, vidoc, monarch, cabernet volos, merlot khorus et prior) et blancs (floréal, sauvignac et muscaris) de Gironde et de l'Aude. En plus de provenir de cépages hybrides différents, les raisins ont été récoltés à différentes maturités (sous-maturité, maturité optimale et surmaturité) et sur deux millésimes différents (2019 et 2020). Les vins analysés ont des modalités de vinification différentes (différents types de macération, différentes levures pour la fermentation alcoolique, etc.). Parmi les échantillons, 54 sont des vins rouges, 6 sont des vins rosés et 24 sont des vins blancs.

Les analyses réalisées concernent la recherche du pH, de l'acidité totale, de l'acidité volatile et du titre alcoométrique volumique ; pour l'analyse des polyphénols : Indice de Polyphénols Totaux - IPT, Indice de Folin-Ciocalteu - IFC, les Tanins Totaux - Réaction de Bate-Smith, le DPM - degré de polymérisation moyen, % de Galloylation, % de Prodelphinidines, Précipitation à la Méthylcellulose - MCP, les Tanins moléculaires ; pour les analyses des anthocyanes et de la couleur : Anthocyanes Totales -, Anthocyanes

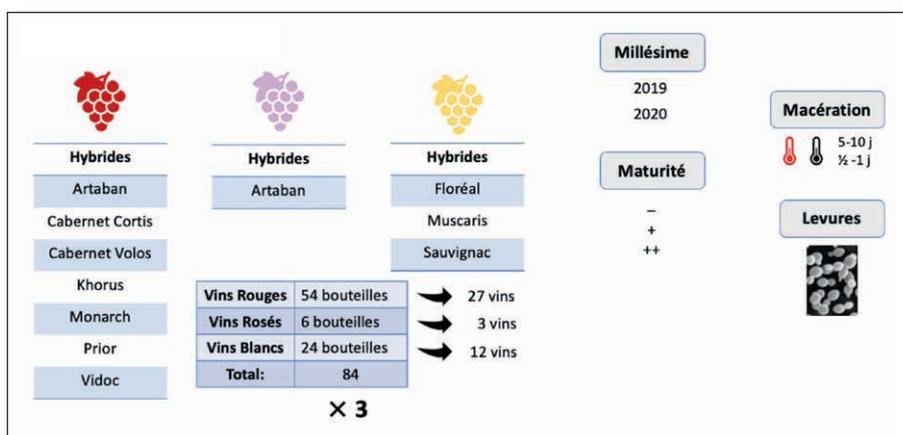


Figure 1
Les échantillons.

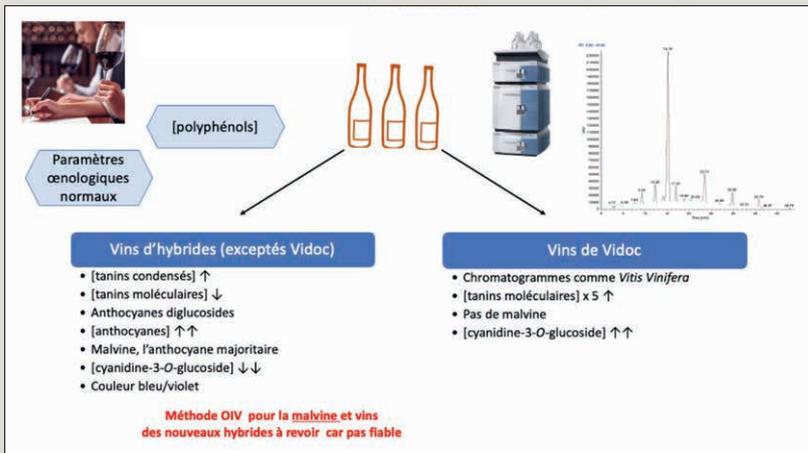


Figure 2
Principaux résultats.

moléculaires, dont la cyanidine-3-O-glucoside, la malvidine-3,5-diglucoside ou malvine. Le dosage de malvine a été réalisé dans tous les échantillons selon la méthode de l'OIV (OIV-MA-AS315-03, 2018), les caractéristiques chromatiques à 420 nm, 520 nm et 620 nm. IC, IC¹, Teinte, CIELab (Méthode OIV-MA-AS2-11), dont C¹#*, h*.

Pour les analyses statistiques : toutes les données des analyses chimiques (deux bouteilles analysées pour chaque vin en triplicata) ont été traitées statistiquement à l'aide de XLSTAT.

PRINCIPAUX RÉSULTATS

Les résultats montrent que les vins étudiés avaient des valeurs de paramètres œnologiques (pH, TAV, AV et AT) dans des gammes classiques et proches de celles attendues à l'exception de quelques vins avec des valeurs beaucoup plus élevées.

En ce qui concerne le contenu en polyphénols totaux, la totalité des vins avait également des concentrations jugées normales par rapport à la bibliographie existante. L'analyse des tanins montre que les vins issus d'hybrides ont une concentration, en général, plus haute en tanins condensés mais une concentration plus basse en tanins oligomères moléculaires que les vins de *Vitis vinifera*. Une remarque intéressante concerne les vins de vidoc et les vins 3160-27-4 (fer servadou) - 3328-168 (marselan), qui ont, en général, 5 fois plus de tanins moléculaires que les autres vins.

Par ailleurs, l'analyse des anthocyanes indique que les vins étudiés, excepté les vidoc et les X1-X3, ont une concentration très supérieure en comparaison avec les vins de *Vitis vinifera*, avec des valeurs qui dépassent parfois les 900 mg d'équivalent de malvidine-3-O-glucoside/L de vin. Les concentrations en anthocyanes moléculaires présentent des valeurs assez élevées et il existe une variabilité dans la proportion des anthocyanes moléculaires pour chaque vin. Les vins contiennent des anthocyanes diglucosides, la malvine (malvidine-3,5-diglucoside) atteint une concentration très élevée pour certains vins. Les vins de vidoc et les 3160-27-4 (fer servadou) - 3328-168 (marselan), semblent présenter des différences par rapport aux autres vins, car ils ne contiendraient pas de malvine et ils auraient pour anthocyane majoritaire, la malvidine-3-O-glucoside. L'ensemble des autres vins présentent

une concentration en malvidine-3-O-glucoside plus basse et une concentration en cyanidine-3-O-glucoside irrégulièrement élevée apparaît co-éluer avec la malvine.

De ce fait, la méthode actuelle de l'OIV donne des résultats différents pour le diglucoside de malvidol en comparaison avec l'utilisation de la méthode de chromatographie par HPLC (HPLC-DAD-QQQ) que nous avons mise au point. La méthode actuelle de l'OIV n'apparaît pas fiable en comparaison avec la méthode HPLC pour détecter la malvine ; et ce point devra faire l'objet de travaux futurs compte tenu des conséquences possibles, à la fois au niveau de la classification origine *Vitis* (*vinifera* ou hybrides) des vins et au niveau commercial.

En ce qui concerne la couleur, les vins d'hybrides présentent une couleur plus bleuté/violet foncé que les vins de *Vitis vinifera*.

	Malvine - OIV	Malvine - HPLC
A1	22,18 ± 0,58 k,l,m,n	89,71 ± 14,83 de
A2	25,33 ± 0,06 i,j,k	102,31 ± 1,18 d
A3	22,47 ± 0,22 k,l,m	77,78 ± 4,63 ef
A4	18,32 ± 2,66 n,o	55,32 ± 2,61 g
A5	29,26 ± 0,22 g,h,i	30,02 ± 1,06 hi
CC	34,02 ± 0,39 e,f	nq
CV1	35,67 ± 1,59 e	158,55 ± 2,25 b
CV2	49,51 ± 3,88 b	103,92 ± 3,31 d
K	41,25 ± 1,34 d	101,13 ± 0,88 d
Mo1	24,13 ± 1,22 j,k,l	101,74 ± 2,43 d
Mo2	19,25 ± 0,43 m,n,o	41,78 ± 1,39 gh
Mo3	28,16 ± 0,51 g,h,i,j	107,38 ± 3,33 d
Mo4	21,23 ± 0,10 l,m,n	60,67 ± 3,62 fg
P1	31,66 ± 0,20 e,f,g	132,21 ± 15,09 c
P2	41,44 ± 0,13 d	193,98 ± 17,70 a
P3	48,05 ± 1,53 b	135,71 ± 0,53 c
V1	21,23 ± 1,63 l,m,n	nq
V2	18,17 ± 0,22 n,o	nq
V3	15,35 ± 0,16 o,p	nq
V4	13,49 ± 1,05 p	nq
V5	42,23 ± 0,82 d	nq
V6	53,70 ± 0,09 a	nq
X1	19,89 ± 0,52 m,n	nq
X2	19,00 ± 0,13 m,n,o	nq
X3	19,04 ± 0,64 m,n,o	nq
X4	40,28 ± 0,71 d	43,65 ± 1,78 gh
X5	43,88 ± 2,46 c,d	51,04 ± 0,81 gh
A6-R	47,62 ± 1,99 b,c	11,35 ± 1,44 i
A7-R	30,13 ± 0,01 f,g,h	nd
A8-R	27,61 ± 0,42 h,i,j	nd

Figure 3
Concentrations en diglucoside de malvidol (Malvine) mg/L dans les vins étudiés en fonction du type de méthode d'analyse OIV et HPLC (HPLC-DAD-QQQ).

CONCLUSION

Les concentrations en tanins et anthocyanes moléculaires avec un premier référentiel de concentrations par cépages a été obtenu ; sur le volet analytique nous disposons d'une méthode HPLC plus précise et fiable que celle de l'OIV mais d'autres études devront être effectuées pour mieux discerner le contenu en anthocyanes puisque la présence d'anthocyanes diglucosides peut jouer un rôle important sur l'origine et la couleur du vin. Des améliorations de méthodes d'analyses officielles pour différencier les vins *Vitis vinifera* des vins non *vinifera* hybrides devront être développées en augmentant le nombre d'échantillons, de cépages et en réalisant également des dégustations comparatives pour déterminer la qualité organoleptique.

ETUDE DES BIOFILMS DE *OENOCCOCUS OENI* ET *BRETTANOMYCES BRUXELLENSIS* DANS LE VIN

Par Sandrine Rousseaux, Florencia Oviedo, Stéphanie Desroche

UMR Procédés alimentaires et microbiologiques – Équipe VALMIS (vin, aliments, microbiologie, stress) – AgroSup Dijon Université Bourgogne Franche-Comté – IUVV – Dijon – France.

1. INTRODUCTION

Les bactéries lactiques (BL) présentent la capacité de fermenter le sucre et de le transformer en acide lactique et autres sous-produits. Ces bactéries ont été historiquement utilisées pour conserver les aliments, notamment grâce à leurs capacités acidifiantes (Reis et al., 2012, Widyastuti et al., 2014). Aujourd'hui, avec les nouvelles tendances à limiter les procédés mécaniques et chimiques de conservation des aliments, les BL sont réapparues comme un moyen de prévenir la prolifération de micro-organismes d'altération ou pathogènes. Le vin est un milieu complexe où cohabitent différents microorganismes : des flores positives responsables de la transformation du goût de raisin en vin, mais également, des flores négatives notamment *Brettanomyces bruxellensis*, décrite comme responsable de la production de composés engendrant des défauts organoleptiques dans le vin (Chatonnet et al., 1992). Récemment, la capacité de *B. bruxellensis* à former un biofilm a été décrite (Lebleux et al., 2020). Ce mode de vie pourrait lui conférer une résistance à certains procédés antimicrobiens, expliquant en partie sa persistance en cuveries et en caves. Ainsi au cours de ces travaux préliminaires, les principaux objectifs ont été d'évaluer la croissance de co-cultures de souches de *B. bruxellensis* et *O. oeni* au cours de la formation de biofilms en vin.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODOLOGIE

Une souche de *O. oeni* (souche S) de la collection de l'Institut de la Vigne et du Vin, Université de Bourgogne et une souche de *B. bruxellensis* (souche 11, Lebleux et al. (2020)) ont été utilisées. Un vin standardisé a été obtenu à partir d'un jus de raisin rouge commercial (Casino™, France) fermenté avec une culture de *S. cerevisiae* Levulia® PN (AEB, Italie). Les paramètres œnologiques ont été ajustés (sucre résiduel 3g/L, acide L-Malique 4g/L, TAP, 12%v/v, pH 3,5) et le vin a été filtré avant utilisation.

Les cultures de *O. oeni* et de *B. bruxellensis* ont été adaptées au milieu vin standardisé avant les expérimentations. Puis, 15 ml de vin ont été inoculés avec (i) *O. oeni* souche S, (ii) *B. bruxellensis* souche 11 et (iii) *B. bruxellensis* souche 11 et *O. oeni* souche S. Trois répétitions biologiques par modalité ont été réalisées. Les cultures bactériennes et levuriennes

ont été inoculées pour atteindre une population initiale de 5 x 10⁵ UFC/mL estimée par cytométrie de flux (BD Accuri™ CSampler Plus). Pour toutes les cultures, un coupon d'acier inoxydable de dimensions 25mm x 25mm (Goodfellow, France) a été ajouté pour la formation de biofilm. Les cultures ont été incubées indépendamment pendant 14 jours à 28°C. Des échantillons de vin ont été prélevés à 2, 7 et 14 jours et deux types de populations ont été dénombrés sur gélose (MRSm pour *O. oeni* et YPD pour *B. bruxellensis*) et analysés par cytométrie de flux : des cellules planctoniques (biomasse inoculée se multipliant et/ou relarguée de biofilm) et des cellules adhérentes sur le coupon après détachement (par sonication). Une analyse statistique par un test de Student a été réalisée (variance inégale, valeur p de 0,05) (Microsoft Excel).

3. RÉSULTATS

Biofilms mixtes de *B. bruxellensis* et *O. oeni* dans le vin.

Que ce soit en mono ou cocultures, les populations planctoniques et adhérentes ont été quantifiées au cours du temps (cf M&M).

Pour les cellules planctoniques (**Figure 1A**), après deux jours, les populations levuriennes ne sont pas statistiquement différentes en mono et coculture : la présence de la bactérie n'a pas d'influence sur la croissance des cellules planctoniques levuriennes. Par contre à 2j, il y a plus de cellules planctoniques bactériennes (statiquement différent) en coculture comparé à la monoculture. A 7j, la levure présente une population planctonique plus importante par rapport à la bactérie. Une tendance se dégage également en comparant les modalités monoculture et coculture : on observe plus de cellules planctoniques en monoculture qu'en coculture pour la souche de levure et inversement pour la bactérie : la présence d'un microorganisme influence la population de l'autre, occasionnant un relargage potentiel des populations adhérentes. A 14j, les populations planctoniques levuriennes et bactériennes sont identiques pour les deux modalités.

Pour les cellules adhérentes (**Figure 1B**), après deux jours, les populations adhérentes levuriennes et bactériennes sont identiques pour les deux modalités. A 7j, il y a plus de cellules adhérentes de *B. bruxellensis* dans la modalité coculture que dans la modalité monoculture (différence statistique) : la présence de la bactérie semble avoir un effet sur la population levurienne adhérent au coupon. En présence ou en absence de la levure, les populations bactériennes adhérentes sont identiques et ce résultat est observable aussi à 14j. Pour la

levure, on observe à 14j une diminution des cellules adhérees au coupon en présence de la bactérie alors qu'en monoculture la population cellulaire augmente.

4. DISCUSSION

En comparaison à la littérature, les populations adhérees de *O. oeni* et de *B. bruxellensis* en monoculture sont plus faibles au cours de cette expérimentation malgré des temps d'incubation similaires (Bastard et al., 2016 ; Coelho et al., 2019, Lebleux et al., 2020). Ces différences pourraient s'expliquer par des conditions expérimentales différentes de ces précédentes études, notamment au niveau du taux d'inoculation ou de la matrice (milieu de culture, vin). En effet, Huber et al. (2003) ont décrit un effet négatif des polyphénols (variables en concentration et composition selon la matrice). En comparant les 2 modalités, on observe que pour les monocultures de *B. bruxellensis*, l'adhésion des cellules est faible à 7 jours, alors qu'à 14 jours la quantité de cellules adhérees augmente de plus de 1 log UFC/cm². Par contre en coculture, la quantité de cellules adhérees atteint son

maximum après 7 jours puis diminue. Le temps d'incubation semble être un facteur important dans l'interaction entre ces 2 microorganismes : si dans un premier temps, l'adhésion des cellules de levures est plus importante en coculture (7j), à 14j les cellules adhérees levuriennes sont plus faibles qu'en monoculture.

5. CONCLUSION

Au cours de ce travail, la vitesse de croissance et l'adhésion de *B. bruxellensis* semblent influencées par la présence de *O. oeni*. D'autres études doivent être menées pour approfondir les connaissances des interactions entre les deux microorganismes en définissant des seuils de population, des temps de coculture, et également pour étudier les effets de la variabilité de la matrice vin sur le développement des 2 microorganismes.

Ce travail a été financé par le Fond de dotation des Œnologues de France pour le fonctionnement du stage et par la Chaire UNESCO Culture et Traditions du Vin pour le financement du stage.

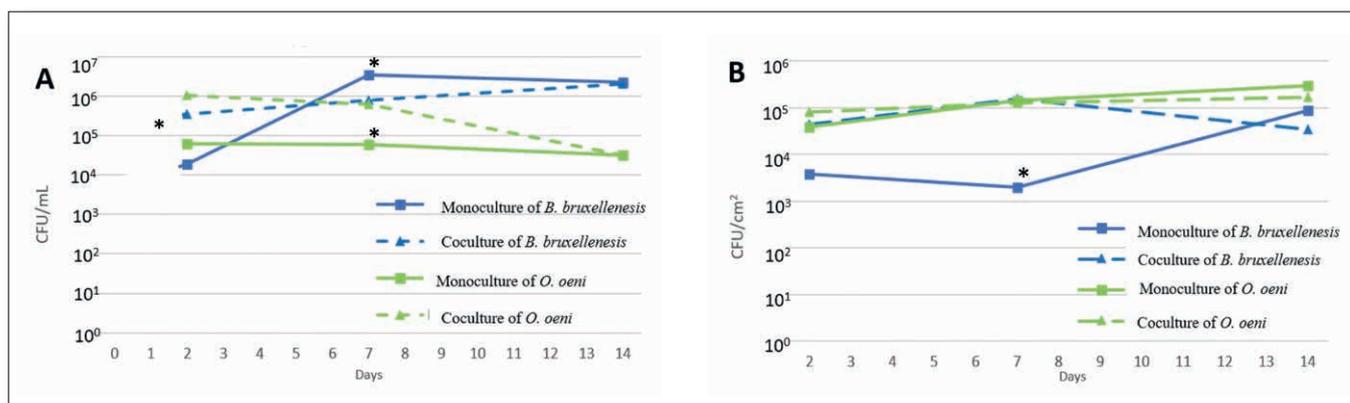


Figure 1 : Cellules viables de *B. bruxellensis* en monoculture (bleu trait plein) et en coculture (bleu trait pointillé) et de *O. oeni* en monoculture (vert trait plein) et en coculture (vert trait pointillé) (A) Cellules planctoniques en UFC/mL (B) Cellules adhérees au coupon en acier inoxydable en UFC/cm². * différences statistiques.

RÉFÉRENCES

- Balmaseda, A., Bordons, A., Reguant, C., & Bautista-Gallego, J. (2018). Non-Saccharomyces in Wine: Effect Upon *Oenococcus oeni* and Malolactic Fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 9, 534. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00534>
- Bastard, A., Coelho, C., Briandet, R., Canette, A., Gougeon, R., Alexandre, H., Guzzo, J., & Weidmann, S. (2016). Effect of Biofilm Formation by *Oenococcus oeni* on Malolactic Fermentation and the Release of Aromatic Compounds in Wine. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00613>
- Chatonnet, Pascal, Denis Dubourdie, Jean-noël Boidron, and Monique Pons. (1992) "The Origin of Ethylphenols in Wines." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 60, no. 2 : 165–78. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740600205>.
- Coelho, C., Gougeon, R. D., Perepelkine, L., Alexandre, H., Guzzo, J., & Weidmann, S. (2019). Chemical Transfers Occurring Through *Oenococcus oeni* Biofilm in Different Enological Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01016>
- Huber, B., Eberl, L., Feucht, W., & Polster, J. (2003). Influence of Polyphenols on Bacterial Biofilm Formation and Quorum-sensing. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 58(11–12), 879–884. <https://doi.org/10.1515/znc-2003-11-1224>
- Lebleux, Manon, Hany Abdo, Christian Coelho, Louise Basmacıyan, Warren Albertin, Julie Maupeu, Julie Laurent, et al. (2020) "New Advances on the *Brettanomyces Bruxellensis* Biofilm Mode of Life." *International Journal of Food Microbiology* 318 : 108464. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108464>
- Reis, J. A., A. T. Paula, S. N. Casarotti, and A. L. B. Penna (2012). "Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications." *Food Engineering Reviews* 4, no. 2 (June 2012): 124–40. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>.
- Widyastuti, Y., Rohmatussolihat, & Febrisiantosa, A. (2014). The Role of Lactic Acid Bacteria in Milk Fermentation. *Food and Nutrition Sciences*, 05(04), 435–442. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.54051>

IMPACT DU FRACTIONNEMENT AU PRESSURAGE DES MOÛTS SUR LA COMPOSITION ET L'OXYDATION DES MOÛTS ET DES VINS BLANCS ISSUS DU PINOT NOIR

Par R. Marchal¹, C. Vrigneau², T. Salmon¹, B. Robillard², R. Romanet⁴, M. Jourdes³

1) Laboratoire d'œnologie, Université de Reims Champagne-Ardenne - Reims, Université de Haute-Alsace - Colmar, France.

2) Institut œnologique de Champagne, Epernay, France.

3) UMR œnology (OENO), UMR 1366, ISVV, Université de Bordeaux-INRAE-Bordeaux INP, F33882 Villenave d'Ornon, France.

4) Institut Universitaire de la Vigne et du Vin - Jules Guyot, Université de Bourgogne Franche-Comté, AgroSup Dijon, PAM UMR A 02.102, Dijon, France. richard.marchal@univ-reims.fr

PRÉAMBULE

L'oxydation implique différentes réactions entre l'oxygène et les composés phénoliques qui modifient les profils chimique et sensoriel des vins et peuvent entraîner des conséquences néfastes sur la qualité du vin. D'un point de vue chimique, les polyphénols sont les précurseurs des pigments formés lors du brunissement. La réaction de Fenton et les radicaux hydroxyles jouent un rôle essentiel. Cette réaction pourrait produire de nombreux produits d'oxydation électrophiles, principalement des aldéhydes et des cétones modifiant la perception sensorielle du vin. Aussi, une compréhension plus fine des composés impliqués dans l'oxydation des vins blancs issus de pinot noir permettrait de mieux pouvoir contrôler le vieillissement du vin.

Les vins de Champagne sont élaborés suite à un fractionnement des jus au pressurage. Les premiers moûts (cuvée) ont une couleur plus claire et une acidité plus importante, les moûts obtenus en fin de pressurage (tailles) sont considérablement plus riches en polyphénols. Cette étude s'attache 1) à comprendre à quel stade du cycle de pressurage on retrouve les molécules qui produisent ces oxydations et 2) à suivre l'évolution des différents paramètres œnologiques des moûts et des vins de base issus du pinot noir. Pour étudier ce phénomène, nous avons prélevé des moûts sur 4 pressoirs de 2 coopératives. Les analyses courantes des moûts et des vins après la fermentation alcoolique ont été réalisées, ainsi que des analyses chromatiques. La réaction de brunissement est initiée par l'action des enzymes, la tyrosinase et la laccase, qui en présence de l'oxygène moléculaire oxydent les polyphénols. Les premiers produits de la réaction sont des orthoquinones qui lors de leur condensation forment des polymères bruns. Pour pouvoir examiner ce phénomène d'oxydation plus précisément, les analyses de couleur ont été accompagnées par 1) une analyse de l'oxydabilité des vins de base au DPPH et 2) une analyse en chromatographie liquide couplée à spectrophotométrie de masse (LC-MS) des acides phénols, des flavanols et des anthocyanes. L'analyse au DPPH nous a permis de visualiser la capacité antioxydante des différents

vins issus des différents moûts lors du fractionnement au pressurage, alors que la chromatographie nous a permis d'identifier et de quantifier les polyphénols responsables de cette oxydation dans les vins.

L'ensemble des données collectées, au cours du cycle complet de pressurage, a permis de calculer les corrélations de Pearson de ces divers paramètres entre eux, le but ultime restant de mieux comprendre la concordance entre le phénomène d'oxydation, les paramètres chromatiques des vins et les concentrations des divers polyphénols analysés par LC-MS. Ce test statistique nous permet aussi, dans le cadre de ces essais 2021, de comprendre les corrélations qui existent entre les différents polyphénols retrouvés dans les vins de cette étude.

RÉSULTATS

Dans le **tableau 1**, qui résume bien à lui seul tout le travail engagé, on peut observer que l'acide caftarique présente des fortes corrélations avec l'acide trans-coutarique, la catéchine et l'épicatéchine. Par ailleurs, l'acide caftarique ne présente pas des corrélations significatives avec les paramètres de la couleur. L'autre acide hydroxycinnamique qui présente des fortes corrélations avec les autres polyphénols étudiés est l'acide cis-coutarique. Il est corrélé de façon positive avec l'acide trans-coutarique, l'acide fertarique et les deux monomères identifiés : la catéchine et l'épicatéchine. En outre, la catéchine et l'épicatéchine présentent une corrélation hautement significative.

Cependant, l'acide cis-coutarique présente des fortes corrélations négatives avec L* (luminosité) et hab (angle de teinte). En plus des corrélations avec l'acide caftarique et l'acide cis-coutarique, la forme trans de l'acide coutarique est corrélée d'une manière positive avec l'acide fertarique. Également, on note un coefficient de corrélation avec la catéchine et l'épicatéchine.

En ce qui concerne les propriétés antioxydantes des vins, seules deux corrélations négatives ont été identifiées avec l'acide cis-coutarique et de l'acide fertarique. Globalement, tous les acides présentent une corrélation plus ou moins

significative entre eux, à l'exception du GRP et de l'acide protocatéchuque.

Nous avons observé aussi que certains paramètres de la couleur montrent des corrélations positives avec les polyphénols étudiés. Par exemple la luminosité L* est corrélée négativement avec les acides cis-coutarique et fertarique : cela traduit le fait que plus le vin gagne en intensité colorante, plus ces deux acides augmentent en concentration. Or, la luminosité des vins après la fermentation diminue en même temps que les paramètres a* (composante de couleur rouge/vert), C*_{ab} (saturation) et h_{ab} augmentent. Les analyses de la couleur après 5 mois de vieillissement montrent qu'il y a une forte corrélation négative entre L* et les trois autres paramètres analysés : a*, b* et C*_{ab}.

Le paramètre a* montre de fortes corrélations positives avec les acides cis-coutarique, trans-coutarique, fertarique, la catéchine et l'épicatéchine. En ce qui concerne le paramètre b*, qui traduit le niveau d'intensité de la couleur jaune du vin, on observe des corrélations significatives avec les acides cis-coutarique et fertarique. De même, la saturation présente des forts coefficients de corrélation avec ces deux acides.

L'angle de saturation h_{ab} quant à lui présente des corrélations négatives avec les acides cis-coutarique, trans-coutarique, fertarique, la catéchine et l'épicatéchine.

CONCLUSION

Encore une fois, ces résultats expliquent qu'il existe une corrélation entre le phénomène d'oxydation et le « brunissement » des vins blancs : augmentation des paramètres b*, C*_{ab} et diminution du paramètre h_{ab}.

Ces diverses corrélations, jamais abordées avec ce niveau de finesse, et l'allure des courbes montrant l'évolution des composés dans les vins issus des diverses fractions de moûts, permettent de mieux aborder la question du fractionnement des jus. Bien que les essais doivent être poursuivis, on voit déjà se dégager deux paramètres assez faciles à suivre au cours du pressurage : la valeur chromatique a* (composante de couleur rouge/vert) et le pH.

Néanmoins, cette approche purement basée sur l'analyse instrumentale devra prendre en considération, pour les futurs essais, les caractéristiques sensorielles des vins (non abordées en raison d'une récolte 2021 particulièrement réduite).

Tableau 1 : Coefficients de corrélation de Pearson (r) et niveau de signification (p-value) entre les concentrations des polyphénols, l'analyse courante et les paramètres chromatiques des vins.

Variables	Acide.P.Cat	GRP	Acide caf	Acide c-c	Acide t-c	Acide fer	Cat	EpiCat	EC ₂₀	L*	a*	b*	C* _{ab}	h _{ab}
Acide.P.Cat	1													
GRP	-0,413 0,012	1												
Acide caf	0,123 0,476	-0,021 0,902	1											
Acide c-c	0,607 <0,0001	-0,418 0,011	0,551 0,000	1										
Acide t-c	0,404 0,015	-0,197 0,250	0,787 <0,0001	0,881 <0,0001	1									
Acide fer	0,728 <0,0001	-0,469 0,004	0,505 0,002	0,926 <0,0001	0,792 <0,0001	1								
Cat	0,373 0,025	-0,171 0,320	0,786 <0,0001	0,834 <0,0001	0,949 <0,0001	0,738 <0,0001	1							
EpiCat	0,367 0,028	-0,171 0,319	0,808 <0,0001	0,838 <0,0001	0,949 <0,0001	0,744 <0,0001	0,993 <0,0001	1						
EC ₂₀	-0,694 <0,0001	0,202 0,237	-0,504 0,002	-0,816 <0,0001	-0,665 <0,0001	-0,832 <0,0001	-0,611 <0,0001	-0,618 <0,0001	1					
L*	-0,651 <0,0001	0,517 0,001	-0,493 0,002	-0,927 <0,0001	-0,760 <0,0001	-0,925 <0,0001	-0,750 <0,0001	-0,752 <0,0001	0,776 0	1				
a*	0,566 0,000	-0,295 0,081	0,672 <0,0001	0,916 <0,0001	0,840 <0,0001	0,889 <0,0001	0,853 <0,0001	0,865 <0,0001	-0,829 <0,0001	-0,942 <0,0001	1			
b*	0,670 <0,0001	-0,669 <0,0001	0,143 0,406	0,834 <0,0001	0,570 0,000	0,816 <0,0001	0,534 0,001	0,530 0,001	-0,594 0,000	-0,880 <0,0001	0,701 <0,0001	1		
C* _{ab}	0,665 <0,0001	-0,662 <0,0001	0,165 0,336	0,845 <0,0001	0,588 0,000	0,822 <0,0001	0,557 0,000	0,553 0,000	-0,598 0,000	-0,891 <0,0001	0,719 <0,0001	0,999 <0,0001	1	
h _{ab}	-0,570 0,000	0,268 0,113	-0,712 <0,0001	-0,896 <0,0001	-0,831 <0,0001	-0,884 <0,0001	-0,836 <0,0001	-0,852 <0,0001	0,849 <0,0001	0,919 <0,0001	-0,990 <0,0001	-0,664 <0,0001	-0,680 <0,0001	1

Acide P.Cat- acide protocatéchuque, **GRP**- Grape Reaction Product, **Acide caf**- acide caftarique, **Acide c-c**-acide cis-coutarique, **Acide t-c**-acide trans-coutarique, **Acide fer**-acide fertarique, **Cat**- catéchine, **EpiCat**- Epicatéchine, **L***- luminosité, **a***- composante de couleur rouge/vert, **b***- composante de couleur jaune/bleu, **C*_{ab}**-saturation, **h_{ab}**-angle de teinte, **AT**- acidité totale (g(H₂SO₄)/L).

Cases vertes/rouges indiquant les fortes corrélations significatives (|r|>0,75), respectivement positives/négatives.