HAL
open science

Étude des leviers viticoles et oenologiques pour une bonne gestion des amines biogènes dans les vins rouges

Lisa Hostalrich

To cite this version:

Lisa Hostalrich. Étude des leviers viticoles et oenologiques pour une bonne gestion des amines biogènes dans les vins rouges. Agronomie. 2020. dumas-03254099

HAL Id: dumas-03254099

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03254099v1

Submitted on 8 Jun 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Montpellier SupAgro

GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

Mémoire de fin d'études d'ingénieur agronome

présenté pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome
Spécialité/Mention: Viticulture-Oenologie

ÉTUDE DES LEVIERS VITICOLES ET ŒNOLOGIQUES POUR UNE BONNE GESTION DES AMINES BIOGÈNES DANS LES VINS ROUGES

par Lisa HOSTALRICH

Année de soutenance : 2020

Organisme d'accueil : Groupe ICV

Mémoire de fin d'études d'ingénieur agronome

présenté pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur Agronome
Spécialité Viticulture-Oenologie

ÉTUDE DES LEVIERS VITICOLES ET ŒNOLOGIQUES POUR UNE BONNE GESTION DES AMINES BIOGÈNES DANS LES VINS ROUGES

par Lisa HOSTALRICH

Année de soutenance : 2020

Mémoire préparé sous la direction de :
Didier OLLÉ

Présenté le : 04/12/2020

devant le jury :

Didier OLLÉ

Laetitia MOULS

Organisme d'accueil : GROUPE ICV – Centre de Nîmes

Maître de stage : Noël LAURENS

AVANT-PROPOS

Ce mémoire a été écrit dans le cadre de l'obtention du titre d'ingénieur agronome spécialité viticulture-œnologie. Ayant effectué un an et demi de contrat de professionnalisation au sein du Groupe ICV, il a été possible de mettre en place une expérimentation sur les amines biogènes sur deux millésimes, chose impossible dans le cadre d'un stage classique de 6 mois.

Intégrée au sein de l'équipe du centre de Nîmes nous avons pu travailler sur des domaines situés sur l'ensemble du département Gardois. En tant qu'entreprise proposant du conseil viticole et œnologique, nous avons travaillé avec plusieurs domaines et/ou caves afin de mettre en place un protocole intégrant diverses situations (cépage, process, terroir) dans l'expérimentation.

Ce travail s'inscrit avant tout dans l'objectif d'un état des lieux des possibles leviers viticoles et œnologiques de gestion des amines biogènes afin de produire des produits toujours plus qualitatifs, sains et d'anticiper une future réglementation dans la filière. Le manque de répétitions et les conditions imposées par une expérimentation en contexte de production ne nous permettent pas d'envisager de tirer des lois générales sur le sujet mais il reste toutefois envisageable d'observer des tendances. En effet, bien que ce soit de manière non générale, certains marchés (et notamment étrangers) exigent d'ores et déjà des teneurs en amines biogènes extrêmement faibles (<5 mg/l en total) et le manque de connaissances de la filière sur le sujet rend complexe la mise en place de mesures visant à limiter ces teneurs.

REMERCIEMENTS

Ce mémoire représente l'aboutissement de plusieurs mois d'expérimentation sur les amines biogènes, de presque 2 ans de travail au sein du centre ICV de Nîmes et de plus de 4 ans d'étude au sein de Montpellier SupAgro. Avant de poursuivre dans la rédaction technique de celui-ci je souhaiterais remercier l'ensemble des personnes qui ont, de près ou de loin, participé à la rédaction de ce travail, promut mon évolution professionnelle ou encore contribué à mon épanouissement personnel.

En tout premier lieu, je tiens à remercier Noël Laurens, ingénieur œnologue conseil à l'ICV et tuteur lors de mon contrat de professionnalisation pour sa bienveillance et sa confiance. Nos discussions et ses conseils m'ont été très précieux que ce soit pour l'élaboration de ce mémoire ou pour mon parcours perso-professionnel de manière générale. Merci de m'avoir permis de m'épanouir intellectuellement, d'avoir toujours veillé à mon bien-être et de m'avoir fait confiance tout au long de cette année.

Je remercie également l'ensemble des collègues de l'ICV de Nîmes et notamment Gérard Sanchez, le directeur, qui m'a offert la chance d'intégrer cette équipe et de participer à de nombreux projets très instructifs et intéressants. Merci pour cette opportunité, pour les échanges réguliers et pour toute la générosité que l'ensemble des employés ont su montrer. Je garderai un souvenir rayonnant de cette expérience au sein de l'entreprise.

Mes remerciements s'étendent également vers nos clients, cave coopératives et domaines particuliers qui m'ont chaleureusement accueillie pour cette expérimentation, et bien d'autres. Merci pour votre coopération, votre curiosité et votre bonne humeur.

Mes sincères gratitudes vont aussi vers l'ensemble de l'équipe pédagogique de Montpellier SupAgro et plus particulièrement vers mon tuteur Didier Ollé. Merci pour la qualité de l'enseignement reçu et merci d'être resté fidèle à la mentalité « VO » durant ces deux ans de spécialité.

Je dédie un merci particulier à toutes les personnes que j'ai pu rencontrer au cours de mes expériences personnelles et professionnelles dans le domaine et notamment Vanessa Cambis, Jean-Marie Lasmènes, Bernard Pallisé mais aussi Florence Gras à Montpeyroux ; Chris de Vries, Zelma Long et Phil Freese à Stellenbosch. Ces rencontres ont été si importantes pour moi, encore aujourd'hui merci pour ces moments, les connaissances et également les fous-rires partagés.

Un petit mot spécial pour mes amis, de SupAgro ou d'ailleurs. Vous êtes les soleils de ma vie. Et puisque nous sommes sur le mémoire VO, merci à toi Vincent Couly pour tout ce que tu as pu représenter pour moi durant ces 2 années de spécialité.

En dernier lieu, je ne peux passer outre ma reconnaissance envers ma famille : frères, conjoint mais surtout parents. Merci de m'avoir toujours suivie et soutenue dans mes choix, merci d'avoir été d'une solidité à tout épreuve et d'une tendresse sans pareil durant l'ensemble de ma scolarité. Merci pour les sacrifices et merci pour les remises en question. Je mesure la chance que j'ai de vous avoir.

Enfin, je voudrais exprimer ma profonde gratitude à toutes les autres personnes qui, même sans être citées personnellement, ont tout autant contribué à la réalisation de ce mémoire par leurs conseils et leurs diverses compétences.

« Vis comme si tu devais mourir demain, apprends comme si tu devais vivre toujours » Gandhi.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURE I-1-A-1 : DECARBOXYLATION DE L'HISTIDINE EN HISTAMINE. 21
FIGURE I-1-A-2 : FORMULES CHIMIQUES DES PRINCIPALES AMINES BIOGENES PRESENTES DANS LE VIN. 21
TABLEAU I-1-B-1 : PRINCIPAUX SYMPTOMES DE L'INTOXICATION A L'HISTAMINE ET A LA TYRAMINE. SOURCE : ANSES 23
FIGURE I-1-B-1 : ACP REALISEE A PARTIR DES DONNEES DE DEGUSTATION SUR LE VIN ROUGE PAS DE TROIS. 23
TABLEAU I-1-C-1 : MOYENNES DES TENEURS EN AMINES BIOGENES DES 129 VINS ANALYSES PAR L'ICV DE 2009 A 2012 25
TABLEAU I-1-C-2- QUANTITES MOYENNES RETROUVEES DANS LES VINS D'UNE ETUDE EXPERIMENTALE (SOURCE : BAUZA ET AL. 1995) 25
TABLEAU I-2-A-1 : COMPARAISON DES PRODUCTIONS D'AMINES BIOGENES DE DIFFERENTES ESPECES DE BACTERIES LACTIQUES EN MILIEU SYNTHETIQUE ET CONDITIONS OPTIMALES DE CROISSANCE. 25
FIGURE I-1-D-1 : TENEURS EN HISTAMINE EN FONCTION DU CEPAGE ET DE L'AJOUT AZOTE (DAP ET/OU LEVURES INACTIVEES EL). SOURCE : PROGRAMME BIAMFOOD. 27
FIGURE I-2-B-1 : ÉVOLUTION DES TENEURS EN AMINES BIOGENES DES VINS ROUGES DE LA VALLEE DU RHONE (SOURCE : INTER-RHONE). 28
FIGURE II-1-A-1 : SCHEMA DU PRINCIPE DE LA SEPARATION PAR HPLC LIQUIDE EN PHASE INVERSEE DES AMINES BIOGENES. 29
FIGURE II-1-A-2 : SCHEMA DU PRINCIPE DE LA DETECTION DES AMINES BIOGENES PAR FLUORIMETRIE APRES SEPARATION. 29
FIGURE II-3-A-1 : DESCRIPTION DES DEUX PROTOCOLES MIS EN PLACE LORS DE L'EXPERIMENTATION AMINES BIOGENES 2019. 31
FIGURE II-3-A-2 : SCHEMA DU DEROULEMENT DES PRELEVEMENTS D'ECHANTILLONS LORS DE L'EXPERIMENTATION AMINES BIOGENES 2019. 31
TABLEAU II-1-B-1 : LIMITES DE QUANTIFICATION DES AMINES BIOGENES AU LABORATOIRE D'ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE ICV DE MAURIN. 32
TABLEAU II-1-B-2 : INCERTITUDES DE MESURES DES AMINES BIOGENES AU LABORATOIRE D'ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE ICV DE MAURIN. 32
TABLEAU II-2-1 : DESCRIPTIONS DES DIFFERENTES QUALITES DE VINS ANALYSES POUR L'EPIDEMIOLOGIE REALISEE. 33
FIGURE II-3-A-1 : SCHEMA DU DEROULE DES PRELEVEMENTS D'ECHANTILLONS LORS DE L'EXPERIMENTATION AMINES BIOGENES 2020. 33
TABLEAU II-3-B-1 : DESCRIPTION DES CUVEES SUIVIES SUR L'EXPERIMENTATIONS AMINES BIOGENES 2020. 35
FIGURE II-3-B-1 : CARTE DES CAVES IMPLIQUEES DANS L'ESSAI AMINES BIOGENES 2020. 36
FIGURE II-3-B-2 : SCHEMA DU DEROULE DES PRELEVEMENTS D'ECHANTILLONS LORS DE L'EXPERIMENTATION AMINES BIOGENES 2020. 37
FIGURE II-3-B-2 : EXTRAIT DE LA FICHE DE DEGUSTATION PROPOSEE AU JURY. 37
FIGURE II-3-B-3 : SCRIPT R UTILISE POUR REALISER LE TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES DONNEES DE DEGUSTATION. 39
TABLEAU II-3-B-3 : P-VALUE SORTIES PAR LE SCRIPT R SUR LES DONNEES DE DEGUSTATION POUR LE CRITERE " SECHERESSE". 40
FIGURE III-1-A-2 : HISTOGRAMME DE LA CONCENTRATION EN PUTRESCINE DU RAISIN EN FONCTION DU CEPAGE. 41
FIGURE III-1-A-3 : HISTOGRAMME DE LA CONCENTRATION EN TYRAMINE DU RAISIN EN FONCTION DU CEPAGE. 41
FIGURE III-1-A-4 : HISTOGRAMME DE LA CONCENTRATION EN CADAVERINE DU RAISIN EN FONCTION DU CEPAGE. 41
FIGURE III-1-A-1 : HISTOGRAMME DE LA CONCENTRATION EN HISTAMINE DU RAISIN EN FONCTION DU CEPAGE. 42
FIGURE III-1-B-1 : HISTOGRAMME DE LA CONCENTRATION MOYENNE EN AMINES BIOGENES DES VINS APRES LA FERMENTATION MALOLACTIQUE EN FONCTION DU PROCESS DE VINIFICATION. MCO2 CORRESPOND A UNE MACERATION CARBONIQUE SUIVIE D'UNE VINIFICATION TRADITIONNELLE 45
FIGURE III-2-C-1 : HISTOGRAMME REPRESENTATION LES CONCENTRATIONS EN AMINES BIOGENES SUR VIN APRES FERMENTATION MALOLACTIQUE EN FONCTION DU MILLESIME. 45
FIGURE III-2-A-1 : FICHE D'ANALYSE DE PARCELLE UTILISEE 47
FIGURE III-2-A-2 : HISTOGRAMME REPRESENTANT LE POIDS DES AXES UTILISES POUR REPRESENTER LES DONNEES DANS L'ACP DE LA FIGURE III-2-A-1. 49
FIGURE III-2-A-3 : REPRESENTATION DES CORRELATIONS ENTRE CHAQUE VARIABLE UTILISEE POUR REALISER L'ACP. 49
FIGURE III-2-A-4 : GRAPHIQUE REPRESENTANT LA CONCENTRATION EN PUTRESCINE SUR RAISIN EN FONCTION DE LEUR TENEUR EN AZOTE ASSIMILABLE. 51
FIGURE III-2-A-5 : GRAPHIQUE REPRESENTANT LA CONCENTRATION EN PUTRESCINE EN FONCTION DE LEUR TENEUR EN ACIDES AMINES. 51
FIGURE III-2-A-7 : GRAPHIQUE REPRESENTATION LA CONCENTRATION EN PUTRESCINE SUR RAISIN EN FONCTION DE LEUR TENEUR EN SUCRE. 51
FIGURE III-2-A-8 : HISTOGRAMME REPRESENTANT LE POIDS DES AXES UTILISES POUR REPRESENTER LES DONNEES DANS L'ACP DE LA FIGURE III-2-A-1. 52
TABLEAU III-2-A-1 : LIEN ENTRE ACIDES AMINES PRECURSEURS ET AMINES BIOGENES 54

FIGURE III-2-B-1 : GRAPHIQUE DE L'EVOLUTION DES TENEURS EN AMINES BIOGENES AU COURS DU PROCESS POUR LA CUVE 1543-420.. 55
FIGURE III-2-B-2 : GRAPHIQUE DE L'EVOLUTION DES TENEURS EN AMINES BIOGENES AU COURS DU PROCESS POUR LA CUVE 1543-419 55
FIGURE III-2-B-3 : GRAPHIQUE DE L'EVOLUTION DES TENEURS EN AMINES BIOGENES AU COURS DU PROCESS POUR LA CUVE 1946.. 55
FIGURE III-2-1 : GRAPHIQUE MONTRANT L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN HISTAMINE SUR SYRAH AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION. 57
FIGURE III-2-2 : GRAPHIQUE MONTRANT L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN HISTAMINE SUR GRENACHE AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION. 57
FIGURE III-2-3 : GRAPHIQUE MONTRANT L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN PUTRESCINE SUR SYRAH AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION. 57
FIGURE III-2-4 : GRAPHIQUE MONTRANT L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN PUTRESCINE SUR GRENACHE AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION 58
FIGURE III-2-5 : GRAPHIQUE MONTRANT L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN TYRAMINE SUR SYRAH AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION 58
FIGURE III-2-6 : GRAPHIQUE MONTRANT L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN TYRAMINE SUR GRENACHE AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION.. 58
FIGURE III-2-2 : GRAPHIQUE MONTRANT L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN CADAVERINE SUR SYRAH AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION. 59
FIGURE III-2-2 : GRAPHIQUE MONTRANT L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN CADAVERINE SUR GRENACHE AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION 59
TABLEAU III-3-1 : DESCRIPTIF DES ECHANTILLONS POUR L'ETUDE DE L'INTERET DE LA BIOPROTECTION. 60
FIGURE III-3-A-1 : RADAR DE NOTATION ORGANOLEPTIQUES POUR EVALUATION DE L'INTERET DE LA BIOPROTECTION DES RAISINS - MERLOT. 61
FIGURE III-3-A-2 : RADAR DE NOTATION ORGANOLEPTIQUES POUR EVALUATION DE L'INTERET DE LA BIOPROTECTION DES RAISINS - SYRAH. 61
FIGURE III-3-A-3 : HISTOGRAMME DE CITATIONS DE DEFAUTS POUR CHAQUE ECHANTILLON LORS DE LA DEGUSTATION. 62
FIGURE III-3-B-1 : GRAPHIQUE DE L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN PUTRESCINE AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION... 63
FIGURE III-3-B-2 : : GRAPHIQUE DE L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN PUTRESCINE AU COURS DU PROCESS DE VINIFICATION. 63
FIGURE III-3-A-4 : CERCLE DES CORRELATIONS DES VARIABLES DE DEGUSTATION ET DES AMINES BIOGENES TOTALES. GRAPHIQUE OBTENU A PARTIR DE RSTUDIO. 65

SOMMAIRE

Table des matières

AVANT-PROPOS **6**

REMERCIEMENTS **6**

TABLE DES ILLUSTRATIONS **10**

SOMMAIRE **14**

SIGLES ET ACRONYMES **18**

INTRODUCTION **20**

I - PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS **22**

1 – LES AMINES BIOGENES DANS LE VIN 22
A – Définition *22*
B – Intérêts de la gestion des amines biogènes *22*
Histamine et tyramine : la réaction pseudo-allergique *22*
Cadavérine et putrescine : des masques de molécules aromatiques d'intérêt *24*
C – Teneurs dans les vins *24*
2 – FACTEURS DE PRODUCTION DES AMINES BIOGENES 26
A – Principaux microorganismes impliqués *26*
B – Influences des facteurs physiques : température, ph *26*
C – Impact de la teneur en alcool *28*
D – L'état azoté *28*
E – Les pratiques œnologiques *30*

II – MATERIEL ET METHODE **30**

1 – LE DOSAGE DES AMINES BIOGENES PAR HPLC 30
A – Le principe de la chromatographie *32*
B – Incertitudes de mesure *32*
2 – METHODE POUR REALISATION DE L'EPIDEMIOLOGIE 32
3 – LES PROTOCOLES MIS EN PLACE 34
A – Millésime 2019 : intérêt de la gestion de la fermentation malolactique *34*
B – Millésime 2020 : intérêt de la bioprotection des raisins *36*

III – RESULTATS ET DISCUSSION **42**

1 – RESULTATS GENERAUX 42
A – Impact du cépage *42*
B – Impact du process *44*
..... *45*
C – Comparaison des millésimes *46*
2 – GESTION DE LA TENEUR EN PRECURSEURS AMINES 48
A – Facteurs viticoles : lien avec la teneur en azote assimilable *48*
B – Effet de la supplémentation azotée des moûts *54*
2 – INTERET DE LA GESTION DE LA FERMENTATION MALOLACTIQUE 56
3 – INTERET DE LA BIOPROTECTION DES RAISINS 60
..... *61*
A – Impact sensoriel de la bioprotection des raisins *62*
B – Efficacité de la bioprotection pour limiter les teneurs en amines biogènes *64*
4 – IMPACT ORGANOLEPTIQUES DES AMINES BIOGENES DANS LES VINS 64
C – Discussion et critiques *66*

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES **70**

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES **72**

ANNEXES 76
ANNEXE 1 : FICHE TECHNIQUE ICV OKAY ® 76
ANNEXE 2 : FICHE TECHNIQUE ICV NYMPHEA ® 78
ANNEXE 3 : FICHE TECHNIQUE ICY ALTO ® 80
ANNEXE 4 : FICHE TECHNIQUE ICV MLPRIME ® 82
ANNEXE 5 : FICHE TECHNIQUE ICV ELIOS1 ® 84
ANNEXE 6 : ANALYSE IGA 86
ANNEXE 7 : FICHE VISITE PARCELLE 88
ANNEXE 8 : FICHE DEGUSTATION 90
..... 90
ANNEXE 10 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : CRITERE NOTES ANIMALES 92
ANNEXE 11 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : CRITERE INTENSITE AROMATIQUE 92
ANNEXE 12 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : VOLUME EN BOUCHE 94
ANNEXE 13 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : EXPRESSION DES AROMES FRUITES 94
ANNEXE 14 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : EXPRESSION DES AROMES EPICES 96
ANNEXE 15 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : COMPLEXITE AROMATIQUE 96
ANNEXE 16 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : ASTRINGENCE 98
ANNEXE 17 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : AMERTUME 98
ANNEXE 18 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : ACIDITE 100
RÉSUMÉ 102
MOTS CLÉS 102
ABSTRACT 104
KEY WORDS 104

SIGLES ET ACRONYMES

ACP : Analyse en Composantes Principales

ANOVA : ANalyse Of VAriance

AT : Acidité Totale

AV : Acidité Volatile

FA : Fermentation Alcoolique

FML : Fermentation malolactique

ICV : Institut Coopératif du Vin

IGA : Indice de Germes d'Altération

TAV : Titre Alcoométrique Volumique

TAP : Titre Alcoométrique Potentiel

INTRODUCTION

Au cours des dernières décennies, une plus grande attention est portée à la sécurité alimentaire afin de protéger la santé humaine que ce soit sur les contaminants chimiques, contaminants physiques ou contaminants d'origine biologique. La détection de contaminants d'origine naturelle et biologique tels que les amines biogènes est particulièrement importante puisque certaines de ces molécules telle que l'histamine sont potentiellement dangereuses pour l'homme si la dose ingérée est trop élevée.

Les amines biogènes sont des composés organiques azotés de faible poids moléculaire qui sont formées principalement par décarboxylation de certains acides aminés par des microorganismes (bien que d'autres voies métaboliques existent). Dans les vins, les amines biogènes les plus abondantes sont : la putrescine, l'histamine, la tyramine, la cadavérine et dans une moindre mesure la phényléthylamine. Certaines de ces amines sont déjà présentes dans le moût de raisin car synthétisées par la vigne mais la plupart d'entre elles sont produites et accumulées au cours du process de vinification, par des levures pendant la fermentation alcoolique, et majoritairement par les bactéries lactiques au cours de la fermentation malolactique ou après celle-ci pendant l'élevage du vin. Leurs teneurs sont variables généralement de l'ordre de quelques milligrammes par litre dans le produit fini mais peuvent dans certains cas atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par litre.

Outre l'enjeu sanitaire, il apparait essentiel d'améliorer le contrôle des teneurs en amines biogènes car celles-ci peuvent agir comme un « masque » sur les arômes et ainsi altérer la qualité organoleptique des vins produits.

Or, le contexte de réchauffement climatique ne semble pas faciliter le contrôle des amines biogènes. L'augmentation des degrés alcooliques, la diminution des acidités, la difficulté de traitement en lien avec les risques d'échaudage sont autant de facteurs favorisant le développement de flores d'altération productrices d'amines biogènes.

Pourtant, le contrôle des teneurs en amines biogènes n'est pas une pratique courante en production, et peu de caves sont capables d'estimer les quantités de ces molécules présentes dans leurs bouteilles. Alors que de leurs côtés certains acheteurs imposent déjà leur règle sur le sujet, l'OIV s'intéresse à une réglementation générales qui pourrait bien venir secouer la filière.

Ainsi, dans l'objectif d'accumulation de données sur cette thématique, ce mémoire se veut synthèse d'une expérimentation menée sur deux millésimes au sein du Groupe ICV, centre de Nîmes. La première année a permis de réaliser un état des lieux des teneurs en amines biogènes sur une grande cave des Côtes du Rhône en insistant sur la phase critique de latence entre la fermentation alcoolique et la fermentation malolactique. L'intérêt d'une co-inoculation avec des bactéries lactiques y fut abordée. La seconde a permis d'élargir les essais sur différentes caves du département du Gard et de cibler plus l'importance des paramètres vignobles (état de la parcelle, maturité, azote assimilable) et de la bioprotection. L'ensemble des résultats a été raisonné à la fois d'un point de vue sanitaire mais également à visée d'optimisation du potentiel organoleptique des produits.

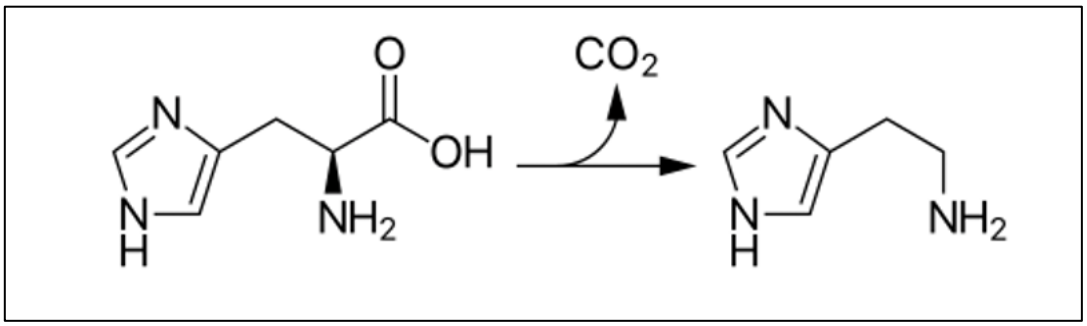


Figure I-1-A-1 : Décarboxylation de l'histidine en histamine.

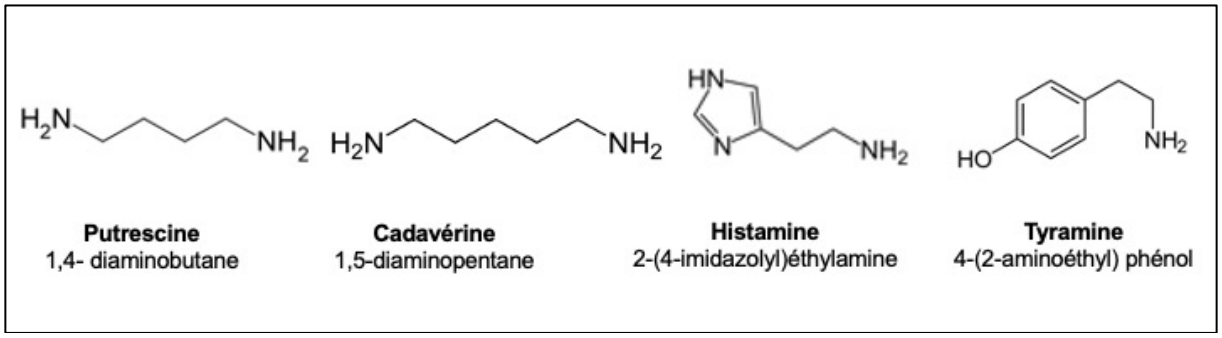


Figure I-1-A-2 : Formules chimiques des principales amines biogènes présentes dans le vin.

I - PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

1 – LES AMINES BIOGENES DANS LE VIN

A – DEFINITION

Les amines biogènes sont des composés azotés que l'on retrouve de manière répandue dans l'environnement chez les animaux et les végétaux. On en retrouve dans de nombreux aliments tels que les poissons, les fromages ou encore la choucroute pour ne citer que ceux-ci. Ces amines sont qualifiées de « biogènes » car elles sont formées par l'action d'organismes vivants.

Bien que les amines biogènes puissent être produites par différents microorganismes comme les levures œnologiques, elles sont principalement synthétisées par les bactéries lactiques. La principale voie métabolique responsable de cette production est la décarboxylation d'acides aminés. La figure I-1-A-1 présente le mécanisme de production de l'histamine.

S'il existe une multitude d'amines biogènes, la putrescine (1,4- diaminobutane), la cadavérine (1,5-diaminopentane), l'histamine (2-(4-imidazolyl)éthylamine) et la tyramine (4-(2-aminoéthyl) phénol) sont respectivement les molécules les plus présentes dans le vin. La figure I-A-2 présente leurs formules chimiques.

B – INTERETS DE LA GESTION DES AMINES BIOGENES

HISTAMINE ET TYRAMINE : LA REACTION PSEUDO-ALLERGIQUE

L'intérêt sanitaire de la gestion des teneurs en amines biogènes n'est plus à démontrée puisque ces molécules représentent la deuxième cause d'intoxication alimentaire en Europe d'après les données de l'ANSES.

L'histamine peut notamment être à l'origine de réaction pseudo-allergie chez l'être humain. Une fois ingérée, cette molécule est dégradée par des diamines oxydases, enzymes du système digestif humain. Toutefois, dans le cas d'une ingestion d'une dose élevée, la saturation de ces enzymes entrainera la contamination du système digestif par des molécules d'histamine non dégradées. L'ingestion de quantités plus faibles d'histamine en combinaison avec d'autres amines biogènes présentes dans l'aliment peut produire le même effet par inhibition compétitrice des enzymes de catabolisation de l'histamine. En effet, Bieldanes *et al.* (1979). ont démontré la potentialisation de l'effet toxique de l'histamine par les autres amines biogènes.

Les principaux symptômes de l'intoxication histaminique sont expliqués par l'effet vasodilatateur de la molécule. La dilatation des capillaires sanguins entraîne des phénomènes d'hémoconcentration.

Il existe une forte variabilité individuelle sur le niveau de tolérance à l'histamine qui peut être liée à des prédispositions génétiques concernant l'activité de certaines enzymes, à des maladies gastro-intestinales ou à la prise médicamenteuse d'inhibiteurs enzymatiques. C'est pourquoi il est difficile de déterminer une dose seuil. Par exemple, aucune réaction n'a été observé chez des personnes exposées à une dose de 25 à 50 mg par repas alors qu'une dose bien plus faible pourra entrainer une intoxication chez une personne intolérante.

Tableau I-1-B-1 : Principaux symptômes de l'intoxication à l'histamine et à la tyramine. Source : ANSES

	Durée moyenne d'incubation	**Population cible**	**Principaux symptômes**	**Durée des symptômes sans complication**	**Complication possible**
Histamine	1h	Toute la population	<u>Premiers symptômes :</u> Rougeur facio-cervicale, éruption cutanée, œdème du visage, bouffées de chaleurs, brulures dans la gorge, goût de poivre dans la bouche, démangeaisons de la peau, céphalées, palpitations cardiaques, étourdissements <u>Symptômes secondaires :</u> Nausées, maux d'estomac, vomissements, diarrhée	3h	Choc anaphylactique
Tyramine	3h		Crise d'hypertension couplée à des maux de tête, vertiges et troubles de la vue	24h	

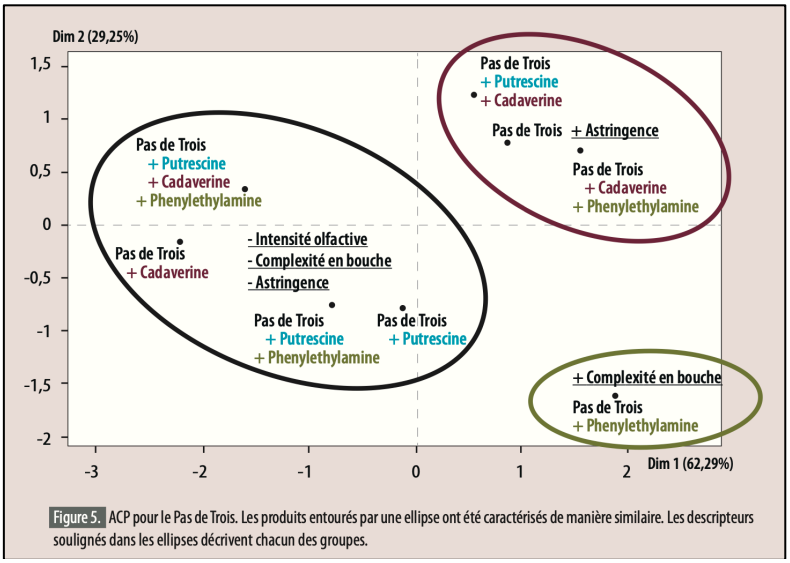


Figure I-1-B-1 : ACP réalisée à partir des données de dégustation sur le vin rouge Pas de Trois.

LES PRODUITS ENTOURES PAR UNE ELLIPSE ONT ETE CARACTERISES DE MANIERE SIMILAIRE. LES DESCRIPTEURS SOULIGNES DECRIVENT CHACUN DES GROUPES. SOURCE : DELPHINE THIEBLEMONT

L'ANSES estime le taux de personnes intolérantes autour de 1%. A cela s'ajoute que la réaction pseudo-allergique peut être potentialisée par d'autres molécules présentes dans le produit (autres amines biogènes, alcool, sulfites) ou présentes en même temps dans le système digestif (prise de médicament).

Pour le cas de la tyramine, si le processus menant à une réaction est le même, l'intoxication se caractérise par une crise d'hypertension. Cette amine biogène est d'ailleurs considérée comme le principal déclencheur des crises d'hypertension dues à l'alimentation. Toutefois, les symptômes pouvant apparaitre plus de quelques heures après l'ingestion d'aliment et durer plus de 24h, la relation de cause à effet avec le produit alimentaire est difficile à établir.

CADAVERINE ET PUTRESCINE : DES MASQUES DE MOLECULES AROMATIQUES D'INTERET

De noms évocateurs, ces molécules, bien que présentes à des teneurs très faibles dans les vins, peuvent orienter le profil organoleptique du produit. Le travail de D. Thieblemont (2011) pour l'obtention du titre d'Œnologue a mis en évidence cet effet.

Par exemple, un test discriminatif triangulaire a pu distinguer le profil d'un vin témoin (sans ajout d'amines biogènes), du même vin avec ajout de 5 mg/l de cadavérine ou de 2 mg/l de putrescine. Ces valeurs sont des teneurs qui se retrouvent régulièrement dans les vins.
Suite à une analyse sensorielle descriptive quantifiée et un traitement des données par ANOVA, elle a ainsi souligné l'impact des teneurs en amines biogènes (effet seul ou coercitif) sur plusieurs paramètres organoleptiques : l'intensité olfactive, la complexité en bouche et l'astringence.

La figue I-1-B-1 extraite de ses travaux permet de visualiser ces résultats et montre par exemple qu'un ajout simultané de putrescine/cadavérine a tendance à augmenter l'astringence alors qu'un ajout de cadavérine seul va surtout diminuer l'intensité olfactive et la complexité en bouche.

C – TENEURS DANS LES VINS

Bien que les amines biogènes puissent être à l'origine de divers problèmes dans le vin, il est difficile de définir des valeurs seuils et il n'existe aucune réglementation en vigueur à ce jour. On rappelle cependant que la Suisse imposait une teneur maximale de 10 mg/l d'histamine pour les vins importés jusqu'en 2010.

Les teneurs dans les vins peuvent être très variables en fonction des cépages, des millésimes ou encore des processus de vinification. Ces molécules étant majoritairement produites par des bactéries lactiques, les vins rouges en contiennent plus que les vins blancs et rosés ne réalisent pas la fermentation malolactique.

Toutefois, les valeurs détaillées dans la bibliographie (tableaux I-1-C-1 et I-1-C-2) ne peuvent pas être comparées à ce qui se retrouve régulièrement en production car cette analyse n'est pas courante à l'heure actuelle.

Ainsi, deux millésimes d'essais expérimentaux en production sur cette problématique ont permis de constituer une première base de données sur plusieurs domaines et caves du département et d'obtenir quelques résultats épidémiologiques sur ce sujet. Ils seront exposés dans la partie Résultats du mémoire.

Tableau I-1-C-1 : Moyennes des teneurs en amines biogènes des 129 vins analysés par l'ICV de 2009 à 2012

	Min (mg/l)	**Max** (mg/l)	**Moyenne** (mg/l)	**%moyen de chaque amine**
Histamine	0,3	8,3	2,1	16,8%
Putrescine	0,1	15,3	4,9	39,1%
Tyramine	0,1	7,4	1,6	13%
Cadavérine	0	17,8	3,9	31,1%
Total	0,5	48,8	12,5	

Tableau I-1-C-2- Quantités moyennes retrouvées dans les vins d'une étude expérimentale (source : Bauza et al. 1995)

Histamine (mg/l)	**Putrescine** (mg/l)	**Tyramine** (mg/l)	**Cadavérine** (mg/l)
3,7	10,8	3,7	0,2

Tableau I-2-A-1 : Comparaison des productions d'amines biogènes de différentes espèces de bactéries lactiques en milieu synthétique et conditions optimales de croissance.

	Oenococcus oeni	Lactobacillus 30a	Pediococcus parvulus
Production histamine en conditions optimales (mg/l)	32,8	1300	325
Production putrescine en conditions optimales (mg/l)	146	1300	
Production cadavérine en conditions optimales (mg/l)	34,2		

2 – FACTEURS DE PRODUCTION DES AMINES BIOGENES

A – PRINCIPAUX MICROORGANISMES IMPLIQUES

De nombreux microorganismes sont capables de produire des amines biogènes à partir des acides aminés. Pour ceux présents dans le vin on retrouve notamment les levures et les bactéries lactiques. Ces dernières représentent la principale flore productrice. Dans le vin, sont retrouvées des bactéries du genre : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Oenococcus*. Ces derniers sont tous sont potentiellement producteurs d'amines biogènes, à des teneurs variables en fonction des conditions du milieu.

Oenococcus oeni constitue la souche d'intérêt œnologique pour le déroulement de la fermentation malolactique des vins. Si sa production de putrescine peut atteindre 146 mg/l dans des conditions optimales utilisée pour les travaux de Bonnin-Jusserand M. (2011), elle reste faible productrice dans des milieux réels de par son adaptation aux conditions naturelles du vin. En effet, la production d'amines biogènes est associée à la résistance à un stress (acide, alcool, autre ?).

La production d'amines biogènes par les bactéries lactiques étant dépendante de la souche de bactéries lactiques présente ainsi que des conditions du milieu, il est difficile d'établir une relation entre les deux paramètres. Toutefois, l'inoculation du vin avec une souche sélectionnée de O. *oeni* garantira une production limitée puisque bien souvent ces souches sont non productrices par inactivation du gène codant les décarboxylases.

B – INFLUENCES DES FACTEURS PHYSIQUES : TEMPERATURE, PH

Les facteurs environnementaux (pH, T°C, teneur en alcool/sucres) permettant la croissance optimale des bactéries lactiques et l'activité enzymatique (Mazzoli *et al*, 2007), ainsi que la disponibilité en protéines et acides aminés libres (Lonvaud-Funel & Joyeux, 1994 ; Landete *et al*, 2006) sont des paramètres importants qui conditionnent la dynamique de production d'amines biogènes. La catalyse des acides aminés est notamment déclenchée lorsque les conditions environnementales se dégradent pour apporter une source d'énergie supplémentaire à la cellule (Konings *et al*, 1997).

Le pH
Bien qu'il ait été démontré que la production d'amines biogènes se déclenche à des pH faibles, pour justement faire face à des conditions difficiles de croissance, on observe souvent que la synthèse d'amines biogènes est plus importante à des pH élevés (Bover-Cid et *al*, 2008 ; Gardini *et al*, 2005) car l'acidité limite la croissance bactérienne.
En fait, deux phénomènes entrent en jeux ici : l'activité décarboxylase est d'autant plus forte que le pH est faible, mais la population bactérienne diminue également.

La température
La température ayant un effet marqué sur le contenu en amines biogènes des poissons et fromages, certains auteurs se sont intéressés à son impact sur la concentration en amines biogènes dans le vin. Ils ont montré que celle-ci augmentait avec la température et le temps de stockage (Klausen & Lund, 1986 ; Diaz-Cinco *et al*, 1992) mais qu'il n'y avait pas de différence significative de production lors des phases de FA-FML. Ainsi, contrairement aux autres aliments, la température n'est pas un facteur déterminant influençant le taux d'amines biogènes dans le vin.

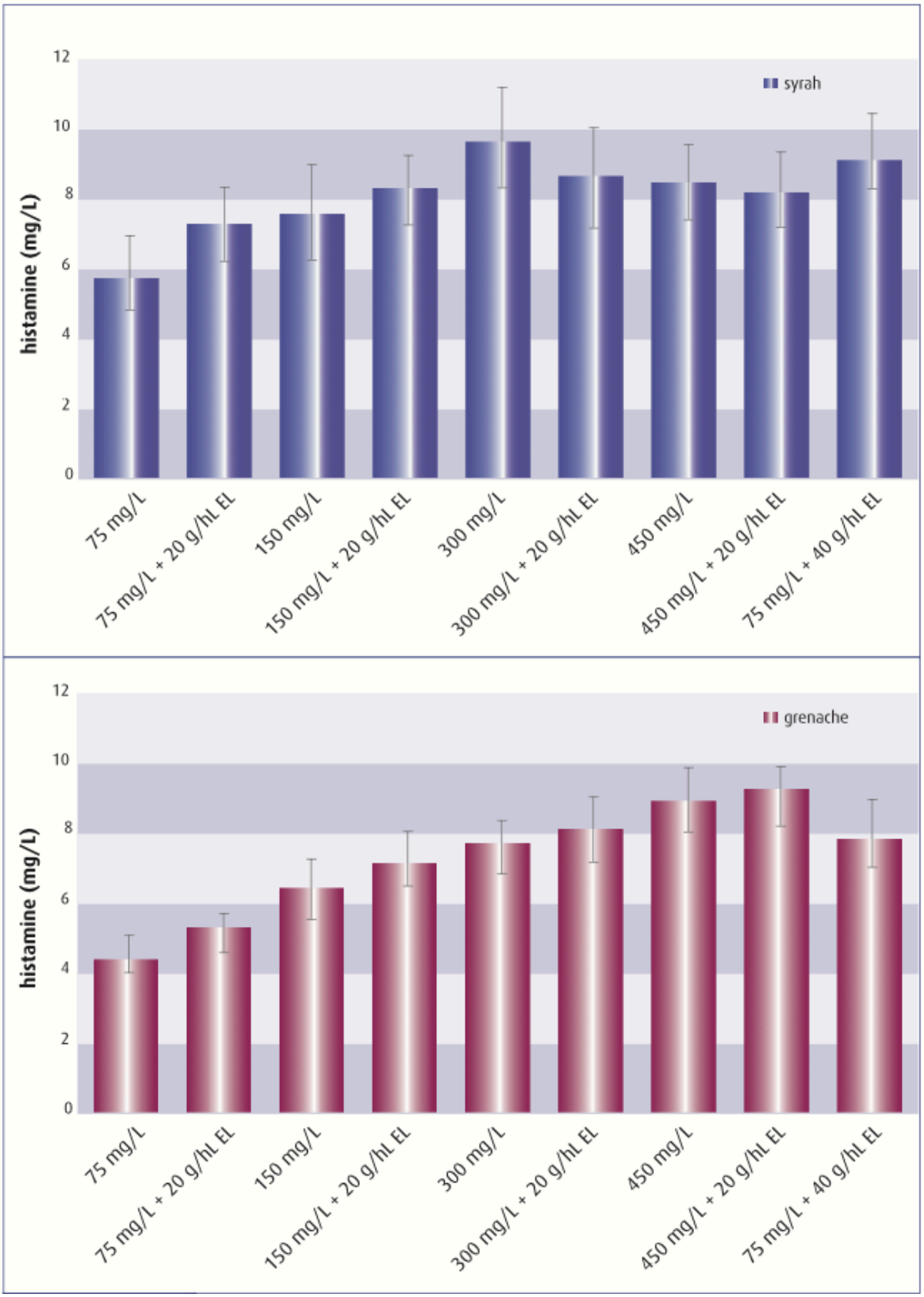


Figure I-1-D-1 : Teneurs en histamine en fonction du cépage et de l'ajout azoté (DAP et/ou levures inactivées EL). Source : programme BIAMFOOD.

C – IMPACT DE LA TENEUR EN ALCOOL

Ici encore, il n'est pas évident de mettre en relation la teneur en alcool et la production d'amines biogènes. Alors qu'une forte teneur en alcool favorise la mortalité des bactéries et donc l'absence d'amines biogènes, la production de ces molécules pourraient se poursuivre par les enzymes extracellulaires présentes dans le milieu. Arena & Manca de Nadra (2005) remarquent ainsi que bien que la concentration en éthanol affecte la croissance microbienne, les réactions métaboliques conduisant à la production d'amines biogènes ne sont pas inhibées.
De plus, la résistance à l'alcool des bactéries lactiques est directement reliée au pH. Plus le pH est bas, moins les bactéries résistent à des hauts TAV. De manière générale, une maturité avancée du raisin se traduira à la fois par un titre alcoométrique élevé et une acidité faible (pH élevé).

Il est par conséquent difficile de tirer une conclusion sur l'impact direct de la teneur en alcool sur le vin. Toutefois, une étude récente d'Inter-Rhône montre que les teneurs en amines biogènes ont globalement tendance à augmenter dans la Vallée du Rhône. L'hypothèse la plus probable selon les auteurs correspond à l'augmentation des maturités et les problèmes de fermentation associés.

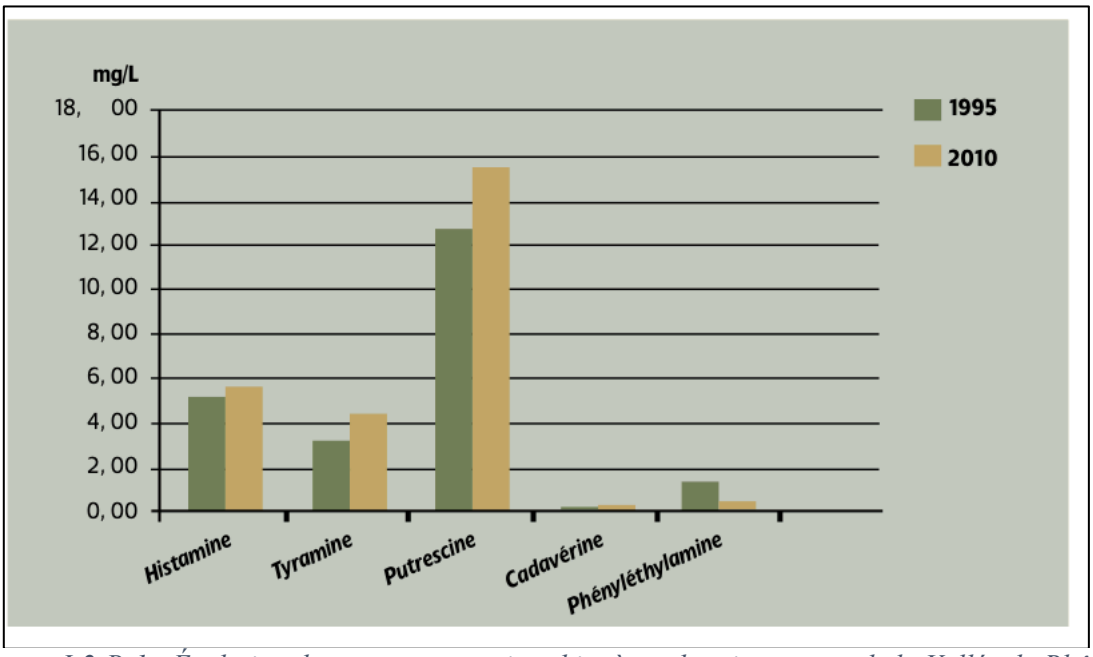


Figure I-2-B-1 : Évolution des teneurs en amines biogènes des vins rouges de la Vallée du Rhône (source : Inter-Rhône).

En effet, nous savons que des forts TAP constituent des conditions difficiles de fermentation pour les levures et que l'augmentation des pH permet une croissance des flores d'altération microbiennes bien plus importante. Ainsi, des durées de macération et de latence plus importantes constituent un point critique majeur pour une plus grande production d'amines biogènes.

D – L'ETAT AZOTE

L'azote est un élément clef des pratiques viticoles mais également œnologiques. Or, quand on sait que les acides aminés sont les précurseurs des amines biogènes on peut se questionner sur la relation entre concentration en précurseurs et production d'amines biogènes.

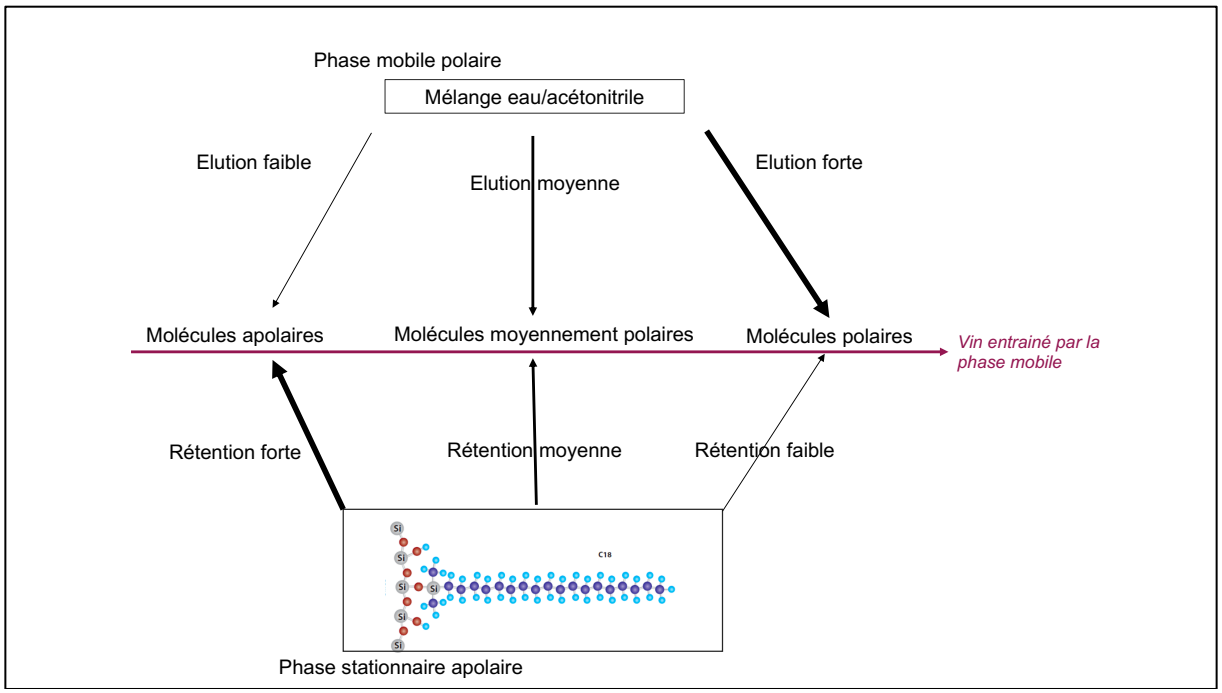


Figure II-1-A-1 : Schéma du principe de la séparation par HPLC liquide en phase inversée des amines biogènes.

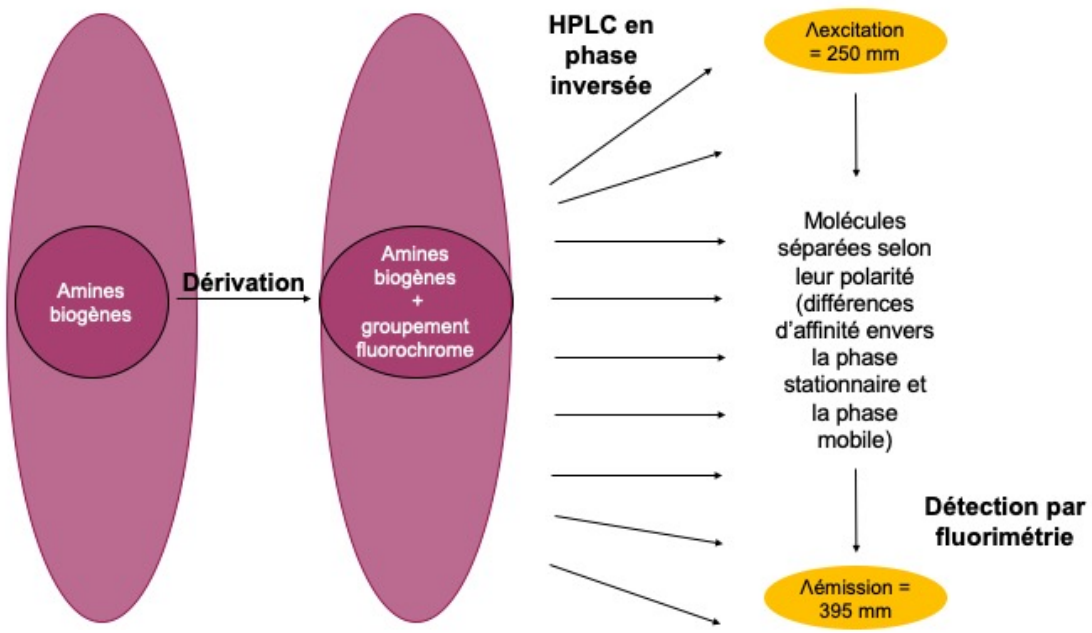


Figure II-1-A-2 : Schéma du principe de la détection des amines biogènes par fluorimétrie après séparation.

Le projet BIAMFOOD (programme européen de recherche qui associe dix partenaires institutionnels européens pour une durée de trois ans (2008 - 2011) et qui porte sur le vin, le cidre, le fromage et la viande) s'est intéressé à cette problématique et a mis en évidence une relation entre la quantité de nutriments azotés ajoutés durant la vinification et la teneur en amines biogènes. La teneur en histamine ayant pu dépasser les 10 mg/l, valeur qui était encore il y a quelques années seuil pour une exportation en Suisse.

Ce point parait être important à garder en tête quand on sait que les pratiques de fertilisation azotée au vignoble ou d'ajout de nutriments azotés dans les moûts sont courants dans la filière. L'idée ici n'est pas de promouvoir un arrêt de cette pratique, d'autant plus qu'elle permet souvent d'éviter des arrêts de fermentation ou des fermentations languissantes et donc de limiter le risque de production d'amines biogènes mais de raisonner son apport au cas par cas.

E – LES PRATIQUES ŒNOLOGIQUES

L'ajout de sulfites constitue un levier important de gestion des flores microbiennes durant les vinifications. Les vins fortement sulfités présenteraient moins de risques liés aux amines biogènes (Garcia-Marino *et al*, 2010). Toutefois, nous pouvons soulever le fait que ce levier est un peu à contre-tendance de la filière actuelle qui voit ses pratiques évoluées vers toujours moins de sulfites utilisés.

Un autre point influençant de manière certaine la production d'amines biogènes est la présence de lies. L'autolyse des levures permet la libération de composés azotés tels que les acides aminés, les protéines et peptides (Charpentier & Feuillat, 1993; Alcaide-Hidalgo *et al*, 2007). Ainsi davantage d'amines biogènes sont produites dues à l'enrichissement en précurseurs (Marques *et al*, 2008). D'où l'importance d'un suivi régulier et d'une mise au propre de la cuve si besoin. Il en est de même pour l'addition de mannoprotéines de levures dans les vins qui augmentent la concentration en composés azotés (Garcia-Marino *et al*, 2010). Ce point reprend la partie précédente sur l'impact des teneurs en précurseurs d'amines biogènes. De manière générale, il faudra toujours raisonner les apports en fonction de la balance bénéfice/risque.

II – MATERIEL ET METHODE

1 – LE DOSAGE DES AMINES BIOGENES PAR HPLC

Tout au long de l'expérimentation servant de base au mémoire, il a été indispensable de doser les quantités d'amines biogènes dans les raisins, les moûts et les vins étudiés.
Ce dosage a été effectué par le laboratoire ICV de Maurin par Chromatographie Liquide Haute Performance ou HPLC avec détection fluorimétrique. L'HPLC est une méthode d'identification, de séparation et de dosage de composés chimiques dans un mélange. Sa grande précision lui permet de quantifier des éléments à l'état de traces.

Le protocole utilisé se décompose en trois étapes : la dérivation, la séparation par HPLC en phase inversée et la détection par fluorimétrie.

- La dérivation avant traitement par HPLC permet d'obtenir des dérivés fluorescents stables d'amines biogènes. Elle se fait grâce à une solution tampon de borate de fluor et d'AQC (6-aminoquinolyl-N- hydroxysuccinimidyl carbamate).
- La séparation par chromatographie liquide haute performance en phase inversée permet de séparer des molécules plus ou moins hydrophobes (cas des amines biogènes) présentant un rapport carbone/hétérocarbone élevé.

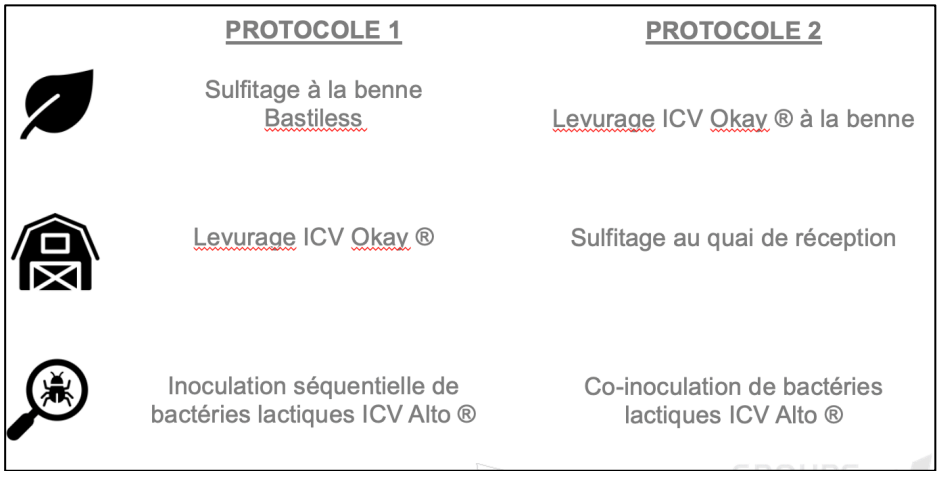


Figure II-3-A-1 : Description des deux protocoles mis en place lors de l'expérimentation amines biogènes 2019.

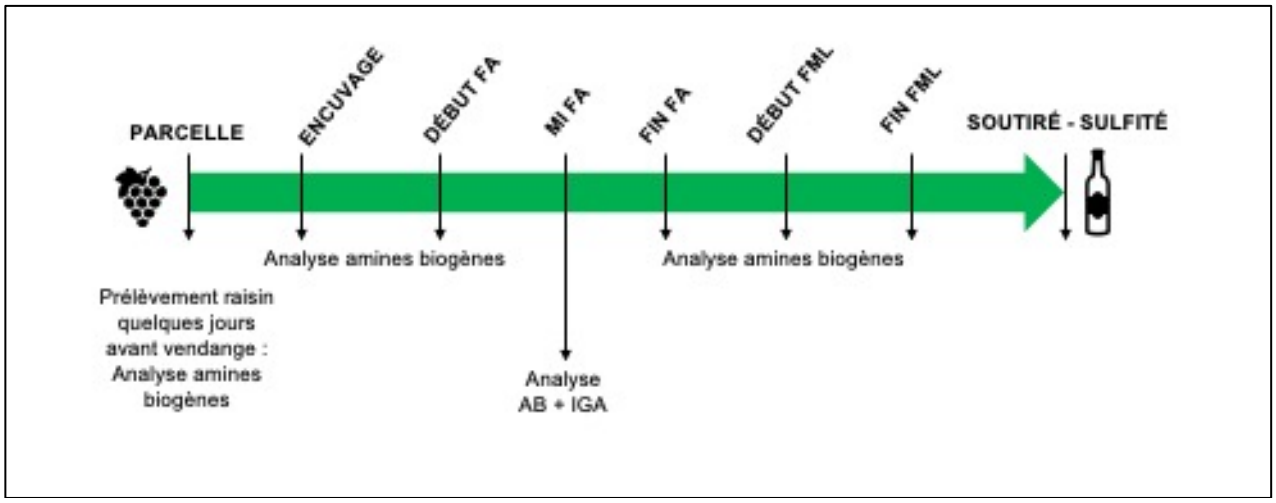


Figure II-3-A-2 : Schéma du déroulement des prélèvements d'échantillons lors de l'expérimentation amines biogènes 2019.

- La détection par fluorimétrie se fait par excitation à 250 nm des groupements Fluor des dérivés d'amines biogènes et mesure de leur émission à 395 nm.

A – LE PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE

La chromatographie, dont le principe général est présenté en figure II-1-B est une méthode de séparation des molécules en fonction de leur polarité. La spécificité de la phase inverse est l'apolarité de la phase stationnaire et la polarité de la phase mobile. Les molécules qui sortiront en premier de la colonne seront donc les molécules les plus polaires.

Après séparation des molécules, les amines biogènes peuvent être identifiées par fluorimétrie grâce au fluorochrome (l'AQC (6-aminoquinolyl-N- hydroxysuccinimidyl carbamate) qui leur a été ajouté durant l'étape de dérivation.

Au préalable, une gamme étalon a permis de réaliser une courbe reliant la fluorescence à la concentration pour chaque amine biogène. Il suffit désormais de mesurer la fluorescence de l'échantillon pour en déduire sa teneur en amine biogène en s'appuyant sur la courbe étalon.

B – INCERTITUDES DE MESURE

Les limites de quantification de cette méthode au laboratoire ICV de Maurin sont données dans le tableau II-1-B-1. Les incertitudes de mesures liées à la technique sont présentées dans le tableau II-1-B-2.
Ces incertitudes de mesures liées à l'analyse nous permettront de représenter les barres d'erreur sur l'ensemble des graphiques présents dans la partie résultats de ce mémoire.

Tableau II-1-B-1 : Limites de quantification des amines biogènes au laboratoire d'analyse chromatographique ICV de Maurin.

	Histamine	Putrescine	Cadavérine	Tyramine
Limite de quantification (mg/l)	0,5	0,5	0,5	0,5

Tableau II-1-B-2 : Incertitudes de mesures des amines biogènes au laboratoire d'analyse chromatographique ICV de Maurin.

	Histamine	Putrescine	Cadavérine	Tyramine
Incertitude de mesure (%)	30	30	40	40

2 – METHODE POUR REALISATION DE L'EPIDEMIOLOGIE

L'expérimentation faisant support à ce travail s'est effectuée sur deux millésimes : 2019 et 2020. Lors de la première année, nous nous sommes intéressés à une étude des teneurs moyennes en amines biogènes de différents vins en faisant varier différents paramètres : couleur, process, moment de la vinification, cépage. L'idée était d'obtenir une valeur moyenne des concentrations courantes dans les vins, ce dosage n'étant pas fréquent en routine dans la production.

Pour cela, nous avons prélevé différentes cuves sur deux jours différents au sein de la même cave : Maison Sinnae. Maison Sinnae est une cave coopérative des Côtes du Rhône Gardoises et se divise en trois sites de production : un sur Chusclan, un sur Laudun et un sur Codolet.

Tableau II-2-1 : Descriptions des différentes qualités de vins analysés pour l'épidémiologie réalisée.

Site de vinification	Couleur	Process
Chusclan	Rouge	Traditionnel
Chusclan	Rouge	Traditionnel sans soufre ajouté
Chusclan	Rouge	Thermo liquide (transfert)
Chusclan	Rouge	Thermo mix
Chusclan	Rouge	Transfert raisins chauffés
Codolet	Rosé	Filtration sous vide
Codolet	Rosé	Flottation
Laudun	Rosé	Flottation
Laudun	Rouge	Traditionnel
Laudun	Rouge	Thermo liquide (transfert)

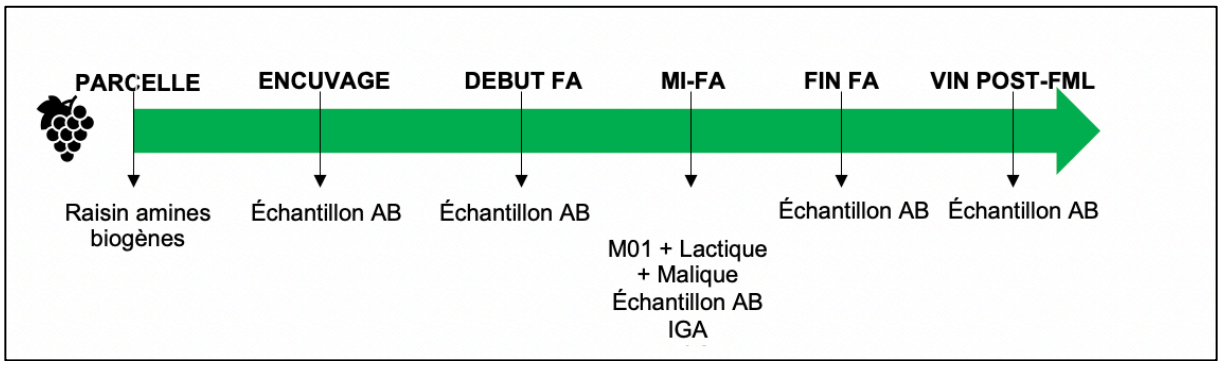


Figure II-3-A-1 : Schéma du déroulé des prélèvements d'échantillons lors de l'expérimentation amines biogènes 2020.

Avoisinant une production annuelle de 130000 hl sur 2800 ha, Maison Sinnae compte parmi les vignobles les plus importants de la Vallée du Rhône.
Ainsi, la production se divise en multiples process de vinifications et qualités. Ces process pouvant impacter les teneurs en amines biogènes nous avons souhaité prélever un maximum d'échantillons différents. Le tableau de la figure II-2-1 détaille les process étudiés.
On précisera toutefois que le process transfert est associé à un transfert de jus d'un site à un autre. Par exemple, l'appareil de thermovinification se trouvant sur le site de Codolet, après chauffage des jus, ceux-ci sont transportés par citerne jusqu'au site de Chusclan où ils seront vinifiés.

3 – LES PROTOCOLES MIS EN PLACE

A – MILLESIME 2019 : INTERET DE LA GESTION DE LA FERMENTATION MALOLACTIQUE

Objectifs

L'objectif principal de la première année d'expérimentation était d'effectuer un état des lieux des teneurs en amines biogènes dans différents types de vin. Il était également prévu d'évaluer l'intérêt de la coinoculation *S. cerevisiae* et *O. oeni* dans ce sujet de gestion des amines biogènes. L'ensemencement avec des bactéries lactiques sélectionnées a déjà fait ses preuves dans la bibliographie mais principalement en séquentiel et non en coinoculation. Pour rappel, l'intérêt de la coinoculation est de ne pas attendre la fin de la fermentation alcoolique pour démarrer la fermentation malolactique. La durée de latence entre ces deux fermentations n'existe alors plus et bien souvent la fermentation malolactique est achevée avant la fin de consommation des sucres par les levures.

Caves et terroirs impliqués

L'ensemble des essais amines biogènes 2019 s'est déroulé au sein de la cave Maison Sinnae à Chusclan. Bien qu'étendu sur 2800 ha et morcelé en différents appellations sur des sols très variés, l'ensemble du parcellaire est soumis à un climat méditerranéen typique.

Les protocoles mis en place

Quatre cuves ont été suivies de la parcelle jusqu'au soutirage sulfitage durant cette année-là : deux grenaches et deux syrahs de qualité comparable. Les quatre parcelles ont été visitées quelques jours avant vendange afin de prélever des raisins et d'effectuer un premier dosage sur raisin. Deux protocoles ont été mis en place, le premier associant un sulfitage à la benne à une inoculation séquentielle en bactéries lactiques (protocole 1) et un second protocole avec un levurage à la parcelle couplé à une co-inoculation en bactéries lactiques (protocole 2). L'ensemble des autres ajouts (enzymes, levures, nutriments, acidifications) sont les mêmes sur les différents protocoles afin de limiter au maximum les biais. La totalité des cuves a été vinifiée de manière traditionnelle, c'est-à-dire avec encuvage des grains de raisin et vinification en phase solide.

L'idée est la suivante : d'après la littérature et l'état actuel des connaissances en œnologie, deux moments sont critiques pour le développement de flores d'altération : avant la fermentation alcoolique et entre la fermentation alcoolique et la fermentation malolactique. Les protocoles mis en place devraient permettre d'isoler les pics de production en fonction des process choisis. En effet, le sulfitage et le levurage à la parcelle (appelé également bioprotection) sont des techniques visant à réduire les risques avant fermentation. La coinoculation, comme évoqué précédemment, permet d'agir sur le moment de latence entre FA et FML.

Tableau II-3-B-1 : Description des cuvées suivies sur l'expérimentations amines biogènes 2020.

Cave	Cépage	Qualité	Protection à la vigne	Vendange	Process particulier	Localisation
Héraclès	Merlot	Bio/sans soufre	ICV Nymphéa ®	Mécanique	Thermo mix	Codognan
	Merlot	Bio/Sans soufre	ICV Okay ®	Mécanique	Thermo mix	
	Merlot	Bio/Sans soufre	Rien	Mécanique	Thermo mix	
	Merlot	Biodynamie	Rien	Mécanique	Trad	
Maison Sinnae	Syrah	Sans soufre	ICV Nymphéa ®	Mécanique	Trad	Chusclan
	Syrah	Sans Soufre	ICV O*kay* ®	Mécanique	Trad	
	Syrah	Sous Soufre	ICV Okay ®	Mécanique	Trad	Laudun
Domaine Marco Paulo	Syrah	Bio, sans soufre,	Rien	Manuelle	Macération carbonique	Saussines
Domaine de Trépaloup	Mourvèdre	Bio, sans soufre	Rien	Manuelle	Macération carbonique	Saint-Clément
Tornac	Marselan	Bio, sans soufre	Rien	Mécanique	Trad	Tornac

Les fiches techniques des levures et bactéries choisies pour l'étude sont présentées en annexe. La levure ICV Okay ® est une S. *cerevisiae* à faible production en SO2, non productrice d'amines biogènes. Les bactéries ICV ICY Alto ® sont des O. *oeni* à forte capacité d'adaptation et grande rapidité fermentaire, non productrice d'amines biogènes. Elles peuvent être ajoutées en co-inoculation ou en séquentielle après FA.

Un suivi analytique de la parcelle jusqu'au sulfitage a été effectué et est présenté dans la figure II-3-B-2. Pour cette première année d'expérimentation, la majorité des analyses sont des dosages d'amines biogènes. Nous nous sommes peu intéressés à l'évolution des autres paramètres hormis pour le suivi des fermentations.

Les amines biogènes sont dosées selon la méthode détaillée précédemment. Les analyses IGA pour Indice de Germes d'Altération correspondent à une recherche microbiologique de levures Brettanomyces, bactéries acétiques et lactiques (voir Annexe).

B – MILLESIME 2020 : INTERET DE LA BIOPROTECTION DES RAISINS

Objectifs

Après une première année d'expérimentation ayant permis de tirer des conclusions sur la dynamique de production des amines biogènes et également sur l'intérêt de la co-inoculation, nous avons choisi de nous intéresser aux facteurs viticoles (état sanitaire, statut azoté, maturité) ainsi qu'à l'intérêt de la bioprotection de la vendange dans le cas de vins non sulfités.

Caves et terroirs impliqués

Dans le but de diversifier les situations viticoles et œnologiques de cette expérimentation, plusieurs parcelles ont été sélectionné sur différents domaines/caves pour un suivi du raisin jusqu'à la fin de la fermentation malolactique.

Les caves impliquées dans cette étude sont représentées sur la carte en figure II-3-B-1 et le tableau II-3-B-1 détaille les modalités étudiées pour chaque cuve.

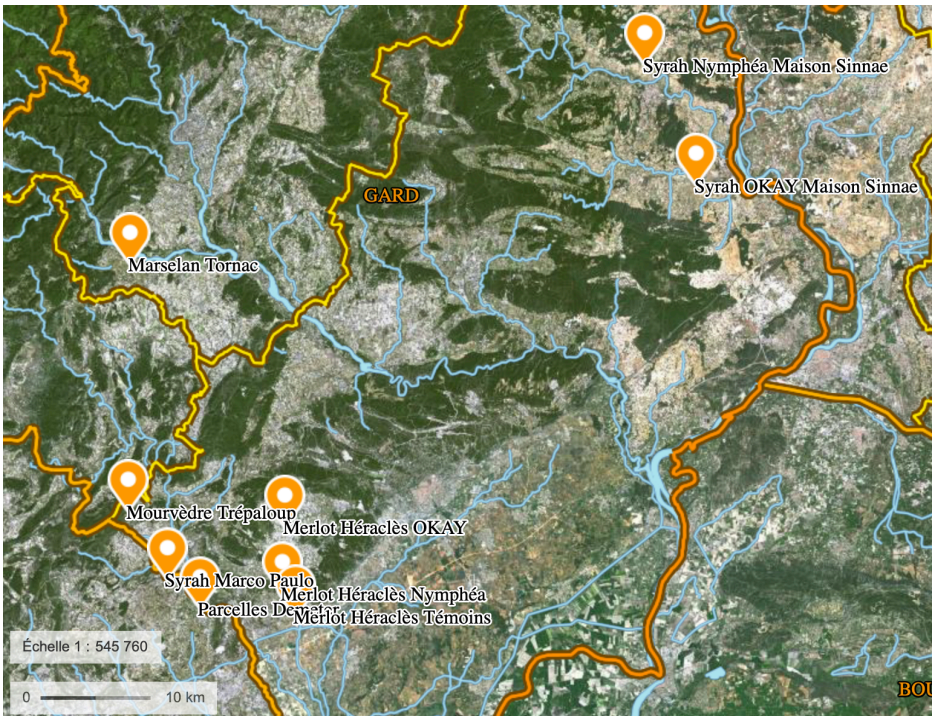


Figure II-3-B-1 : Carte des caves impliquées dans l'essai amines biogènes 2020.

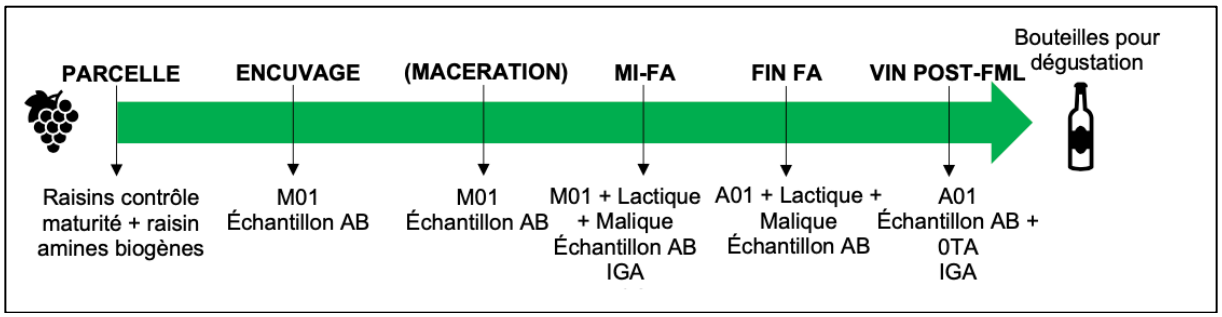


Figure II-3-B-2 : Schéma du déroulé des prélèvements d'échantillons lors de l'expérimentation amines biogènes 2020.

Préambule : l'idée de cette dégustation à l'aveugle est d'essayer de mettre en parallèle des teneurs en amines biogsènes et la perception organoleptique. Nous avons dosé les teneurs en amines biogènes sur tous ces échantillons et nous vous demandons maintenant de remplir cette fiche de la manière la plus objective possible. Nous avons sélectionné seulement certains critères qui nous semblaient pertinents pour l'étude mais vous êtes libres de laisser un commentaire général supplémentaire pour chaque échantillon si ce format vous semble trop restrictif. L'ensemble des critères sera évalué sur une échelle de 0 (absence) à 10 (intensité maximale).

Merci de remplir cette fiche de manière individuelle sans vous consulter lors de la dégustation.

Nom du consultant :

Échantillon 1731

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Intensité aromatique											
Expression des arômes fruités											
Expression des arômes épicés											
Complexité aromatique											
Notes animales											
Acidité											
Gras/volume											
Astringence											
Amertume											
Sécheresse											

Défaut remarqué :

Commentaire général (facultatif) :

Figure II-3-B-2 : Extrait de la fiche de dégustation proposée au jury.

On notera que les parcelles sélectionnées présentent des situations très différentes que ce soit par le cépage (cépage à maturité précoce : Syrah, cépage à maturité moyennement précoce : Merlot, cépage à maturité tardive : Marselan, Mourvèdre), la localisation (Côtés du Rhône, Gard cévenol, Costières de Nîmes, Gard limite Hérault…) ou le process de vinification (traditionnelle, macération carbonique, thermomix). Le point commun de ces cuvées étant une vinification sans sulfites ajoutés. Ce point nous permettra d'évaluer l'intérêt de la coinoculation sans présence de sulfites pouvant biaiser notre interprétation.

Le protocole mis en place
L'expérimentation s'est divisée en plusieurs étapes. En premier lieu, nous avons accumulé des données sur certains paramètres physiologiques et phytosanitaires (fiche présentée en annexe X) sur chaque parcelle. Cela nous a également permis de réaliser le premier prélèvement afin d'obtenir des informations sur la maturité de la parcelle, son état phytosanitaire et sur les teneurs en amines biogènes des baies de raisin.

Après vendange, un suivi régulier de la cuve ponctué par des prélèvements à différents stades (le jour de l'encuvage, au début de la fermentation alcoolique, à la moitié puis à la fin de celle-ci et enfin à la fin de la fermentation malolactique) du processus de vinification a permis de suivre la cinétique de production des amines biogènes. Ces prélèvements ont également permis de réaliser des analyses classiques de suivi de fermentation ainsi que des contrôles microbiologiques (voir méthode des IGA en annexe).

Enfin, une fois le vin « fini » et avant la phase d'élevage, nous avons organisé une dégustation à l'aveugle des dix cuves suivies afin d'étudier les conséquences organoleptiques des teneurs en amines biogènes dans ces vins.

Dégustation des cuves suivies
La dégustation s'est déroulée le 14 octobre 2020 sur des vins dont la fermentation malolactique était achevée. Les conditions sanitaires ne permettant pas d'organiser une dégustation simultanée des échantillons par l'ensemble du jury, une dégustation « en libre-service » a été mise en place, permettant aux différents dégustateurs de venir au cours de la matinée.
Afin d'éviter un biais induit par l'ordre de dégustation, l'ordre des échantillons a changé entre chaque dégustateur. De plus, un code a été associé à chaque cuve afin qu'aucun critère secondaire ne puisse influencer le jury (l'association code de dégustation/cuve ne sera pas présentée de manière visuelle par souci de respect vis-à-vis des caves/domaines impliqués).

Le jury est composé des 13 consultants en viticulture et/ou œnologique du centre ICV du Gard. Afin d'optimiser le temps de dégustation sur les 10 échantillons et de diriger le jury vers les critères organoleptiques judicieux pour l'étude, l'analyse sensorielle s'est basée sur une grille de dégustation avec certains critères à évaluer (Figure II-3-B-2). Ces critères organoleptiques sont inspirés de ceux précédemment utilisés dans la bibliographie et notamment dans le travail de Delphine Thieblemont (2017).

On a donc retenu cinq critères olfactifs (l'intensité aromatique, l'expression des arômes fruités, l'expression des arômes épicés, la présence de note animale et la complexité aromatique) ainsi que cinq critères gustatifs (l'acidité, le volume en bouche, l'astringence, l'amertume et la sécheresse). Ces critères ont été notés sur une échelle de 0 à 10 où 0 est l'absence de perception sensorielle et 10 la sensation maximale associée à ce critère. L'utilisation d'une échelle de 0 à 10 permet d'espérer une plus grande discrimination des notes qu'avec une échelle de 0 à 5.

```r
# Import du CSV dans l'intervalle de confiance
tableau_CSV = read.table("ClasseurCorrige.csv", sep = ";", header = FALSE)
# On retire les titres : premiere ligne et premiere colone
tableau_CSV<- tableau_CSV[-1,-1]

# Remplissage du tableau
row <- 1
for(ech in Echantillons)
{
    for(p in 1:13)
    {
        for(cr in 1:10)
        {
            tableau_corrige_Lisa[ech,cr,p] <- tableau_CSV[row,cr]
        }
        row <- row+1
    }
}

# Vérification
# print(tableau_corrige_Lisa["1644","Secheresse",])

# Nouveau tableau des p values
tableau_p_val <- array(rep(NaN, 10*10*10), dim = c(10,10,10), dimnames = list(Echantillons, Echantillons, Criteres))

# Test de Kruskal Wallis
# https://www.xlstat.com/fr/solutions/fonctionnalites/test-non-parametrique-sur-k-echantillons-independants-test-de-kruskal-wallis
# https://www.rdocumentation.org/packages/stats/versions/3.6.2/topics/kruskal.test

for(cr in Criteres)
{
    for(echA in Echantillons)
    {
        for(echB in Echantillons)
        {
            result <- kruskal.test(list(tableau_corrige_Lisa[echA,cr,], tableau_corrige_Lisa[echB,cr,]))
            tableau_p_val[echA,echB,cr] <- result[["p.value"]]
        }
    }
}
# Verification
# print(tableau_p_val)

# Echantillons vraiment differents
message("Verif: Echantillon 1902 et 1093 sur Notes animales : ", tableau_p_val["1902","1093","Notes animales"])
# Egaux
message("Verif: Echantillon 1902 compare avec lui-meme sur Notes animales : ", tableau_p_val["1902","1902","Notes animales"])

# Export du tableau global en .txt
sink("p-val-Globale.txt")
print(tableau_p_val)
sink()

# Export de chaque Critere dans un CSV
for(cr in Criteres)
{
    write.csv2(tableau_p_val[,,cr], file=sprintf("p-val-%s.csv",cr))
}
```

Figure II-3-B-3 : Script R utilisé pour réaliser le test de Kruskal-Wallis sur les données de dégustation.

Le jury a également la possibilité de détecter un défaut particulier pour chaque échantillon. Ces remarques seront harmonisées par la suite afin de rassembler les commentaires désignant les mêmes défauts (par exemple : « Brett » et « Cheval, écurie » ou « éthyl phénols »).

Traitement des données

Après un traitement statistique classique des données afin d'obtenir des indicateurs indispensables (moyenne, écart-type), il a été nécessaire de vérifier le poids statistique des différences observées. Ici, l'utilisation d'un test non-paramétrique est le plus judicieux puisque nous ne pouvons pas vérifier l'hypothèse d'une distribution statistique définie pour les notes des consultants. Ainsi, le test utilisé pour analyser les données est le test de Kruskal-Wallis.
C'est un test statistique non paramétrique qui permet de comparer plus de 2 échantillons indépendants. Le code R utilisé pour effectuer ce test est présenté en figure II-3-B-3.

Le principe de ce test est de poser l'hypothèse nulle que les échantillons sont similaires. Après comparaison des distributions (médianes, quartiles, moyennes, écart-type), il calcule une probabilité que cette hypothèse soit vraie. En conclusion, plus la p-value sortie est faible, plus on a de chance que l'hypothèse nulle soit fausse et donc que les échantillons soient statistiquement différents. Un exemple de tableau de p-value est présenté en figure II-3-B-4, le reste des tableaux pour les autres critères sont indexés en annexe. Ces p-value permettront de justifier les différences observées entre modalités dans la partie III-Résultats et discussion.

Tableau II-3-B-3 : p-value sorties par le script R sur les données de dégustation pour le critère " Sécheresse".

En rouge : p-value<0,1

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,15612455	**0,00061286**	**0,02078412**	**0,04923074**	**0,00532104**	0,67199122	0,4114938	**0,00018552**	0,57700185
1946		1	**0,02365349**	0,19416525	0,6565738	0,14576116	**0,08944831**	**0,05028745**	**0,00758659**	0,48114986
1783			1	0,56541688	**0,03973867**	0,51459724	**0,00027756**	**0,00018698**	0,44684464	**0,01183438**
1342				1	0,28728708	0,93788481	**0,01588439**	**0,01184918**	0,22973875	0,16172811
1543					1	0,25264129	**0,02144403**	**0,01057444**	**0,01184918**	0,210276
1873						1	**0,00128692**	**0,00055402**	0,19118134	**0,03096856**
1902							1	0,61011224	**7,31E-05**	0,308715
1287								1	**5,29E-05**	0,12693176
1093									1	**0,00331555**
1644										1

Par exemple, le tableau II-3-B-3 présente les p-values obtenues pour le critère Sécheresse. Une interprétation simple de ces données et que les échantillons 1783 et 1731 ont été noté de manière statistiquement différente sur le critère sécheresse.

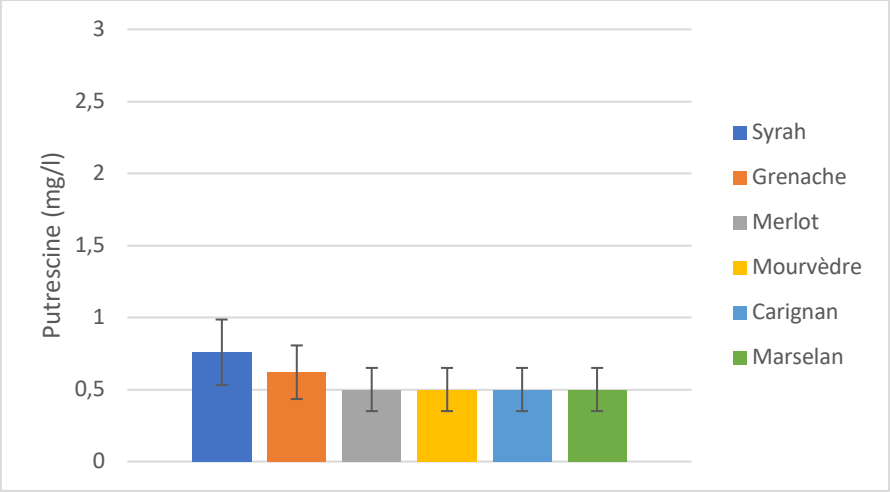


Figure III-1-A-2 : histogramme de la concentration en putrescine du raisin en fonction du cépage.

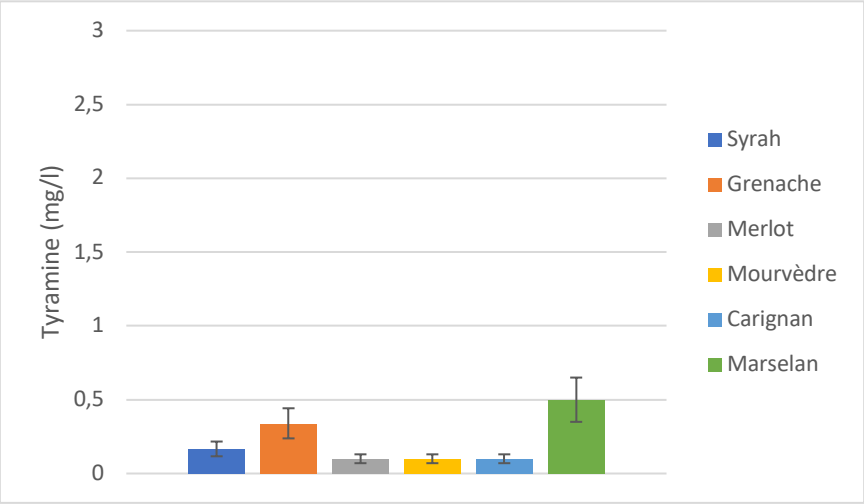


Figure III-1-A-3 : histogramme de la concentration en tyramine du raisin en fonction du cépage.

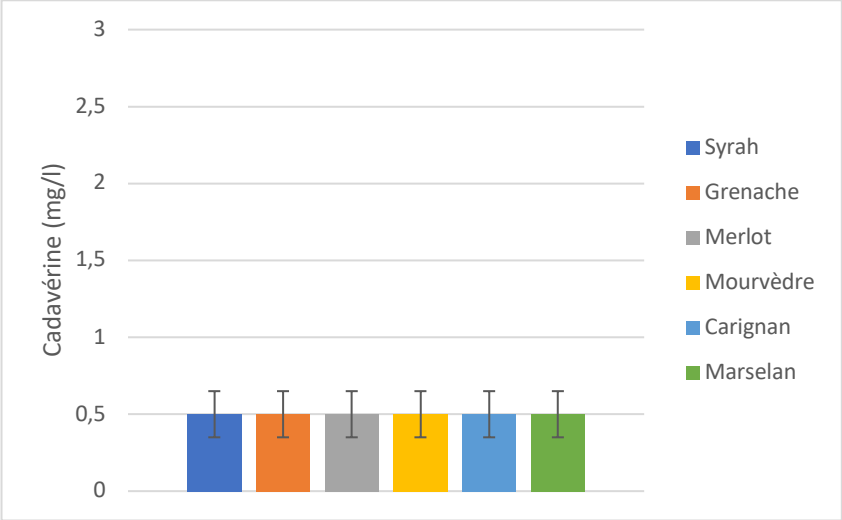


Figure III-1-A-4 : histogramme de la concentration en cadavérine du raisin en fonction du cépage.

Ainsi, on prend un risque de se tromper (largement ici) inférieur à 5% en énonçant le fait que l'échantillon 1783 a été évalué plus avec un sécheresse plus importante que l'échantillon 1731.De manière intuitive, la diagonale contient des p-values égales à 1 puisqu'on a une probabilité de 1 de se tromper en disant que l'échantillon 1731 est statistiquement différent de lui-même.

En conclusion, ce traitement statistique permet de s'affranchir du biais d'interprétation en lien avec la petite taille de notre jury dégustateur. En effet, plus la taille du jury est importante pour noter les dégustations, moins on a de chance de se tromper en observant des différences de moyennes. Or dans notre situation, l'échantillon 1644 ayant obtenu une note moyenne de 5,4 sur le critère « sécheresse » n'est statistiquement pas différent de l'échantillon 1731 ayant obtenu une note moyenne de 6,1 pour ce même critère.

Par souci de lisibilité, nous ne présenterons pas la valeur des p-values pour l'ensemble des résultats énoncés dans ce mémoire même si le raisonnement fut le même afin d'énoncer des conclusions statistiquement valables.

III – RESULTATS ET DISCUSSION

La présentation des résultats obtenus lors de ces deux années d'expérimentation se divise en différentes parties. En premier lieu, il convient de tirer des conclusions générales quant à la problématique telles que les teneurs en amines biogènes dans les cépages étudiés, l'impact du process de vinification, ou bien les variations observées entre millésime.
Par la suite, nous étudierons les deux principaux leviers de contrôle des teneurs en amines biogènes à savoir la teneur en précurseurs aminés et le contrôle de la flore microbienne au travers de la coinoculation en bactéries lactiques et de la bioprotection des raisins.

1 – RESULTATS GENERAUX

A – IMPACT DU CEPAGE

Si la bibliographie nous informe sur la propension de certains cépages à produire des vins avec plus ou moins d'amines biogènes, les données accumulées sur les millésimes 2019 et 2020 ne permettent pas d'observer de différence pour la putrescine, la tyramine et la cadavérine. En revanche, le Grenache semble être plus enclin à la production d'histamine (figure III-1-A-1), l'amine biogène la plus connue pour ses répercussions sanitaires.

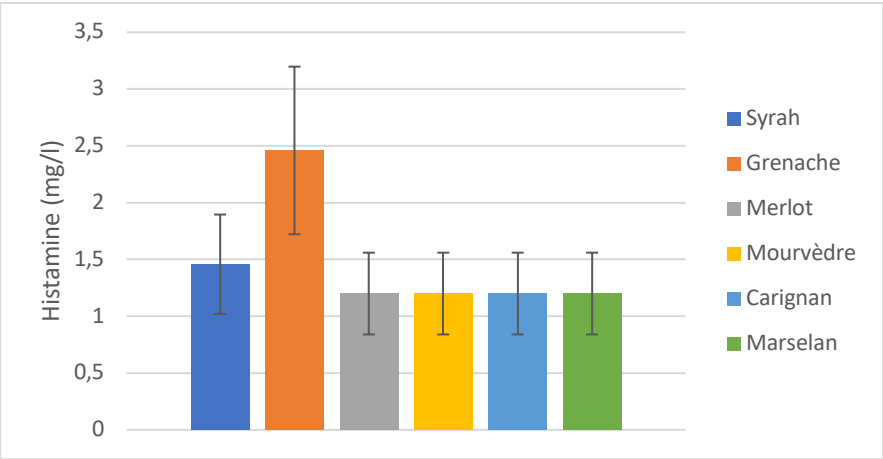


Figure III-1-A-1 : histogramme de la concentration en histamine du raisin en fonction du cépage.

Le graphique en Figure III-1-A-1compare les valeurs d'histamine retrouvées sur raisin en fonction du cépage. Les conditions de réalisation de cette étude ne permettent pas d'émettre d'hypothèse quant à ces observations hormis une plus grande concentration en précurseurs aminés.

On précisera que les résultats présentés proviennent des analyses sur raisins et non des vins vinifiés par la suite. En effet, le protocole de réalisation de cette expérimentation ne nous permet pas de comparer les teneurs en amines biogènes sur vin de par l'existence de biais liés au process ou bien au terroir. Nous ne pouvions tirer aucune comparaison d'un vin de Grenache Côtés du Rhône vinifié de manière traditionnelle avec un vin de Merlot Sud du Gard vinifiés par thermovinification.

B – IMPACT DU PROCESS

De nombreux auteurs se sont intéressés à l'impact des différentes méthodes de vinification sur les teneurs en amines biogènes. A partir de nos essais nous avons pu comparer 3 types de vinification.

La vinification traditionnelle en rouge

Dans le cas de la vinification traditionnelle, la vendange est égrappée, foulée puis mis en cuve directement. Différentes techniques d'extraction (pigeage, remontage, délestage, …) permettront d'obtenir de plus en plus de jus à partir des baies de raisins.

Le thermomix : une technique de thermovinification

Une partie (variable) de la vendange est chauffée à une température allant de 60 à 85°C et est intégrée à une part de vendange « fraîche ». S'en suit un processus de fermentation classique. L'intérêt de cette méthode est d'associer les bénéfices d'une thermovinification au profil organoleptique moins amylique d'une vinification traditionnelle. Les avantages du chauffage d'une partie de la vendange sont également microbiologiques. En effet, au-delà de 60°C la flore microbienne présente sur le raisin s'en trouvera fortement réduite.

La macération carbonique

On appelle « vinification par macération carbonique » une technique exploitant les phénomènes qui se déroulent spontanément dans les baies intactes de raisin non foulé, lorsque celles-ci sont placées en anaérobiose. Ces raisins sont le siège d'une fermentation intracellulaire qui entraîne des modifications complexes et importantes de leur composition.

Les vendanges se font en grappe entière, donc sans foulage ni éraflage. Les grappes entières sont déversées dans des cuves de fermentation saturées en gaz carbonique (CO_2) de manière à enlever tout l'oxygène présent. Elles sont ensuite fermées hermétiquement. En l'absence d'oxygène, les levures présentes seront inactives et la fermentation « traditionnelle » ne peut avoir lieu. C'est une fermentation dite enzymatique qui va démarrer. Les enzymes naturellement formées dans la baie de raisin vont convertir le sucre en alcool.

Après un certain temps les raisins présents dans la cuve vont éclater. À ce moment ils seront pressés délicatement. Le jus partiellement fermenté ainsi obtenu sera placé dans une seconde cuve de fermentation en présence d'oxygène afin que la fermentation se poursuive dans des conditions traditionnelles c'est à dire par les levures (fermentation levurienne).
Cette technique permet d'obtenir des vins fruités, peu ou pas tanniques et très aromatiques.

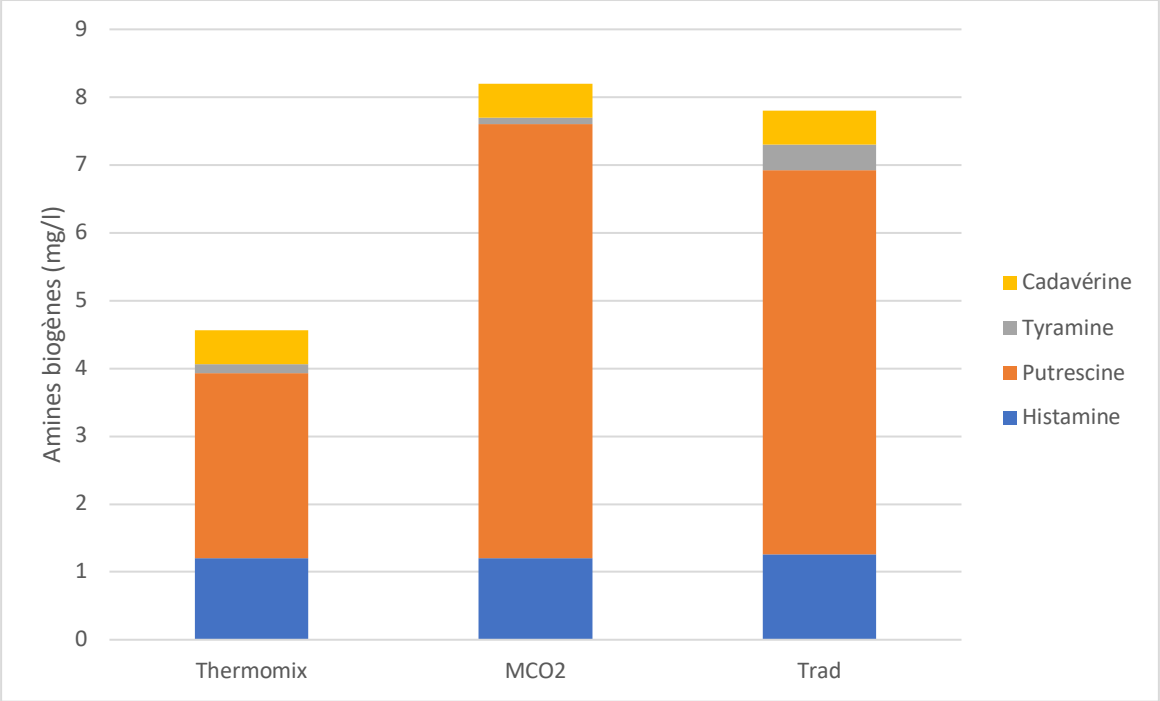


Figure III-1-B-1 : Histogramme de la concentration moyenne en amines biogènes des vins après la fermentation malolactique en fonction du process de vinification. MCO2 CORRESPOND A UNE MACERATION CARBONIQUE SUIVIE D'UNE VINIFICATION TRADITIONNELLE

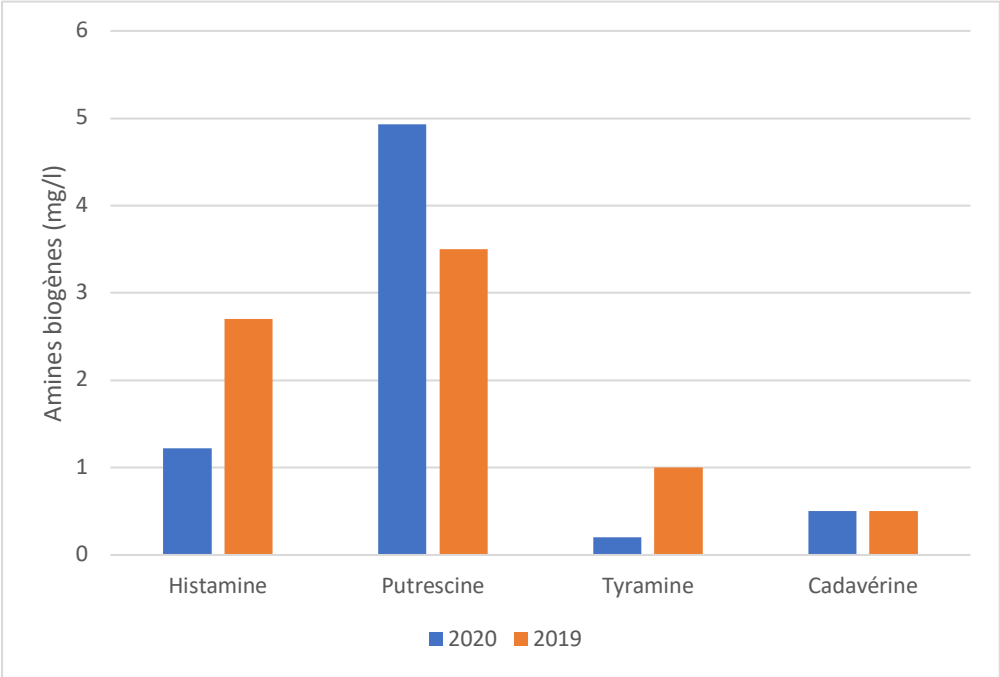


Figure III-2-C-1 : Histogramme représentation les concentrations en amines biogènes sur vin après fermentation malolactique en fonction du millésime.

Les résultats de cette expérimentation représentés dans la figure III-1-B-1 montrent que les vinifications traditionnelles (y compris la macération carbonique) sont plus susceptibles de produire des vins à fortes teneurs en amines biogènes que les thermovinifications. Cette différence s'observe particulièrement au niveau de la concentration en putrescine. Les concentrations en histamine et en cadavérine restent constantes quel que soit le process.

Cette observation reste logique quand on prend en compte l'impact de la température sur l'activité enzymatique. Les techniques de thermovinifications restent un moyen efficace de contrôle l'impact des flores microbiennes d'altération.
De plus, Guttart *et al.* (1997), avait déjà énoncé le fait que toute macération augmenterait les teneurs potentielles en amines biogènes de par une plus grande extraction des acides aminés précurseurs de la pellicule. C'est ce qu'on retrouve ici avec le cas particulier de la macération carbonique.

C – COMPARAISON DES MILLESIMES

Avoir mené une expérimentation sur les amines biogènes sur deux millésimes différents nous permet d'effectuer une comparaison entre ceux-ci.
Ces deux millésimes ont été très différents au niveau climatique et les axes de ce travail changeant entre l'année 2019 et l'année 2020 il ne s'agit pas ici d'en tirer des conclusions générales mais simplement d'énoncer quelques observations.

Millésime 2019 : un millésime marqué par l'échaudage et le blocage des maturations
Les parcelles suivies en 2019 montraient des signes de stress hydrique fort, et des brûlures avec un échaudage partiel lié à la canicule de juin 2019. L'état phytosanitaire était bon mais les maturités phénoliques peu avancées du fait des blocages métaboliques provoqués par la chaleur.

Millésime 2020 : un millésime caractérisé par l'hétérogénéité et une chute brutale des températures
Les parcelles suivies en 2020 ne montraient pas de signes de stress hydrique important mais une hétérogénéité de maturité beaucoup plus importante. Les évènements climatiques (gel, grêles) sont à l'origine de cette observation. Des précipitations régulières ont favorisé l'apparition de foyers de pourriture un peu partout sur le département.

Du côté des amines biogènes, on observe que le millésime 2019 est marqué par des teneurs en histamine et en tyramine plus élevées que le millésime 2020. Alors que ce dernier présente une teneur en putrescine bien plus élevé.

Nous ne proposons pas ici d'hypothèse quant à ces différences observées de par le manque de répétabilité de notre expérimentation et également le nombre de facteurs pouvant influencer ces valeurs. Toutefois il reste intéressant d'observer un effet déjà énoncé dans la bibliographie et notamment Vigentini *et al*. (2009) à savoir que le millésime joue un rôle important dans la dynamique de production des amines biogènes.

GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

Fiche visite parcelle

Date de visite : ……/……/……. Nom du domaine : ……

Informations sur la parcelle

Surface de la parcelle : …… Année de plantation : ……
Mode de conduite : …….. Cépage : ……..……...
Clone : …….. Porte-Greffe : ……..
Distance intercep : ……. Distance inter-rang = E : ……

Enherbement inter-rang		
Absence	1R/2	2R/2

Enherbement rang		
Absence	Faible présence	Présence importante

Palissage						
Gobelet	1-0-0	1-2-0	1-0-2	1-2-1	1-0-1	1-2-2

Orientation des rangs :

État phytosanitaire

	Nul	<1%	<10%	<50%	>50%
Mildiou					
Black rot					
Oïdium					
Botrytis					
Aspergillus					

Physiologie

Vigueur		
Faible	Moyenne	Élevée

Charge		
Faible	Moyenne	Élevée

% Manquants : ……

Figure III-2-A-1 : Fiche d'analyse de parcelle utilisée

2 – GESTION DE LA TENEUR EN PRECURSEURS AMINES

A – FACTEURS VITICOLES : LIEN AVEC LA TENEUR EN AZOTE ASSIMILABLE

Les résultats de cette partie proviennent uniquement des données obtenues durant le millésime 2020. Lors de cette deuxième année d'expérimentation nous nous sommes intéressés à plusieurs facteurs viticoles que nous avons pu étudier par une visite de la parcelle quelques jours avant vendange. Une brève description des parcelles basée sur les fiches de visite est intéressante afin de poser un cadre sur les individus de l'étude.

Parcelle de Syrah associée à la cuve 1342

Cette parcelle de Syrah est caractérisée par un rapport charge/SFE faible. En effet, le rendement potentiel est peu élevé alors que la vigueur est importante. L'enherbement est bien maitrisé, il n'y a pas d'herbe dans la zone fructifère. La parcelle ne montre pas de stress hydrique important. Aucun problème phytosanitaire n'est a relevé hormis quelques tâches de mildiou sur feuilles. La maturité technologique et phénolique est avancée la veille de la récolte.

Parcelles de Syrah associée à la cuve 1783

La cuve 1783 a été rempli avec un lot de parcelles très proches les unes des autres. Globalement ces parcelles présentent un fort stress hydrique en lien avec un sol très séchant. Le rapport charge/SFE est relativement élevé du fait de la défoliation reliée au mildiou sur feuille et également à la sécheresse. L'état sanitaire est relativement bon même si on retrouve régulièrement des foyers d'Aspergillus sur des flétrissements de baies. Ce cépage étant particulièrement enclin à ce phénomène. L'enherbement est bien maitrisé, il n'y a pas d'herbe dans la zone fructifère. La maturité technologique est avancée mais la maturité phénolique semble retardée par le niveau de stress hydrique de la vigne.

Parcelles de Syrah associée à la cuve 1543

Parcelles très similaires à celles de la cuve 1342 avec notamment un rapport charge/SFE faible. En effet, le rendement potentiel est peu élevé alors que la vigueur est importante. L'enherbement est bien maitrisé, il n'y a pas d'herbe dans la zone fructifère. La parcelle ne montre pas de stress hydrique important. Aucun problème phytosanitaire n'est a relevé hormis quelques tâches de mildiou sur feuilles. La maturité technologique et phénolique est avancée la veille de la récolte.

Les Merlots du Sud du Gard associés à la cuve 1644, 1093 et 1287

Les parcelles associées à ces cuves présentent des qualités similaires. Le rendement potentiel est très élevé et associé à une grande surface foliaire exposée potentielle. Toutefois, le palissage y est insuffisant pour relever la végétation. L'aspect buissonnant associé des grosses grappes très compactes est un environnement favorable pour le développement de foyers de pourriture dans un secteur où les ravageurs Cryptobables sont très présents. A cela s'ajoute beaucoup d'herbe sur le rang et notamment dans la zone fructifère ce qui favorise un microclimat très humide autour des fruits. On ne remarque pas de stress hydrique important.

Les parcelles de biodynamie : cuve 1731

Les parcelles de biodynamie sont constituées de plusieurs cépages : Grenache, Syrah, Carignan qui sont voisins sur deux ilots. Ces parcelles sont caractérisées par un rapport charge/SFE faible. De manière générale, les rendements sont très faibles et les vigueurs sont peu importantes. L'enherbement est bien maitrisé sur une le premier ilot, un peu moins sur le deuxième où on trouve régulièrement de l'herbe dans la zone fructifère.

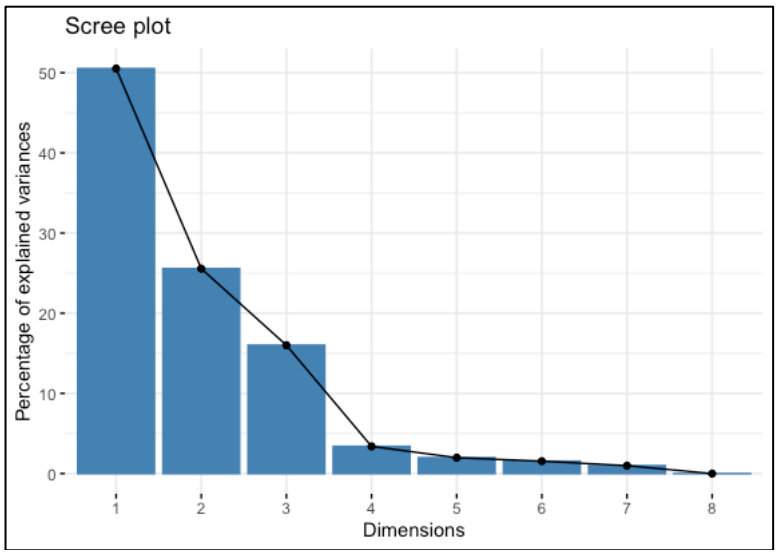


Figure III-2-A-2 : histogramme représentant le poids des axes utilisés pour représenter les données dans l'ACP de la figure III-2-A-1.

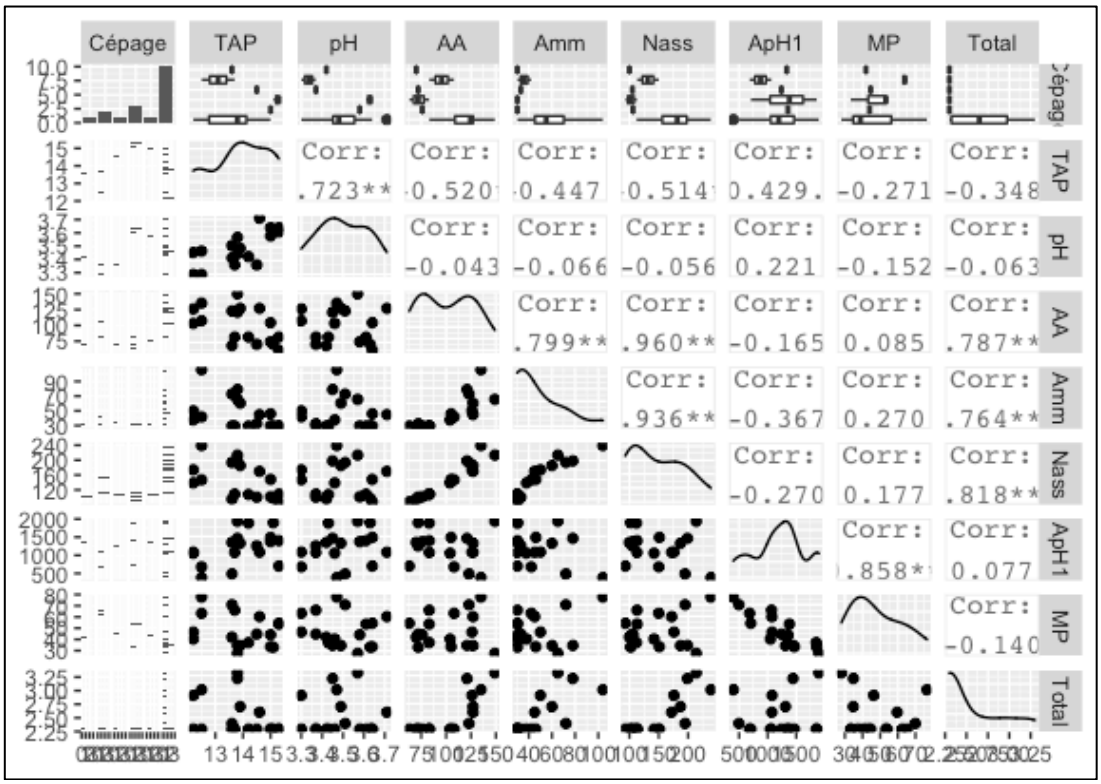


Figure III-2-A-3 : Représentation des corrélations entre chaque variable utilisée pour réaliser l'ACP.

La parcelle ne montre pas de stress hydrique important. On n'observe pas de problème phytosanitaire notable. Les maturités technologique et phénolique sont peu avancées en moyenne.

Le Marselan des Cévennes associé à la cuve 1946
Cette parcelle présente un bel équilibre entre charge et surface foliaire exposée. La vigueur est importante. L'enherbement est bien maitrisé. Les grappes sont composées de petites baies et sont peu compactes pour le cépage. L'état phytosanitaire est bon et on ne remarque pas de stress hydrique important. La maturité technologique semble avancée malgré une maturité phénolique qui n'est pas encore atteinte (tanins assez verts et peu de couleur pour le cépage).

Le Mourvèdre : cuve 1873
Cette parcelle de Mourvèdre est caractérisée par un rapport charge/SFE moyen. En effet, le rendement potentiel est peu élevé notamment parce que les grappes sont petites pour ce cépage. Toutefois la vigueur est également moyenne. L'enherbement est bien maitrisé, il n'y a pas d'herbe dans la zone fructifère. La parcelle ne montre pas de stress hydrique important. On observe quelques perforations de tordeuses mais très rarement des foyers de pourritures associés. La maturité technologique et phénolique est peu avancée la veille de la récolte pour ce cépage tardif.

La Syrah associée à la cuve 1902
Cette parcelle est très hétérogène en rapport avec sa topographie. L'enherbement n'est pas problématique notamment du fait que la vendange soit manuelle.
Le haut de la parcelle est caractérisé par un petit rendement potentiel avec des grappes assez lâches et légères et peu de problème phytosanitaire. Alors que le bas de la parcelle présente beaucoup plus d'entassement de la végétation et un rendement potentiel bien plus élevé. Associé à une humidité plus importante en lien avec le ruisseau présent en bas de la parcelle, de nombreux foyers de Botrytis cinerea se sont développés sur des sorties de larves/flétrissement de baies. Au niveau des maturités on a logiquement ce décalage à la dégustation : haut de parcelle bien avancé et mûr de manière technologique, phénologique et aromatique. Bas de la parcelle plus en retard avec une couleur qui se fait encore attendre sur les doigts...

Après analyse des raisins prélevés lors de la visite de la parcelle, l'observation viticole descriptive de ces parcelles et des résultats des dosages en amines biogènes ne montrent pas de relation entre l'état phytosanitaire des parcelles et les teneurs en amines biogènes. Par exemple, la parcelle de Syrah 1902 qui présentait de nombreux foyers de *Botrytis cinerae* montre des teneurs en amines biogènes identiques à la parcelle de Marselan où il n'a pas été trouvé trace de maladie particulière.

Afin d'aller plus loin dans cette étude et d'analyser quels paramètres étudiés pouvaient conditionner les teneurs en amines biogènes nous avons choisi de réaliser une analyse par composantes principales en utilisant Rstudio.
L'ACP réalisée sur la base de données permet de tirer des conclusions intéressantes. En effet, le graphique représentant le poids des axes (figure III-2-A-2) montre que la représentation d'un cercle des corrélations selon deux axes principaux permet d'expliquer 75% de la variabilité des données. Le cercle des corrélations présenté en figure III-2-A-1 permet de représenter les variables selon deux axes.

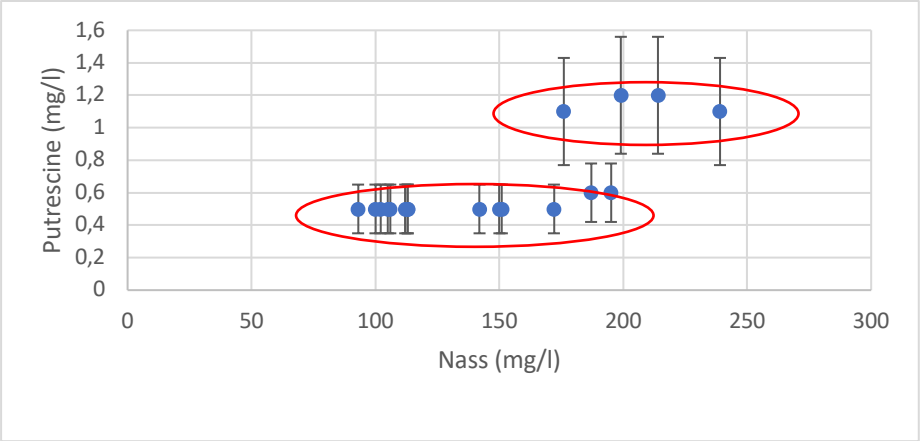


Figure III-2-A-4 : Graphique représentant la concentration en putrescine sur raisin en fonction de leur teneur en azote assimilable.

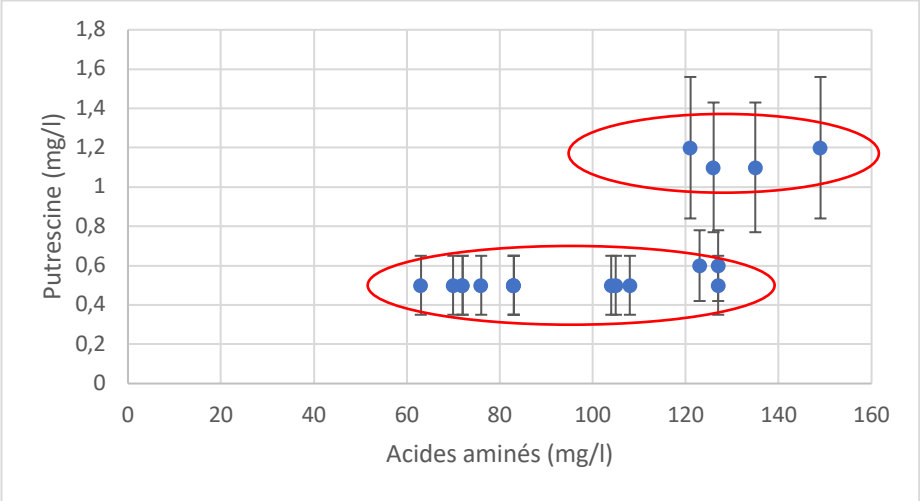


Figure III-2-A-5 : Graphique représentant la concentration en putrescine en fonction de leur teneur en acides aminés.

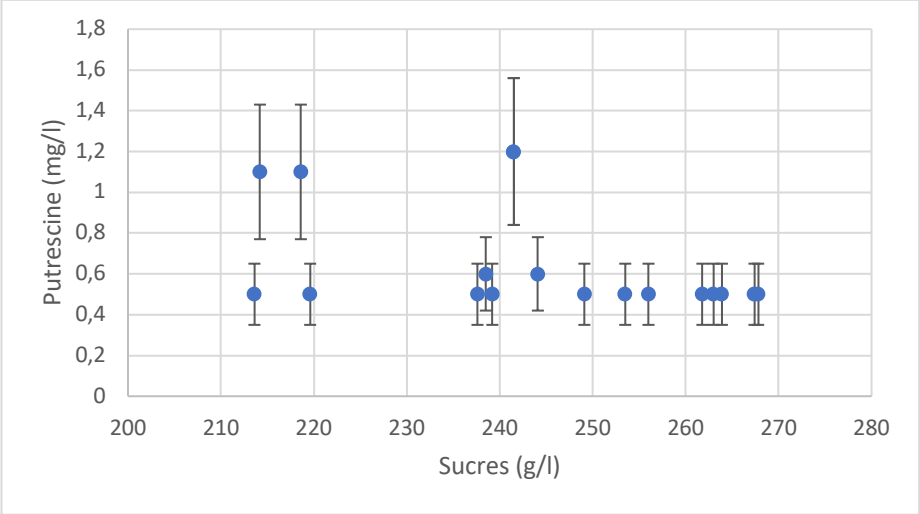


Figure III-2-A-7 : Graphique représentation la concentration en putrescine sur raisin en fonction de leur teneur en sucre.

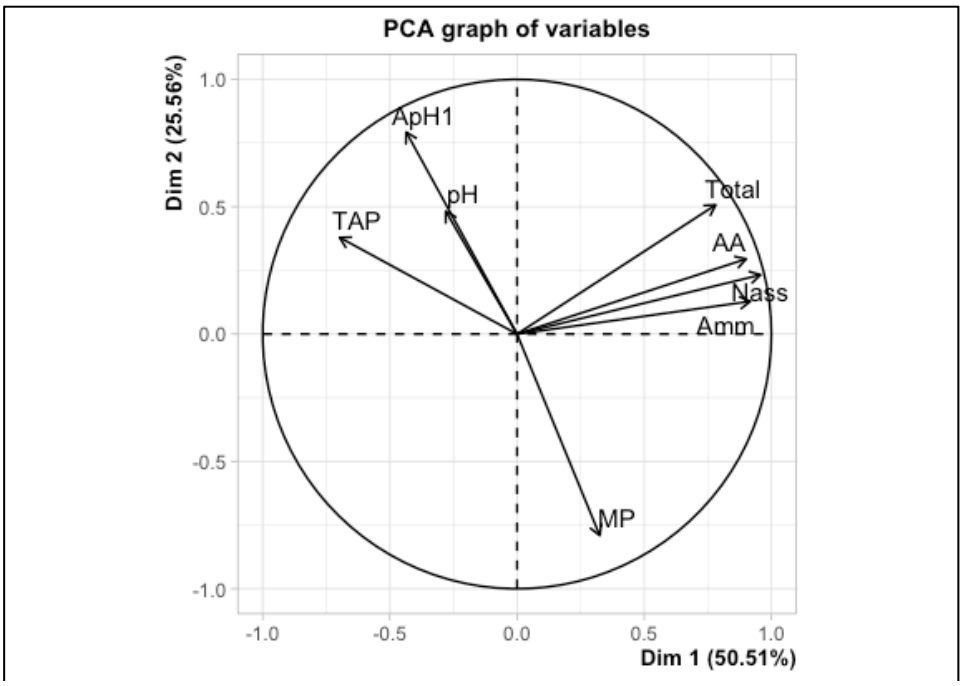


Figure III-2-A-8 : histogramme représentant le poids des axes utilisés pour représenter les données dans l'ACP de la figure III-2-A-1.

L'axe de dimension 1 (axe horizontale) est majoritairement fondé par les variables représentatives de l'état azoté (AA : acides aminés, Nass : azote assimilable, Amm : Ammoniaque) et l'axe de dimension 2 (axe verticale) est basé sur des variables représentant la maturité phénolique.

Or, la variable Total (Sommes des amines biogènes sur raisin) est particulièrement proche de la variable AA (acides aminés). Cela démontre une corrélation forte. Cette déduction ne peut être faite uniquement parce que les flèches des variables sont proches du cercle signe que les variables sont bien représentées dans cet espace. Le coefficient de corrélation de Pearson exact entre la teneur en amines biogènes totale et la teneur en acides aminés est de 0,82 (figure III-2-A-3).

En revanche, les variables liées à la maturité technologique (TAP, pH) et la maturité phénolique (ApH1, MP) se situent à un angle avoisinant les 90° avec les variables de l'état azoté et de la teneur en amines biogènes ce qui s'interprète comme une corrélation nulle.

Les figures III-2-A-4 à III-2-A-6 permettent de visualiser plus simplement la relation entre teneur en putrescine et statut azoté. Il ne sera présenté que le cas de la putrescine dans cette partie car c'est l'amine biogène ayant le plus varié. Les teneurs en tyramine et en cadavérine sur raisins ont été constantes quel que soit la parcelle et donc à fortiori l'état azoté. Ces graphes seront toutefois présentés en annexe (annexe n).

C'est un constat intéressant que l'on peut faire ici : les parcelles présentant une teneur en putrescine supérieure aux autres sont également celles à plus forte concentration en acides aminés. Cette hypothèse déjà proposée dans la bibliographie et notamment dans les travaux de Dandach S. (2013) n'est pas surprenante quand on se rappelle que les acides aminés sont les précurseurs des amines biogènes.

Toutefois, il serait intéressant d'approfondir cette piste et de réaliser un dosage précis des acides aminés et de rechercher une corrélation entre la teneur en aminé précurseur de l'amine biogène et l'amine biogène en question (tableau III-2-A-8). Par exemple, la teneur en putrescine est-elle reliée à la teneur en arginine et ornithine sur raisin ?

Tableau III-2-A-1 : Lien entre acides aminés précurseurs et amines biogènes

Acides aminés	Amine(s) biogène(s) associée(s)
Arginine	Spermidine, Putrescine, Spermine
Histidine	Histamine
Phénylalanine	Phényléthylamine
Ornithine	Putrescine
Tyrosine	Tyramine
Lysine	Cadavérine
Tryptophane	Sérotonine
Cystéine	Mercaptoéthylamine

B – EFFET DE LA SUPPLEMENTATION AZOTEE DES MOUTS

La partie précédente nous montre une relation directe entre teneurs en amines biogènes sur raisin et teneurs en acides aminés. La supplémentation azotée des moûts étant une pratique œnologique courante, il parait cohérent de se questionner sur son impact sur la dynamique de production des amines biogènes. Si nous n'avons pas pu mettre en place une série comparative rigoureuse avec par exemple les mêmes conditions (cépage, cave, process) œnologiques et deux modalités : une avec ajout d'azote organique et l'autre sans, nous avons toutefois observé une dynamique intéressante.

Au cours de cette expérimentation, seulement trois cuves ont reçu une supplémentation azotée. Cet ajout a été sous forme majoritairement organique à dose de 10g/hl. Cette dose n'est pas une dose importante et représente une valeur courante dans les process de vinification.
Les produits utilisés pour les suivants :

- Agrovin Actimax + ® : activateur de fermentation alcoolique formulé à base de phosphate diammonique, levures inactivées et thiamine. C'est donc un nutriment mixte qui apporte à la fois de l'azote organique et de l'azote minéral.
- ICV Fermaid'O ® : activateur de fermentation apportant uniquement de l'azote organique issu de levures inactivées.

L'idée de cette étude n'est en rien de déconseiller l'utilisation d'activateurs de fermentation. Bien au contraire, il est de connaissance commune que ces produits peuvent contribuer à la bonne fermentation des moûts et ainsi éviter toute déviation organoleptique. Toutefois, il reste courant dans la filière de supplémenter de manière protocolaire les cuves et peut être cette pratique a-t-elle des répercussions sur les d'autres paramètres du vin : modification du profil organoleptique par changement des voies métaboliques et quid du surplus d'azote disponible ?

L'utilisation d'un calculateur de besoin azoté peut par exemple être une solution afin d'éviter tout sur-supplémentation. Ces calculateurs prennent en compte la teneur en azote assimilable initiale du moût, les besoins de la levure utilisée, les conditions de fermentation souhaitées (T°C) et les caractéristiques du moût (degré alcoolique, pH).

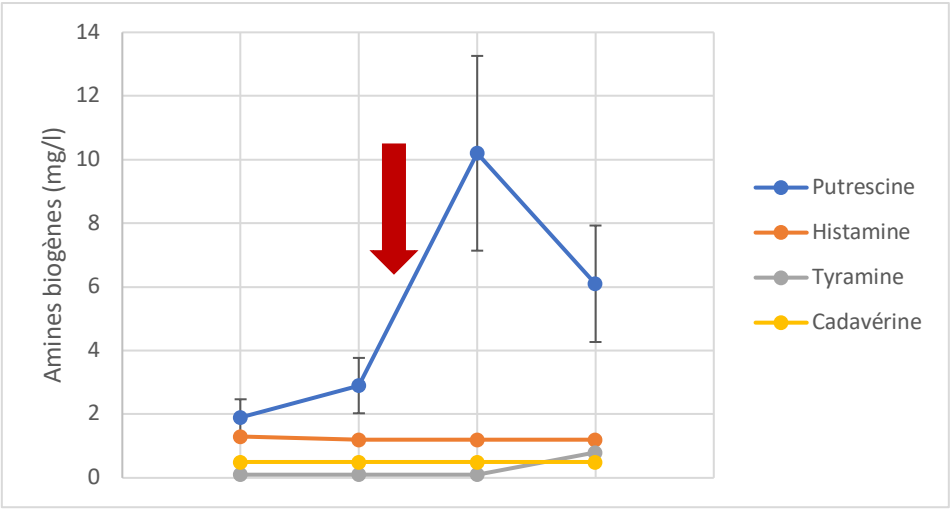


Figure III-2-B-1 : Graphique de l'évolution des teneurs en amines biogènes au cours du process pour la cuve 1543-420. La flèche rouge représente le moment où l'ajout d'azote a été réalisé.

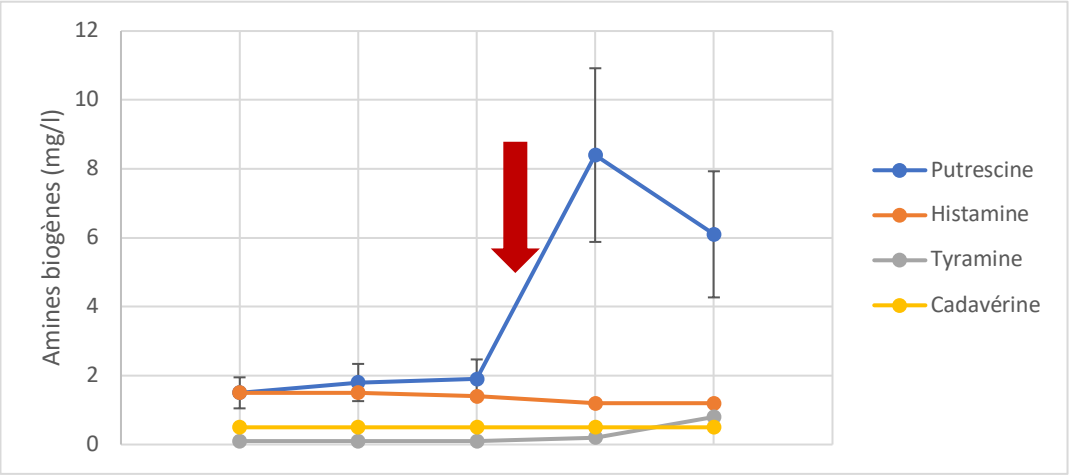


Figure III-2-B-2 : Graphique de l'évolution des teneurs en amines biogènes au cours du process pour la cuve 1543-419. La flèche rouge représente le moment où l'ajout d'azote a été réalisé.

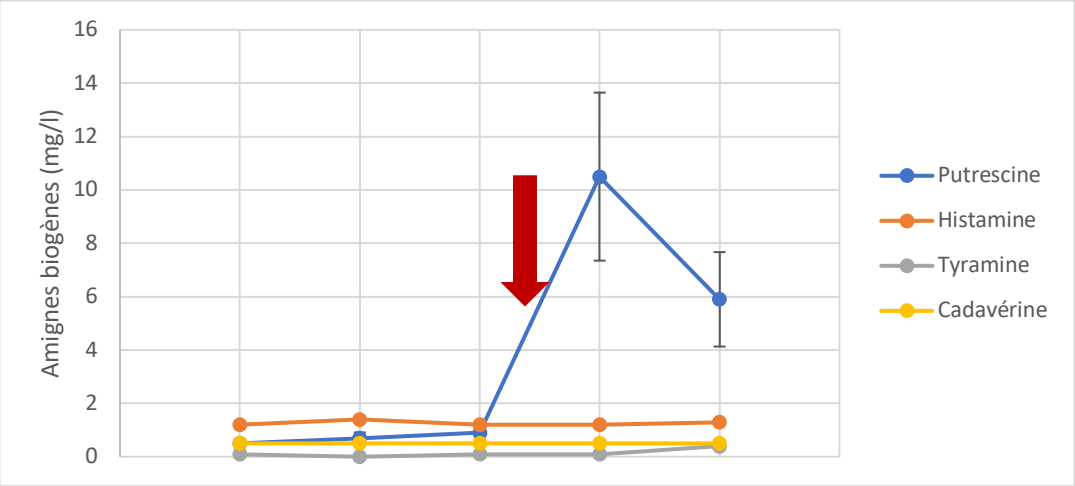


Figure III-2-B-3 : Graphique de l'évolution des teneurs en amines biogènes au cours du process pour la cuve 1946. La flèche rouge représente le moment où l'ajout d'azote a été réalisé.

Les figures III-2-B-1 à III-2-B-3 représentent l'évolution des teneurs en amines biogènes de ces trois cuves. On remarque une forte augmentation de la teneur en putrescine sur les trois graphiques. Or, on se situe avant fin de fermentation alcoolique et ces trois cuves ont été co-inoculées avec des bactéries lactiques sélectionnées. En théorie, on ne devrait donc pas observer un pic de production de cette molécule. De la même façon, suite à cette forte augmentation on observe une diminution de la concentration en putrescine jusqu'à la fin de la fermentation malolactique. Bien que ces deux derniers points soient dans le même intervalle d'incertitude de mesure pour chaque courbe, cette dynamique n'a été observée que sur ces trois cuves là durant l'expérimentation.

Ici, nos constats rejoignent les résultats de Bach B. *et al* (2011) qui ont mis en évidence l'importance d'une bonne gestion de la supplémentation azotée en vue du contrôle des teneurs en amines biogènes. Toutefois, les résultats obtenus dans ces travaux ont été observés avec des doses de supplémentation azotée bien plus importantes (100 g/hl).
Le manque de reproductibilité de nos données ne nous permet pas de conclure sur la relation directe entre la supplémentation azotée et le pic de production de putrescine observé. Même si cette tendance a déjà été évoquée par divers auteurs dans la bibliographie, la problématique des amines biogènes reste un sujet multifactoriel.

2 – INTERET DE LA GESTION DE LA FERMENTATION MALOLACTIQUE

Pour rappel, en 2019 deux protocoles permettant d'étudier l'intérêt d'une co-inoculation en bactéries lactiques par rapport à une inoculation séquentielle classique ont été mis en place sur une cuve de Grenache et une cuve de Syrah.

- Protocole 1 : la modalité en inoculation séquentielle
- Protocole 2 : la modalité en co-inoculation

Ces quatre cuves ont été vinifiées en vinification traditionnelle avec les mêmes ajouts de produits œnologiques (levure ICV Okay ® et bactéries lactiques ICV ICY Alto ® notamment) afin de limiter les biais liés au process de vinification.

Sur le graphique de la figure II-2-1, on observe que quel que soit le cépage et le taux d'amines biogènes de départ le pic de production d'amines biogènes se situe à partir de la fin de la fermentation alcoolique et jusqu'à la fin de la fermentation malolactique pour le protocole 1. C'est la phase de latence critique évoquée dans de nombreuses sources bibliographies et notamment par Garcia-Marino M. *et al*. (2010) dans leurs travaux.
Ce pic est absent pour le protocole 2 dans lequel les cuves ont bénéficié d'une coinoculation. C'est un résultat intéressant : ici la technique de co-inoculation a été très efficace puisqu'elle a supprimé la phase de latence entre fermentation alcoolique et fermentation malolactique. Bien que ce soit l'objectif de la co-inoculation, ce résultat n'est pas toujours observé en fonction des conditions du milieu.

On peut facilement expliquer la différence de teneurs en amines biogènes par la présence des bactéries lactiques ICV Alto ® sélectionnées non productrices d'amines biogènes occupant le milieu et empêchant le développement de bactéries lactiques indigènes qui pourraient produire ces molécules.
Seule la cadavérine échappe à cette dynamique et reste constante durant tout le process de vinification quel que soit le protocole et/ou le cépage. Les graphiques des figures III-2-1 à III-2-8 présentent cette cinétique.

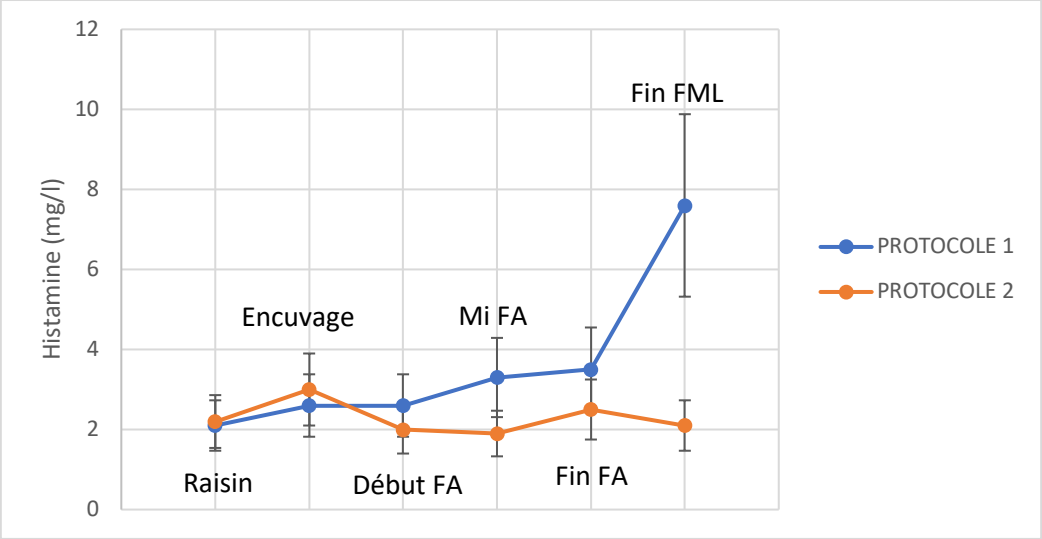


Figure III-2-1 : Graphique montrant l'évolution de la concentration en histamine sur Syrah au cours du process de vinification. La modalité non co-inoculée en bactéries lactiques (protocole 1) est en bleue et la modalité co-inoculée avec des bactéries lactiques (protocole 2) est en orange.

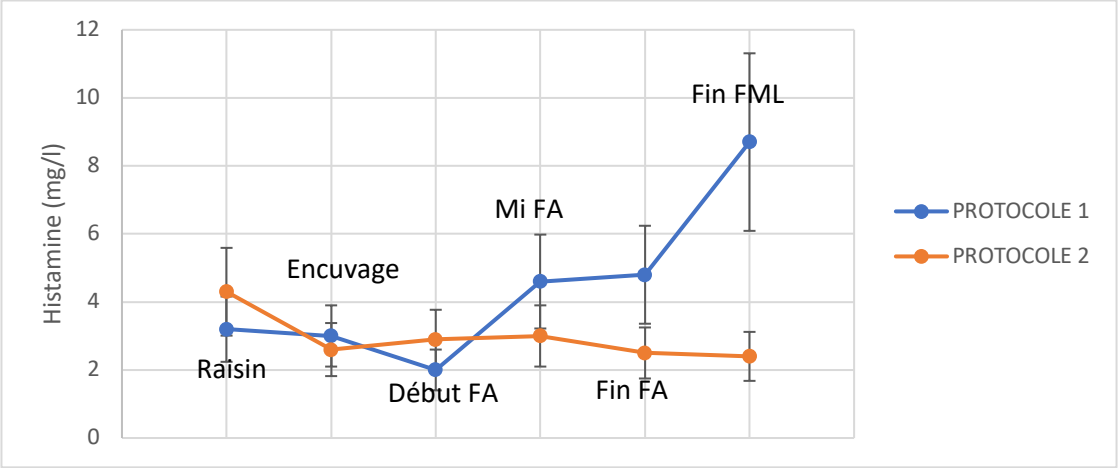


Figure III-2-2 : Graphique montrant l'évolution de la concentration en histamine sur Grenache au cours du process de vinification. La modalité non co-inoculée en bactéries lactiques (protocole 1) est en bleue et la modalité co-inoculée avec des bactéries lactiques (protocole 2) est en orange.

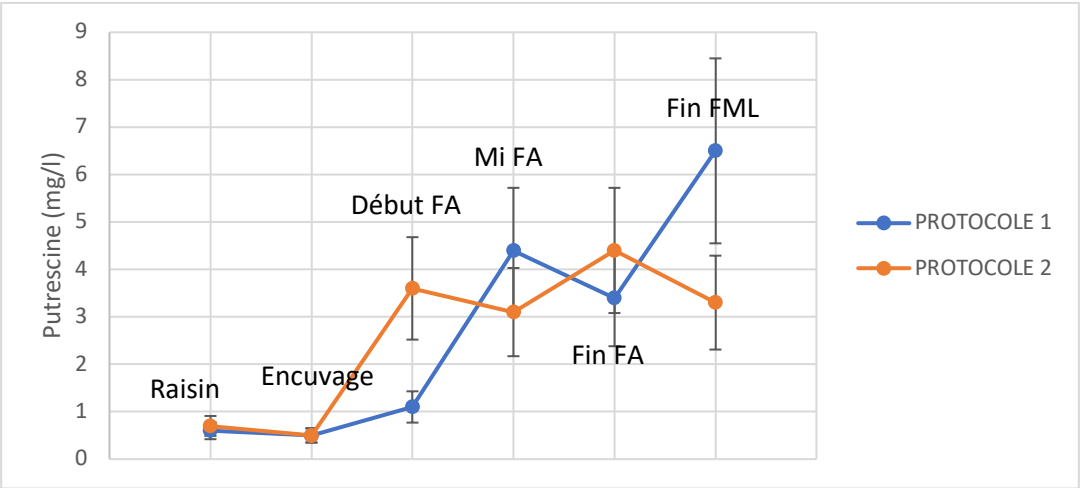


Figure III-2-3 : Graphique montrant l'évolution de la concentration en putrescine sur Syrah au cours du process de vinification. La modalité non co-inoculée en bactéries lactiques (protocole 1) est en bleue et la modalité co-inoculée avec des bactéries lactiques (protocole 2) est en orange.

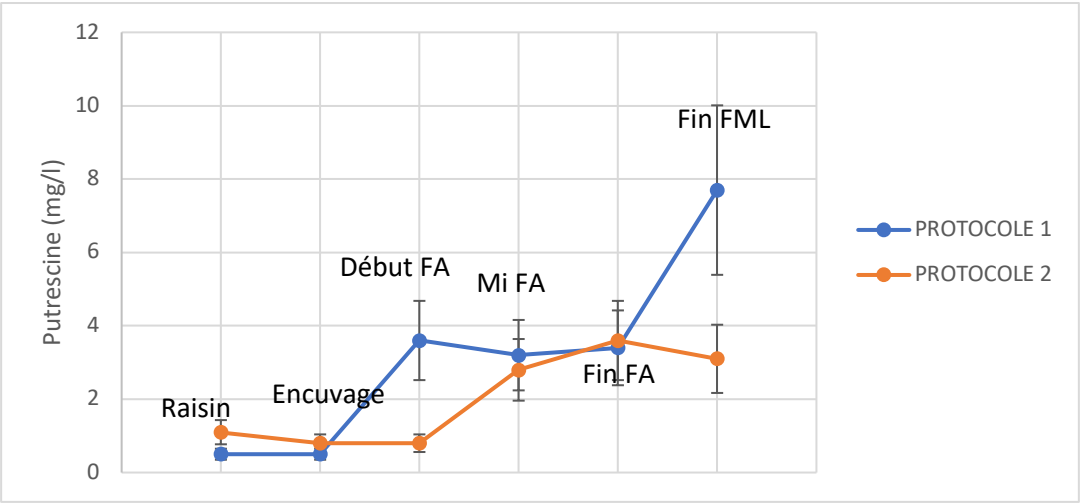


Figure III-2-4 : Graphique montrant l'évolution de la concentration en putrescine sur Grenache au cours du process de vinification. La modalité non co-inoculée en bactéries lactiques (protocole 1) est en bleue et la modalité co-inoculée avec des bactéries lactiques (protocole 2) est en orange.

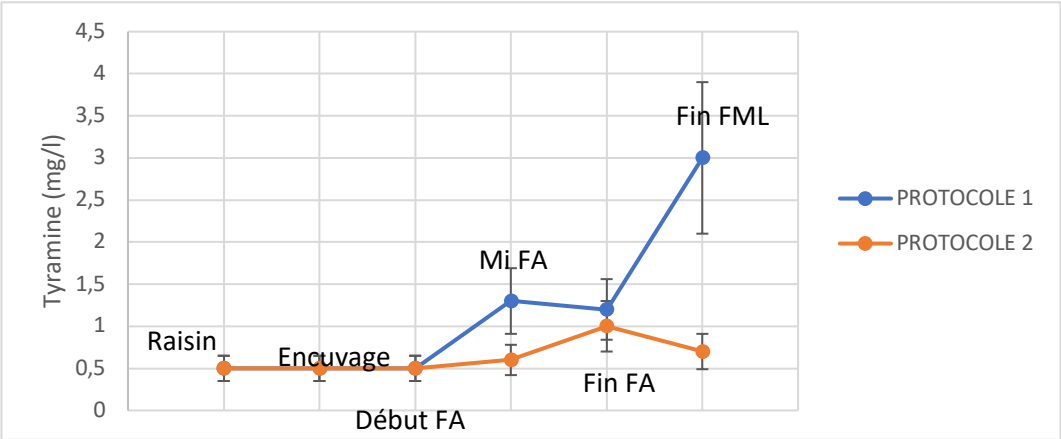


Figure III-2-5 : Graphique montrant l'évolution de la concentration en tyramine sur Syrah au cours du process de vinification. La modalité non co-inoculée en bactéries lactiques (protocole 1) est en bleue et la modalité co-inoculée avec des bactéries lactiques (protocole 2) est en orange.

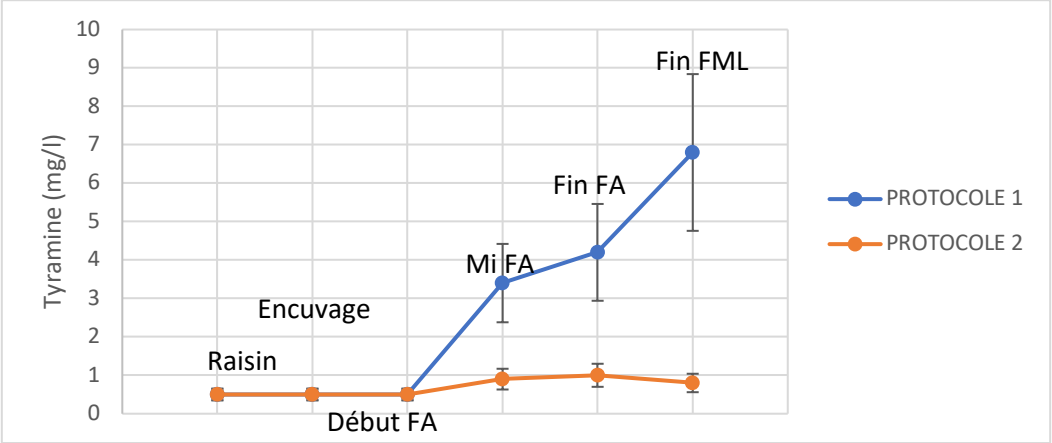


Figure III-2-6 : Graphique montrant l'évolution de la concentration en tyramine sur Grenache au cours du process de vinification. La modalité non co-inoculée en bactéries lactiques (protocole 1) est en bleue et la modalité co-inoculée avec des bactéries lactiques (protocole 2) est en orange.

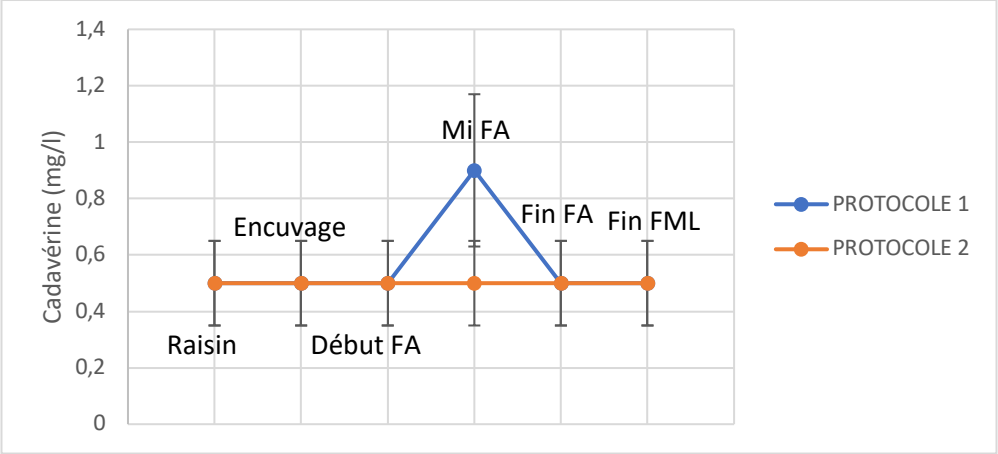


Figure III-2-2 : Graphique montrant l'évolution de la concentration en cadavérine sur Syrah au cours du process de vinification. La modalité non co-inoculée en bactéries lactiques (protocole 1) est en bleue et la modalité co-inoculée avec des bactéries lactiques (protocole 2) est en orange.

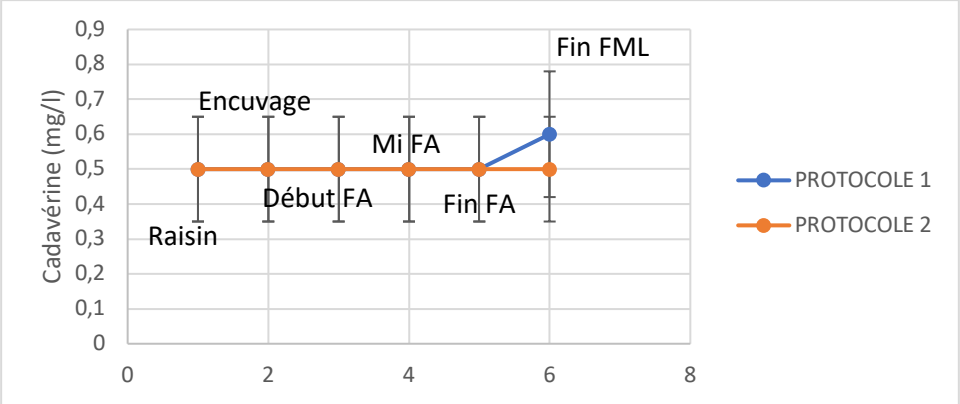


Figure III-2-2 : Graphique montrant l'évolution de la concentration en cadavérine sur Grenache au cours du process de vinification. La modalité non co-inoculée en bactéries lactiques (protocole 1) est en bleue et la modalité co-inoculée avec des bactéries lactiques (protocole 2) est en orange.

3 – INTERET DE LA BIOPROTECTION DES RAISINS

La bibliographie (Dandach S. 2013) a d'ores et déjà établi que les amines biogènes puissent être présentes dès la parcelle. Par conséquent, un second levier pour contrôler la flore microbienne présente sur le raisin est la bioprotection. Cette technique peut être particulièrement intéressante dans le cadre de la production de vins sans sulfites ajoutés. Bénéficiant d'un marché croissant, ce type de vin demande l'utilisation de moyens alternatifs de protection de la vendange puis du moût afin d'éviter toute déviation organoleptique.

Ici, nous verrons donc l'intérêt de cette pratique dans l'objectif de gestion des amines biogènes et en particulier de leurs conséquences organoleptiques. Pour cette partie, ne pourront être comparées que les données obtenues à partir de répétition sur le même cépage (parcelles choisies pour être de qualité très proches) dans les mêmes caves appliquant un process de vinification identique pour chaque modalité. Nous avons pu mettre en place deux séries de ce type : une sur Syrah en Côtes-du-Rhône et une sur Merlot du Sud du Gard. On rappellera que l'ensemble des vins sont vinifiés sans sulfites ajoutés.

Le tableau III-3-1 récapitule le plan d'expérimentation utilisé pour étudier l'intérêt de la bioprotection dans cette problématique. Les ajouts de produits œnologiques ont été standardisés afin d'éviter de rajouter des biais à cette expérimentation. Les fiches techniques de ces produits sont jointes aux annexes de ce mémoire.

Tableau III-3-1 : Descriptif des échantillons pour l'étude de l'intérêt de la bioprotection.

Code dégustation	Modalité de bioprotection	Cépage	Levure utilisée pour levurage en cuve	Bactéries lactiques inoculées	Secteur
1783	ICV Okay ®	Syrah	ICV Okay ®	ICV Alto ICY ®	CDR Gardoises
1342	ICV Nymphéa ®	Syrah	ICV Okay ®	ICV Alto ICY ®	
1542	ICV Okay ®	Syrah	ICV Okay ®	ICV Alto ICY ®	
1644	ICV Okay ®	Merlot	ICV Okay ®	ICV MLPrime ®	Sud du Gard
1093	ICV Nymphéa ®	Merlot	ICV Okay ®	ICV MLPrime ®	
1287	Aucune	Merlot	ICV Okay ®	ICV MLPrime ®	

Deux types de bioprotection ont été testés. Un levurage à la parcelle avec la même levure utilisée en cuve par la suite (dans notre cas la levure ICV Okay ®) et l'utilisation d'une levure non-Saccharomyces : ICV Nymphéa ®. Cette dernière est une *Torulaspora delbrueckii* à faible capacité fermentaire. Bien que capable de fermenter jusqu'à 8-9 degrés alcooliques selon les conditions, dans cette situation son rôle n'est pas la métabolisation des sucres mais son implémentation sur le raisin permet d'occuper l'espace et d'augmenter la compétition envers la flore endogène. Associé à un levurage en cuve elle permet également une meilleure implantation des Saccharomyces.

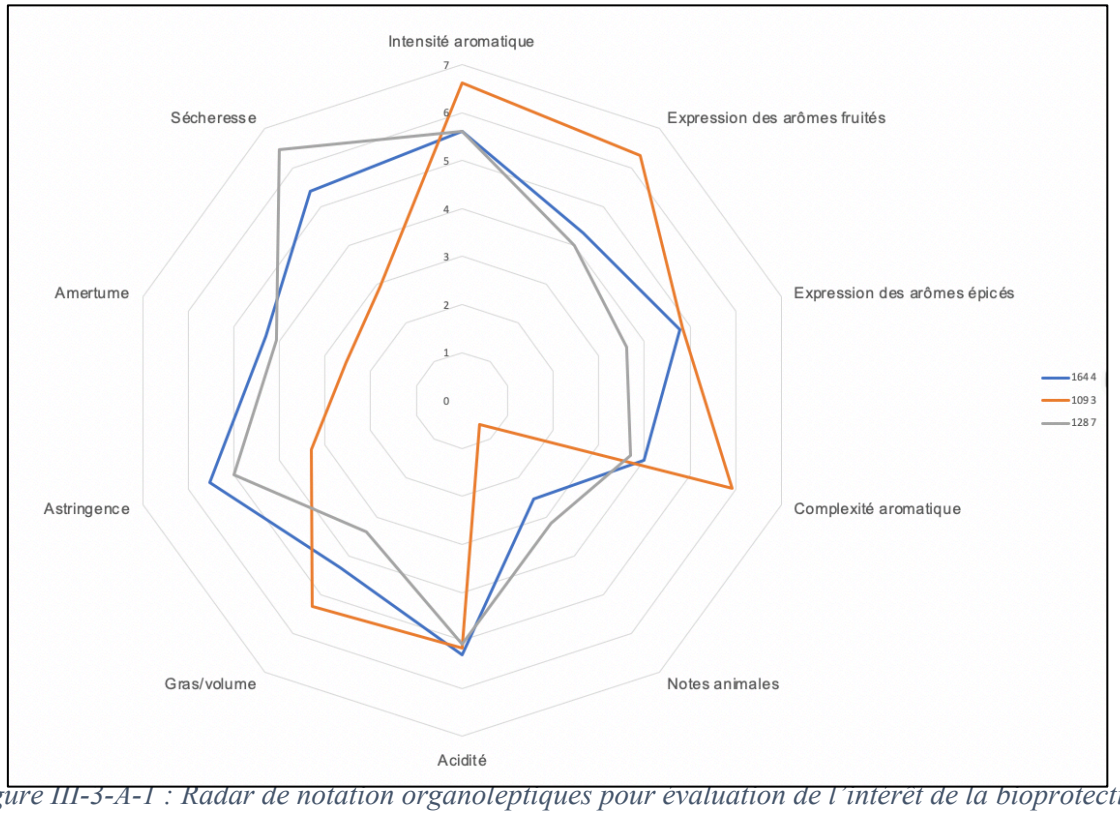


Figure III-3-A-1 : Radar de notation organoleptiques pour évaluation de l'intérêt de la bioprotection des raisins - Merlot. EN ORANGE : L'ECHANTILLON BIOPROTEGE PAR ICV NYMPHEA ®. EN GRIS : LE TEMOIN NON BIOPROTEGE. EN BLEU : L'ECHANTILLON BIOPROTEGE PAR ICV OKAY ®

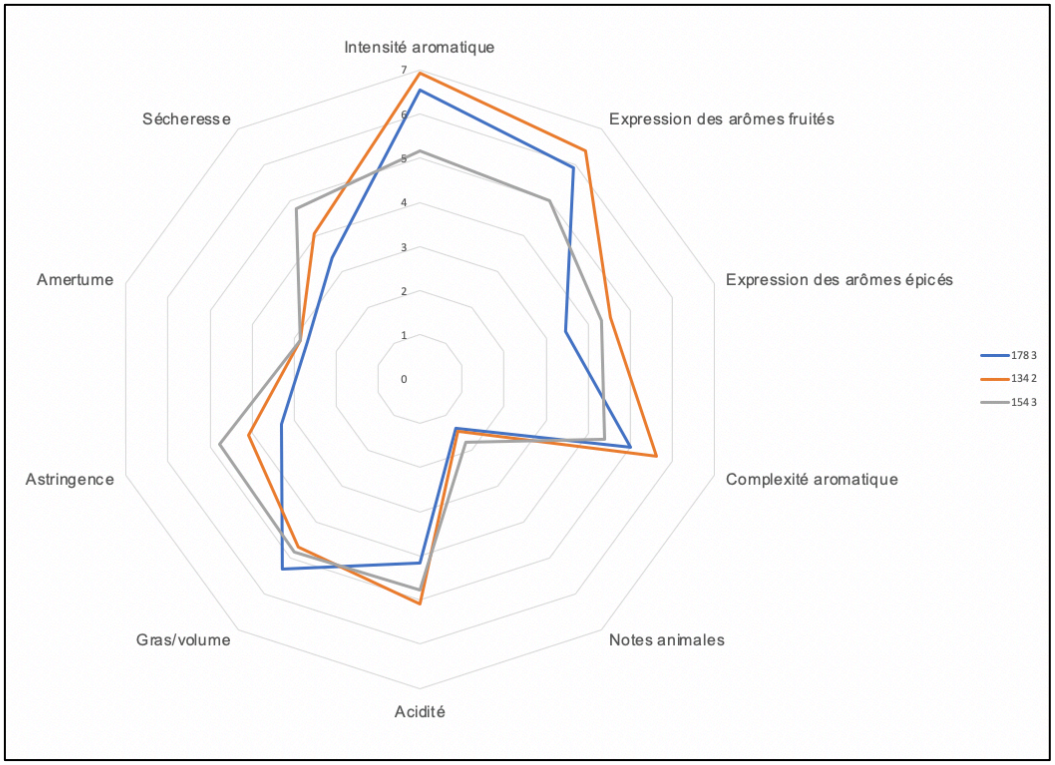


Figure III-3-A-2 : Radar de notation organoleptiques pour évaluation de l'intérêt de la bioprotection des raisins - Syrah. EN ORANGE : L'ECHANTILLON BIOPROTEGE PAR ICV NYMPHEA ®. EN GRIS : LE TEMOIN NON BIOPROTEGE. EN BLEU : L'ECHANTILLON BIOPROTEGE PAR ICV OKAY

A – IMPACT SENSORIEL DE LA BIOPROTECTION DES RAISINS

L'évaluation de l'impact sensoriel de l'utilisation de techniques de bioprotection sur raisin a été possible à partir des données obtenues après la dégustation des échantillons vins finis des cuves suivies pendant l'expérimentation 2020. On rappellera ici que même si par souci visuel, les graphiques présentés se basent sur des moyennes de notes, les différences évoquées dans le texte de ce mémoire ont été testées statistiquement grâce au programme informatique précédemment joint (figure II-3-B-3) et que les p-values associées à ce test statistique sont disponibles en annexe pour chaque critère organoleptique. Une documentation sur le test de Kruskal-Wallis est également consultable sur le site XlStats.

Les radars présentés en figure III-3-A-1 et en figure III-3-A-2 montrent une réelle différence de perception sensorielle sur ces échantillons.
En effet, sur la figure III-3-A-1, on remarque que la modalité 1287 (sans bioprotection) est perçue plus sèche, moins grasse et avec des notes animales plus intenses alors que la modalité 1093 (protection avec *Torulaspora delbrueckii*) se détache des deux autres avec une intensité et une complexité aromatique perçues plus importantes associées à une sécheresse, astringence et amertume notées de manière plus basse par le jury.

Sur la figure III-3-A-2, c'est à nouveau sur l'intensité aromatique, l'expression des arômes fruités et la complexité aromatique que l'échantillon 1342 (modalité protection avec *Torulaspora delbrueckii*) se différencie des deux autres échantillons.
De plus, l'échantillon 1287 (sans bioprotection) a été décrit comme comportant des défauts (3 jurys ont cité un défaut « éthanal », 4 jurys ont perçu une acidité volatile trop importante, 3 jurys ont trouvé un « gout de souris » et 2 autres ont perçus des éthyles phénols signe de présence de *Brettanomyces*) alors qu'aucun défaut n'a été cité pour les autres échantillons de la série (tous deux bioprotégés).

La bioprotection semble donc être associée à une perception organoleptique positive sur vin fini. Cette observation est souvent mise en avant par différentes études réalisées pour la promotion d'un produit œnologique de bioprotection et se vérifie dans nos travaux.

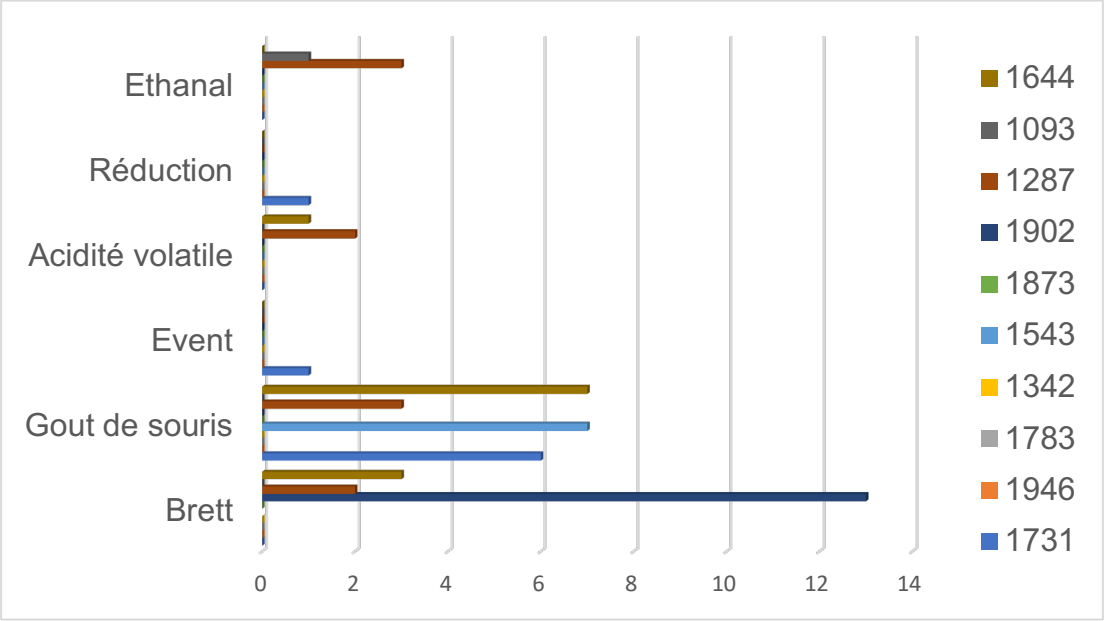


Figure III-3-A-3 : Histogramme de citations de défauts pour chaque échantillon lors de la dégustation.

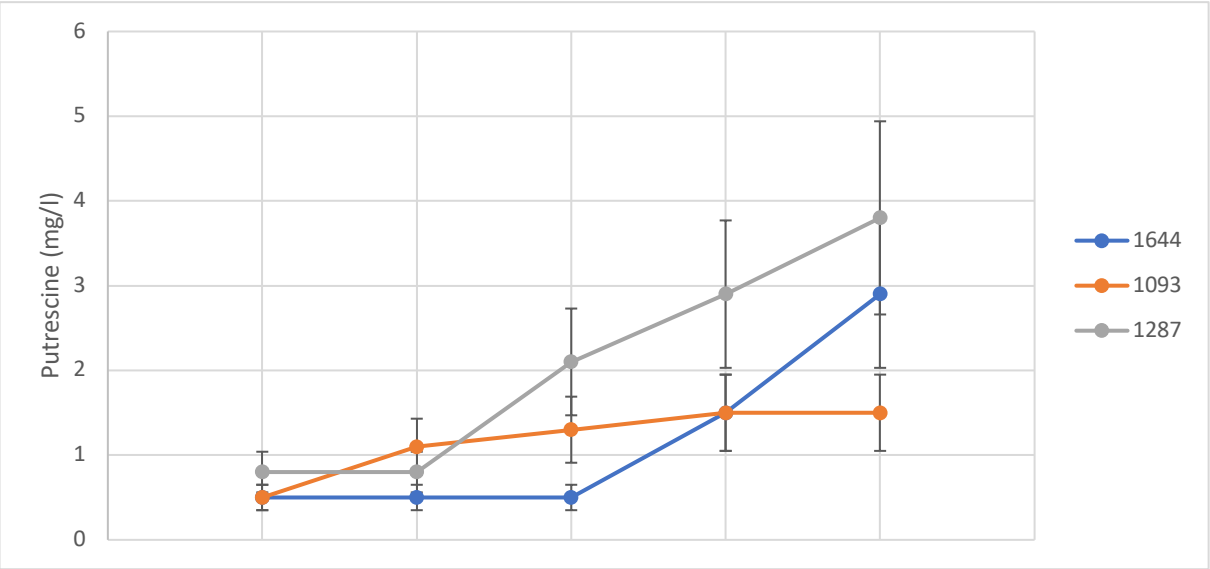


Figure III-3-B-1 : Graphique de l'évolution de la concentration en putrescine au cours du process de vinification. En bleu : la modalité Merlot 1644 bioprotégé avec ICV Okay ®. En orange : la modalité Merlot 1093 bioprotégée avec ICV Nymphéa ®. En gris : la modalité Merlot 1287 non bioprotégée.

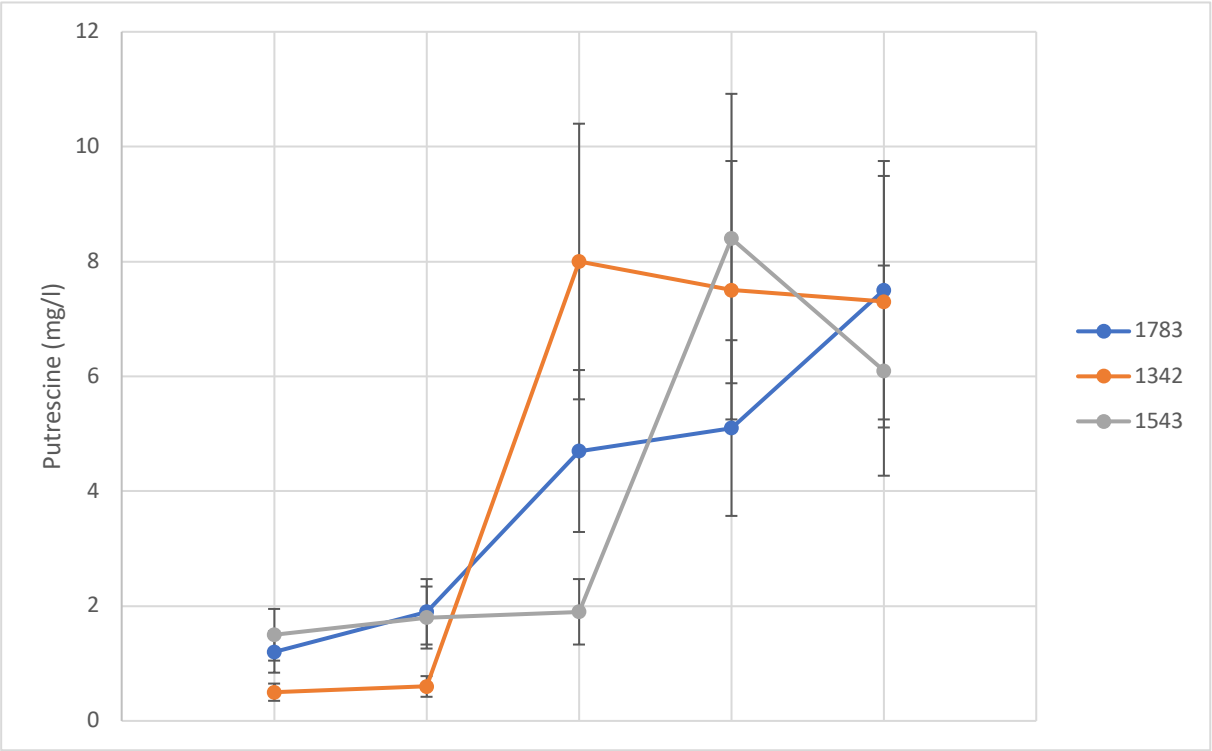


Figure III-3-B-2 : : Graphique de l'évolution de la concentration en putrescine au cours du process de vinification. En bleu : la modalité Syrah 1783 bioprotégé avec ICV Okay ®. En orange : la modalité Syrah 1342 bioprotégée avec ICV Nymphéa ®. En gris : la modalité Syrah 1543 bioprotégée avec ICV Okay ®.

B – EFFICACITE DE LA BIOPROTECTION POUR LIMITER LES TENEURS EN AMINES BIOGENES

Si nous avons montré dans la partie précédente que la bioprotection semblait améliorer la perception sensorielle des vins, son efficacité quant à la réduction des teneurs en amines biogènes reste à prouver dans des travaux futurs.

La figure III-3-B-1 montre que les Merlot ayant été protégés à la parcelle avec ICV Okay ® ou ICV Nymphéa ® présentent une concentration post fermentation malolactique inférieure à la cuve de Merlot n'ayant pas bénéficié de bioprotection. Toutefois, la figure III-3-B-2 ne permet pas d'observer de différences entre une bioprotection avec une levure *Saccharomyces cerevisiae* (ICV Okay ®) et une *T. delbrueckii*) (ICV Nymphéa ®).
De plus, les teneurs obtenues (de 1,5 à 4 mg/l pour les Merlot et de 6 à 7,5 pour les Syrah) ne sont pas comparables entre cépages mais restent très élevées pour les valeurs sur Syrah. La bioprotection n'a pas suffi pour limiter cette production de putrescine.

En effet, les graphiques présentés ne concernent que la putrescine. Or si on ajoute les concentrations en histamine, tyramine et cadavérine on arrive facilement à une teneur en amines biogènes supérieure à 10 mg/l ce qui n'est pas neutre en termes de conséquences organoleptiques.

La bioprotection reste, en théorie, une technique prometteuse pour le contrôle de la flore présente sur raisin, surtout dans le cas de production de vins sans sulfites ajoutés. L'ajout de levures (*Saccharomyces* ou non) non productrices d'amines biogènes peut permettre de favoriser l'implémentation des levures après encuvage mais également limiter la prolifération de bactéries lactiques indigènes non désirées. Autant de facteurs qui permettent de comprendre la potentielle action de la bioprotection sur les teneurs en amines biogènes.

Cependant, les résultats obtenus dans ce mémoire ne permettent pas de confirmer cette hypothèse. On peut se demander si la mise en place de cette pratique au moment de la vendange intervient peut-être trop tard dans le processus puisque les analyses d'amines biogènes sur raisin révèlent déjà une production de ces molécules.

4 – IMPACT ORGANOLEPTIQUES DES AMINES BIOGENES DANS LES VINS

Outre l'enjeu sanitaire, le contrôle des teneurs en amines biogènes constitue un véritable levier œnologique pour la production de vin de qualité. La dégustation des échantillons des cuves suivies pendant l'expérimentation 2020 avait pour but de qualifier l'impact des concentrations en amines biogènes sur différents critères organoleptiques. La base de données constituée suite à cette dégustation grâce aux notes des jurys a servi de support à une analyse par composantes principales.

Pour étudier l'impact des amines biogènes sur ces critères organoleptiques, nous avons ajouté la variable Amines biogènes égale à la somme des concentrations des quatre amines biogènes principales (histamine, putrescine, tyramine, cadavérine) obtenues après dosage. Le cercle des corrélations résultant de cette ACP (Figure III-3-A-4) nous montre que globalement, une augmentation de la teneur en amines biogènes du vin est associée à une augmentation de la sensation d'astringence/sécheresse et une réduction de l'expression des arômes fruités, de la complexité aromatique et du volume en bouche.

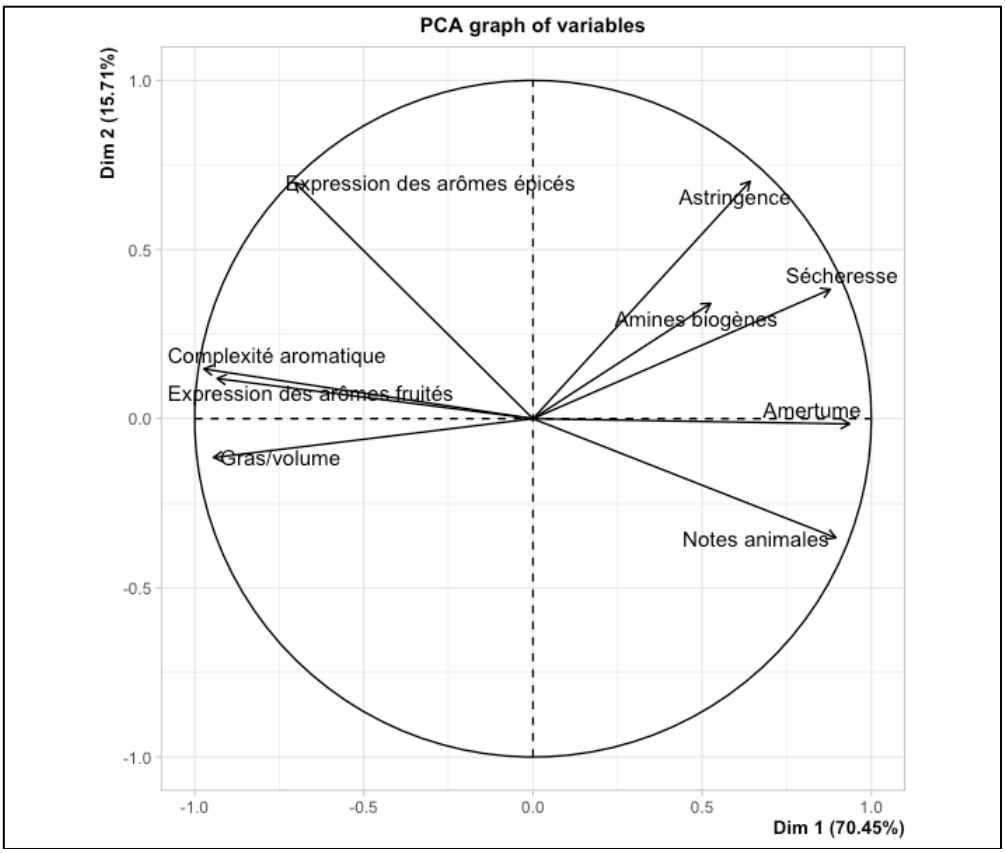


Figure III-3-A-4 : Cercle des corrélations des variables de dégustation et des amines biogènes totales. Graphique obtenu à partir de Rstudio.

Toutefois, si l'analyse effectuée explique plus de 85% de la variabilité de nos données, il est à noter que la variable Amines biogènes (somme des quatre amines biogènes principales) est moins bien représentée que les autres variables dans cette projection. Cela reste tout à fait compréhensible puisque la base de données contient majoritairement des notes de dégustation et seulement une variable analytique « amines biogènes » qui correspond au résultat d'un dosage. Ainsi, les axes permettant de représenter les variables sont eux-mêmes majoritairement fondés sur les notes de dégustation. Malgré cela, le faible angle présent entre la variable Amines biogènes et celles évoquées précédemment permet tout de même de conclure à une corrélation.

Ces résultats vont dans le sens de ceux obtenus par Delphine Thieblemont (2017) qui avait réalisé une étude de perception des amines biogènes sur des vins auxquelles elle avait ajouté manuellement une quantité donnée d'amines biogènes.
De la même façon que dans nos résultats, un ajout de 2mg/l de putrescine au vin témoin s'accompagnait d'une augmentation de la sensation de sécheresse, de l'astringence ainsi que réduction des notes aromatiques fruitées.

C – Discussion et critiques

Le contexte de production dans laquelle a été réalisé cette étude n'a pas permis de mettre en place des séries comparatives répétées pour chaque axe étudié dans ce mémoire.
Ainsi, pour analyser uniquement l'impact d'un facteur sur les teneurs en amines biogènes, il aurait fallu fixer l'ensemble des autres paramètres.
Par exemple, pour étudier l'impact de l'ajout de nutriments azotés, on aurait pu réaliser une série de plusieurs cuves de même cépage et de même parcelle, vinifié exactement avec le même process et les mêmes ajouts.
Toutefois, nous avons privilégié un axe plus accessible et moins contraignant pour nos clients. En effet, les microvinifications en division de parcelle sont difficiles à mettre en place en conditions de production et demande d'instaurer une logistique très chronophage.
De plus, afin de tirer des conclusions plus solides, notamment sur les teneurs en fonction du cépage il aurait été intéressant de suivre beaucoup plus de parcelles durant cette expérimentation. Le manque de répétitions reste un point faible de ce mémoire.

Un autre point important est le fait que nous nous sommes principalement intéressés aux vins rouges. Ce choix se justifie par le fait que ceux-ci sont plus sujets aux fortes teneurs en amines biogènes puisqu'il a été établi que ces molécules sont principalement produites par les bactéries lactiques. La majorité des vins blancs et rosés de la région du Languedoc-Roussillon ne réalisant pas la fermentation malolactique nous les avons considérés moins à risque. Pourtant, nous avons vu que certaines de nos cuves ont connu des pics de production durant la phase de fermentation alcoolique. De plus, les vins blancs et rosés subissent souvent une clarification bien plus sévère qui est compensée par des ajouts nutritifs sur moût bien plus importants.
Par conséquent, il semble intéressant dans le futur d'inclure ces couleurs de vin et leurs process dans l'étude de cette problématique : ces vins pouvant être associés à un élevage favorisant l'augmentation des concentrations en amines biogènes tel que l'élevage sur lies par exemple.

Dans ce mémoire, nous n'avons pas pu étudier l'évolution des teneurs en amines biogènes durant l'élevage/vieillissement or la littérature nous indique que celles-ci peuvent tripler après la fermentation alcoolique.
C'est un autre point qu'il faut garder en tête suite aux résultats énoncés dans ce mémoire. Les teneurs évoquées sur « vin fini » sont sur des vins juste après fermentation malolactique, ni filtrés, ni élevés, ni mis en bouteille.

Bien que conscients du temps nécessaire pour une telle étude, il serait intéressant de suivre l'évolution des teneurs en amines biogènes jusqu'au vieillissement en bouteille.

Ainsi, ce travail est à prendre pour ce qu'il est, c'est-à-dire un état des lieux des principaux facteurs impactant les teneurs en amines biogènes sur raisin, dans les moûts et les vins rouges. Ces facteurs étant inspirés d'études plus éloignées de la production et avec un axe de travail plus orienté recherche, il est intéressant de regarder ce qu'on retrouve en contexte de production dans la filière.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les résultats des travaux entrepris pour ce mémoire nous montrent une chose : la problématique de gestion des amines biogènes est complexe et plurifactorielle.
Nous avons pu montrer qu'outre l'enjeu sanitaire de réglementation agroalimentaire, limiter la teneur en amines biogènes des vins constituent un véritable défi œnologique afin de produire des vins toujours plus qualitatifs. Or, différents facteurs influençant cette dynamique ont été mis en évidence dans ce mémoire.

Premièrement, il apparait clairement que les premiers paramètres conditionnant la production de ces molécules se trouvent dès le vignoble. En effet, nos résultats nous montrent que les teneurs en amines biogènes sont fonction du cépage, du millésime mais également du statut azoté de la vigne. Ce dernier point n'est pas anodin et permet de proposer des pistes d'études futures. Par exemple, quel serait alors l'effet des pulvérisations d'azote foliaire se généralisant post-véraison ?

Deuxièmement, nous savons que le paramètre impactant le plus quantitativement sur les teneurs en amines biogènes des vins finis est le contrôle de la flore microbienne indigène. Dans ce mémoire, il a été clairement établi que la co-inoculation est une technique extrêmement efficace pour cela. En outre, les résultats obtenus sont encore meilleurs que ceux publiés dans la bibliographie avec une inoculation séquentielle en bactéries lactiques. La phase de latence entre fermentation alcoolique et fermentation malolactique est la phase critique à contrôler.
Toutefois, même en utilisant la méthode de co-inoculation, les teneurs en amines biogènes peuvent être déjà trop élevées si on envisage des réglementations très sévères dans la filière.

Ainsi, la bioprotection parait être une méthode complémentaire intéressante puisque dans notre expérimentation elle est associée à une perception sensorielle positive des vins. Cependant, nous n'avons pas pu vérifier sur deux séries sa capacité à limiter les concentrations en amines biogènes. Des travaux plus précis de recherche sur ce sujet pourraient être intéressants pour approfondir ce sujet.

Enfin, la problématique des amines biogènes soulève une vision holistique de la vinification. En effet, si les teneurs observées dans ce mémoire ne permettent pas de définir un réel danger pour la santé humaine, elles ne sont toutefois pas anodines pour la qualité organoleptique des produits. Les pratiques d'ajouts œnologiques se sont généralisées dans la filière viti-vinicole et ne sont pas toujours sans conséquences. Si l'on sait d'ores et déjà que les teneurs en certains nutriments (azote, lipides) peuvent orienter les voies métaboliques des levures et donc les profils organoleptiques des vins produits, on le vérifie à nouveau ici avec le sujet des amines biogènes. Pourtant, ces ajouts sont aussi souvent un moyen d'assurer un bon déroulement de la fermentation et d'éviter l'apparition de déviation.

En conclusion, il ne s'agit pas retenir une pratique ou un facteur comme responsable des teneurs en amines biogènes dans les vins mais de proposer ici une vision holistique du sujet. Dans un contexte de réchauffement climatique où les conditions de culture de la vigne et de vinification des moûts peuvent être plus difficiles (fort degré alcoolique, pH) et favorables au développement de flores d'altération, il faut raisonner chaque décision prise pour le process que ce soit pour la méthode de vinification (la thermovinification pouvant constituer un moyen de réduire les teneurs alors que les macérations sont plus à risque), les méthodes de protection (sulfites, bioprotection, co-inoculation,…) ou les ajouts de produits œnologiques (azote organique, DAP, …) en conscience de leurs intérêts et de leurs risques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aerny, J. 1985. Origin of histamine in wines. *Bulletin de l'OIV*, 58(656-657): 1016-1019.
- Alcaide-Hidalgo J. M., Moreno-Arribas M. V., Martin-Alvarez P. J., Polo M. C., Influence of malolactic fermentation, postfermentative treatments and ageing with lees on nitrogen compounds of red wines, 2007*, Food Chemistry*, 103: 572-581.
- Ali, R. S., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Res. Int. 29, 675–690.
- ANSES, Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments/ Histamine, Avril 2012.
- Arena M.E., Manca de Nadra M.C., Influence of ethanol and low pH on arginine and citrulline metabolism in lactic acid bacteria from wine, 2005, *Research in Microbiology*, 156: 858-864.
- Bach *B et al*., 2011, Amines biogènes des vins : effet de la supplémentation azotée durant la fermentation alcoolique*, Inter-Rhône,* projet BIAMFOOD.
- Bonnin-Jusserand M., 2011, Etude du métabolisme des amines biogènes chez les bactéries lactiques du vin. *Thèse de doctorat de l'Institut Universitaire de la Vigne et du Vin Jules Guyot Laboratoire de Recherche en Vigne et Vin (ReVV), Université de Bourgogne*. 194p.
- Capozzi et al., 2012, Biogenic amines degradation by Lactobacillus plantarum: toward a potential application in wine. Frontiers in Microbiology - *Food Microbiology*, Volume 3, Article 122.
- Charpentier C. & Feuillat M., Yeast autolysis, 1993, Wine Microbiology and Biotechnology (Fleet GH, ed), pp. 225-242. *Harwood Academic Publishers*, Chur, Switzerland.
- Dalgaard P, Emborg J, Kjolby A, Sorensen N and Ballin N, 2008. Histamine and biogenic amines - formation and importance in seafood. In: Improving seafood products for the consumer. Borrensen T, ed. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK.
- Dandach S. 2013. Rôle des acides aminés dans la production d'amines biogènes chez Oenococcus oeni. *Thèse de doctorat de l'Institut Universitaire de la Vigne et du Vin Jules Guyot Laboratoire de Recherche en Vigne et Vin (ReVV), Université de Bourgogne.* 175p.
- Delphine Thieblemont, 2017 Impact des amines biogènes sur la perception sensorielle des vins, *Bachelor of Science en Œnologie*, HES 13-16
- Dumoulin M., Barthas S., 2009. Amines biogènes dans les vins : ce qu'il faut savoir. *Revue des Oenologues* 133 HS, 24-25.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal* 2011;9(10):2393
- Farias, M.E., Manca de Nadra, M.C., Rollan, G.C., et Strasser de Saad, A.M. (1993). Histidine decarboxylase activity in lactic acid bacteria from wine. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin,* 27(3) : 191-199.
- Filipe-Ribeiro *et al*., 2019, Biogenic amines and polyamines in wines: Does Dekkera/Brettanomyces red wine spoilage increases the risk of intake by consumers?, *LWT - Food Science and Technology* 115 108488.
- Garcia-Marino M., Trigueros A., Escribano-Bailon T., Influence of oenological practices on the formation of biogenic amines in quality red wines, 2010, *Journal of Food Composition and Analysis*, 23: 455-462.
- Garcia-Moruno, E., et Munoz, R. (2012). Does Oenococcus oeni produce histamine? *International Journal of Food Microbiology*, 157: 121-129.

- Gardini F, Zaccarelli A, Belletti N, Faustini F, Cavazza A, Martuscelli M, Mastrocola D & Suzzi G (2005) Factors influencing biogenic amine production by a strain of *Oenoccocus oeni* in a model system. *Food Control* **16**: 609-616.
- Gerbaux, V., et Monamy C. (2000). Les amines biogènes dans les vins de Bourgogne - 1ère partie : Teneurs, origine et maîtrise dans les vins. *Revue Française d'Œnologie*, 183: 25-28.
- González Marco, A., et Ancín Azpilicueta, C. (2006). Amine concentrations in wine stored in bottles at different temperatures. *Food Chemistry*, 99(4): 680-685.
- Granchi, L., Romano, P., Mangani, S., Guerrini, S., et Vincenzini, M. (2005). Production of biogenic amines by wine microorganisms. *Bulletin de l'OIV*, 78(895-896): 595-610.
- Guerrini, S., Mangani, S., Granchi, L., et Vincenzini, M. (2002). Biogenic amine production by *Oenococcus oeni*. *Current Microbiology*, 44: 374-378.
- Guttart, A., Hernandez-Orte, P., et Cacho, J. (1997). Effects of maceration on the amino acid content of chardonnay musts and wines. *Vitis*, 36(1): 43-47.
- Hernández-Orte P *et al*., 2008. Biogenic amine determination in wine fermented in oak barrels: Factors affecting formation. *Food*. Res. Int. **41**, 697-706.
- Konings W.N., J.S. Lolkema, H. Bolhuis, H.W. van Veen, B. Poolman and A.J.M. Driessen. The role of transport processes in survival of lactic acid bacteria, 1997, Antonie van Leeuwenhoek, 71: 117-128.
- Lonvaud-Funel A & Joyeux A (1994) Histamine production by wine lactic acid bacteria: isolation of a histamine-producing strain of *Leuconostoc oenos*. *Journal of Applied Microbiology* **77**: 401-407.
- Maintz L and Novak N, 2007. Histamine and histamine intolerance. *American J. Clin. Nutrit*. 85, 5, 1185-1196.
- Marques AP, Leitao MC, San Romao MV (2008) Biogenic amines in wines: influence of oenological factors. *Food Chemistry* **107**: 853-860.
- Martín-Álvarez, P.J., Marcobal, Á., Polo, C., et Moreno-Arribas, M.V. (2006). Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. *European Food Research and Technology*, 222(3): 420-424.
- Moreno-Arribas M.V., Polo M.C., 2009. Amino Acids and Biogenic Amines. *Wine Chem. Biochem*. **6A**, 163-189.
- Paik Jung, H. Y. & Bieldanes, L. 1979. Effects of cadaverine on histamine transport and metabolism in isolated gut sections of the guinea-pig. *Food Cosmet. Toxicol.* **17**, 629–632.
- P. M. Izquierdo Canas *et al*., 2009, Biogenic Amine Production by Oenococcus oeni Isolates from Malolactic Fermentation of Tempranillo Wine, *Journal of Food Protection*, Vol. 72, No. 4, Pages 907–910

ANNEXES

ANNEXE 1 : FICHE TECHNIQUE ICV OKAY ®

GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

PRODUIT ŒNOLOGIQUE
Levures

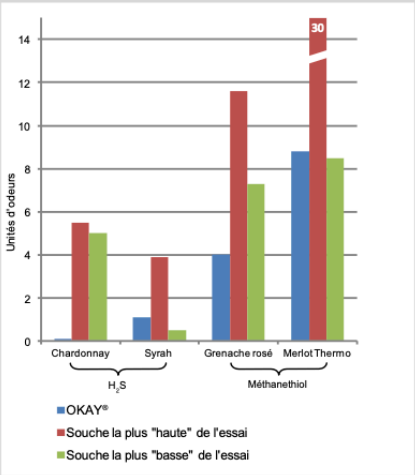
LALVIN ICV OKAY®

NOUVEAU !

Une nouvelle génération de levure
pour répondre aux exigences modernes des marchés

Sur certains marchés, vos vins doivent être prêts tôt ; que ce soit pour être présentés à vos acheteurs, ou pour être conditionnés rapidement. La régularité des profils analytiques et gustatifs est alors un atout majeur : absence d'odeurs soufrées, faible acidité volatile, faible teneur en SO_2 total. Votre réussite commerciale dépend, en grande partie, du choix de la levure.
Résultat d'un travail collaboratif entre le Groupe ICV, Lallemand, SupAgro et l'INRA, la levure ICV OKAY® a été sélectionnée spécifiquement pour sa capacité à répondre à toutes ces exigences.

Dosage de composés soufrés négatifs
Essais comparatifs sur 4 matières premières
ICV R&D 2012



Pourquoi choisir OKAY® ?

Pour répondre aux exigences des acheteurs et des consommateurs

Les plus qui font la différence : **très faibles productions de SO_2 et de composés soufrés négatifs**.

Le résultat : un style fermentaire amylique dominant et un équilibre en bouche caractérisé par une sensation élevée de **volume**, du **fruité** et une **faible sécheresse**.

Autre avantage de ICV OKAY® : sa **très faible production d'éthanal** vous permet de stabiliser vos vins blancs ou rosés avec des doses modérées de SO_2 ; leur conservation est ainsi facilitée, les cahiers des charges réglementaires respectés et vos consommateurs satisfaits.

Pour sécuriser vos fermentations

ICV OKAY®, c'est la garantie d'une **excellente capacité fermentaire** sur les vins blancs, rosés ou rouges. Elle se caractérise par :

- de faibles besoins en azote,
- une bonne résistance aux températures extrêmes (12°C à 14°C ou 28°C à 30°C).

Un atout pour les blancs et rosés : dans les conditions fermentaires spécifiques (basses turbidités, basses températures), ICV OKAY® produit des niveaux faibles d'acidité volatile et des niveaux moyens à forts d'esters aromatiques.

Au final, ICV OKAY® assure une cinétique régulière et complète[1], même avec des moûts riches en sucre (jusqu'à 15% d'alcool potentiel).

Favorable à la fermentation malolactique, ICV OKAY® vous permet de présenter plus tôt vos vins rouges sur les marchés.

[1] : dans le cadre du respect des points clefs de la fermentation.

LALVIN ICV OKAY®

Retrouvez tous les produits et services du Groupe ICV sur www.icv.fr

ANNEXE 2 : FICHE TECHNIQUE ICV NYMPHEA ®

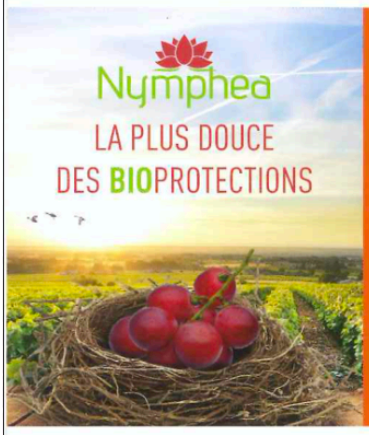
GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

PRODUIT ŒNOLOGIQUE
Levures

TANDEM by ICV

Nymphea

protège naturellement vos raisins rouges des contaminants indésirables.



Levure Torulaspora delbrueckii (non – Saccharomyces), Nymphéa® est une solution originale et performante qui :

- *Permet de limiter le sulfitage ou de travailler sans SO_2*
- *Réduit les risques de déviations et de développements de contaminants*
- *Facilite l'implantation des Saccharomyces ajoutées ensuite*
- *Favorise le développement d'arômes originaux et floraux*

Résultat des travaux de sélection de Lallemand, Nymphéa® a été soumise à des tests drastiques par l'ICV. Elle a confirmé sa capacité à s'implanter dans des environnements compétitifs et à limiter le développement de micro-organismes susceptibles de dégrader la qualité de votre vendange.

Nymphéa® fait partie du concept Tandem® qui propose d'associer en duo des levures (Saccharomyces et non – Saccharomyces) pour optimiser vos vinifications et atteindre vos objectifs produits.

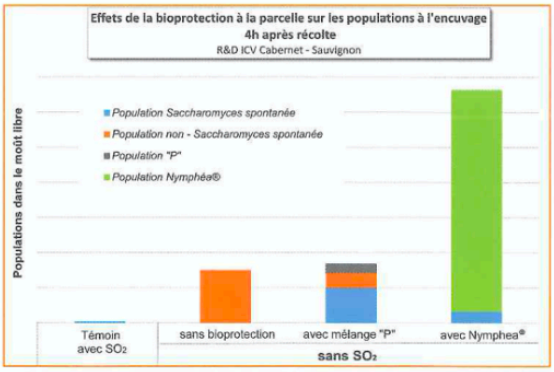
Pourquoi choisir la levure Nymphéa® ?

► Pour la bioprotection de vos raisins

Cette *Torulaspora delbrueckii* est capable de s'implanter dans des conditions difficiles, que ce soit à la parcelle ou dans des jus froids et **de limiter la capacité d'autres micro-organismes à se multiplier**.

Dans des process **sans sulfites ajoutés**, Nymphéa® a la capacité, même **sans réhydratation et à dose raisonnée**, de contenir, voire d'éliminer, la contamination. Nos essais montrent qu'elle est plus performante que bien des solutions proposées sur le marché.

Elle est **compatible avec la quasi-totalité des levures** *Saccharomyces* de la gamme ICV, qui peuvent être ensuite ajoutées lors du remplissage de la cuve de vinification.

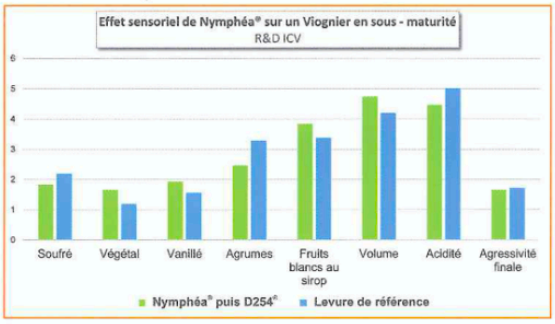


► Pour tirer le meilleur de vos macérations pré-fermentaires à froid en rouge

Sur des raisins mûrs, la macération pré-fermentaire à froid (MPF) favorise l'expression de notes fruitées fraîches et des extractions intéressantes en phase non alcoolique.
Nymphéa®, apportée **à l'encuvage**, avec des doses limitées de SO_2, se multiplie tout en ne fermentant quasiment pas (5 points de perte de densité en 5 jours dans nos essais à 7 – 8°C).
En empêchant le développement d'autres levures, Nymphéa® vous permet de **gérer sereinement la phase à froid** de votre MPF tout en préparant le terrain à la *Saccharomyces* que vous ensemencerez après 3 à 5 jours.

► Pour ses qualités sensorielles

Historiquement associée à la D254®, Nymphéa® a démontré toutes ses qualités pour valoriser vos moûts blancs ou rosés peu aromatiques : parcelles hors sélections, variétés «neutres», presses…
Nymphéa® apporte de la **sucrosité et du volume en bouche**, produit des composés d'**arômes originaux** à partir des composants du raisin (comme l'acétate de phényl éthanol associé à l'odeur de la **rose**) et s'accorde très bien, en blanc par exemple, avec une fermentation en présence de **bois**.



ANNEXE 3 : FICHE TECHNIQUE ICY ALTO ®

GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

ALTO®
Sécurité et Rapidité

PRODUIT OENOLOGIQUE
Bactéries

*Si la plupart des étapes clés de la vinification sont généralement maîtrisées, la fermentation malolactique reste encore trop souvent subie. L'utilisation des bactéries **ALTO®** vous permet de piloter et maîtriser cette fermentation avec efficacité, rapidité et sécurité.*

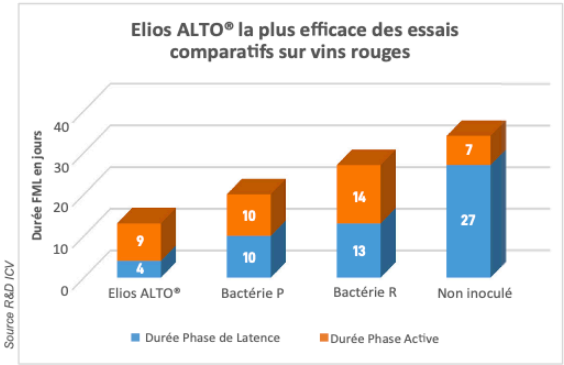
*Isolée et sélectionnée par le Groupe ICV, la souche **ALTO® répond aux** attentes des vignerons qui souhaitent obtenir des vins francs aux arômes **frais, limiter le développement de micro-organismes contaminants,** assurer des fermentations malolactiques dans des conditions peu favorables ou encore travailler sans sulfites ou en bioprotection.*

Retrouvez la bactérie ALTO® sous forme congelée, Elios ALTO®, et désormais sous forme surgelée : les "perles glacées" ICY ALTO®.

Pourquoi choisir ALTO® ?

Pour assurer de façon rapide et efficace la fermentation malolactique dans tous types de conditions

- **Efficace sur un large champ d'action** : vins à pH à partir de 3,2, TAV jusqu'à 15,5%, températures des cuves entre 15 et 28°C.
- **Grande polyvalence** sur diverses conditions œnologiques en **rouge, blanc et rosé**, mais également en **thermovinification** ou en vinification traditionelle.
- Adaptée à une utilisation en **co-inoculation**, comme en **séquentiel**.
- **Phase de latence très courte** : dégradation rapide, régulière et complète de l'acide malique.
- Fermentation plus **rapide** qu'en spontanée, ou qu'avec d'autres bactéries moins adaptées.



Pour proposer un vin aux qualités irréprochables

- ALTO® favorise les notes de **fruits rouges** et de **confiture** sur vins **rouges**, d'**abricot** sur **blancs et rosés**, et apporte du **volume** en bouche et de la fraîcheur.
- ALTO® **limite** le développement de **micro-organismes d'altération** (pédiocoques, *Pichia*, *Brettanomyces*) et préserve les qualités du vin ; atout important dans les process sans SO_2 et en bioprotection.
- ALTO® se caractérise par sa **faible production de diacétyle** et son **incapacité** à produire des **précurseurs de phénols volatils** et des amines biogènes.
- **Sa capacité à consommer l'éthanal**, pendant et dans les jours qui suivent la FML, permet de limiter les doses de SO_2 ajoutées.

Pour éviter les risques de perte de valeur de votre vin

L'utilisation des bactéries ALTO® assure des **gains importants** au regard des risques de cuvées « malo non démarrée » lors d'une FML spontanée :

- Réduction du temps d'occupation de cuverie,
- Réduction des coûts de maintien en température,
- Réduction des coûts et des ressources pour le suivi analytique,
- Réduction des coûts éventuels de traitements curatifs (anti-*Brettanomyces*, gestion de l'acidité volatile...),
- Maîtrise des risques commerciaux liés aux vins prêts trop tard.

Valorisation d'un vin ensemencé en bactéries	**Risques de perte de valeur** avec une FML spontanée
Valeur 100 dont budget bactérie + chauffage des cuves (1 à 2%) **Vin conforme aux besoins du marché**	**- 5 à - 8%** **Ecart sensoriel** Le vin n'est pas au niveau des attentes de l'acheteur
	- 0,5 à - 1% **Coûts analytiques** supplémentaires
	- 0,2 à - 0,5% Coût de maintien en **température**

ANNEXE 4 : FICHE TECHNIQUE ICV MLPRIME ®

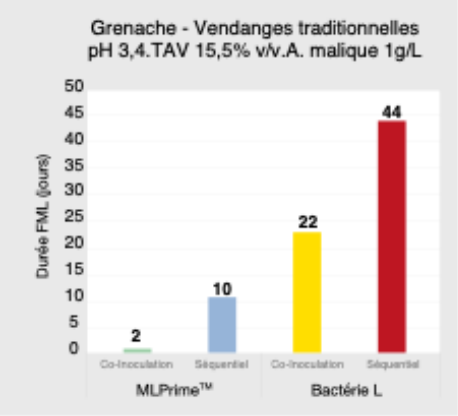
GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

PRODUIT ŒNOLOGIQUE
Bactéries

MLPrime™

Pour une malo express !

Pouvoir présenter ses vins rapidement sur les marchés, avec des profils micro-biologiques et gustatifs maîtrisés, est un véritable atout concurrentiel.
Certains vins rouges méditerranéens présentent des pH élevés et de forts degrés potentiels (>14%v/v) ce qui rend les fermentations malolactiques (FML) parfois plus compliquées et les expose davantage à des contaminations indigènes et aux déviations gustatives qui en résultent.
Pour répondre à ces matrices particulières, le Groupe ICV propose un nouveau ferment lactique issu de la R&D Lallemand : MLPrime™.



Pourquoi utiliser MLPrime™ ?

- **Pour sécuriser vos FML**

> En particulier quand les risques microbiologiques sont élevés : déviations sensorielles et/ou FML difficiles à démarrer sur des **vins rouges traditionnels** des zones méditerranéennes.

> Avec MLPrime™ : **dégradation très rapide**, régulière et complète (2 à 8 jours) **de l'acide malique** dès son introduction. La FML est terminée dans la majorité des cas avant la fin de la FA, quand la bactérie est co-inoculée.

> Limitation du développement d'autres microorganismes d'altération (bactéries type Lactobacilles ou Pédiocoques, levures type *Pichia* ou *Brettanomyces*) grâce à l'activité fermentaire de MLPrime™ et parce qu'elle permet une addition très précoce de SO_2, une fois la malo terminée.

- **Pour ses faibles niveaux d'acidité volatile,** produits même en cas d'arrêt de FA ou de fermentations languissantes.

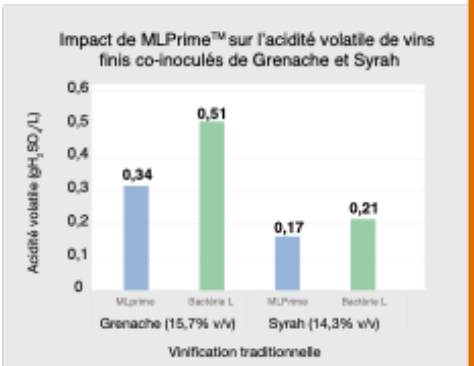
> En effet, MLPrime™ est une bactérie de l'espèce *Lactobacillus plantarum*, hétérofermentaire facultative. Cela signifie que, dans les conditions œnologiques, elle n'a pas la capacité à produire de l'acide acétique à partir des sucres présents dans les moûts ou les vins.

- **MLPrime™ est un outil pertinent pour gérer la FML des vins rouges traditionnels :**

> Lors de **macérations longues** sur des forts degrés : ensemencement en co-inoculation ou sous marc. La rapidité de la FML permet de gérer au mieux ses macérations, sans risques d'apparition d'acidité volatile.

> Dans les situations où des **FML intempestives** s'enclencheraient pendant les FA : MLPrime™, en co-inoculation, consomme l'acide malique avant que les bactéries indigènes n'aient pu se développer.

> Lors de **reprises de FA**, inoculer avec MLPrime™ pour éliminer l'acide malique résiduel pendant la mise **en route du protocole de reprise de FA** élimine le risque de malo sur sucres.
Le risque de montée d'acidité volatile est plus faible. Résultat : un confort de travail et moins de stress pour le vinificateur.



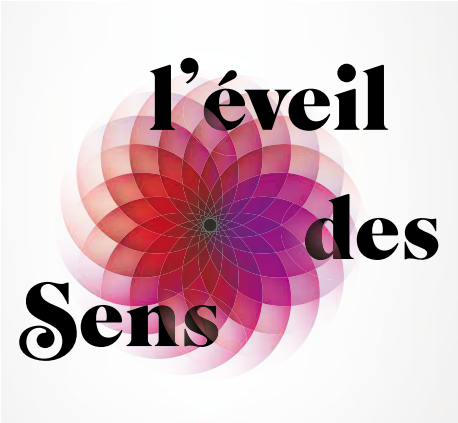
ANNEXE 5 : FICHE TECHNIQUE ICV ELIOS1 ®

GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

PRODUIT ŒNOLOGIQUE
Bactéries

ELIOS® 1

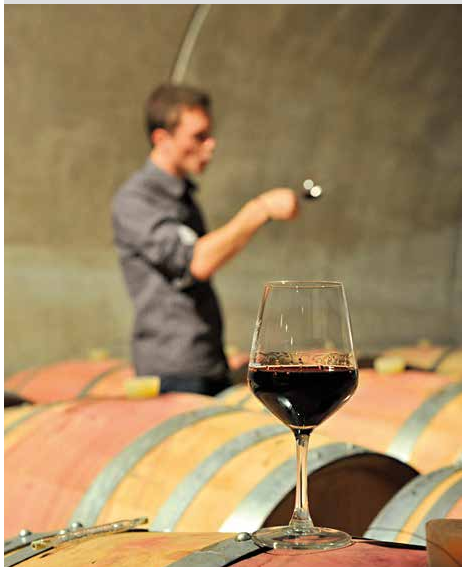
Valorise les qualités sensorielles de vos vins rouges



*Utilisée pour sécuriser la fermentation malolactique de vos vins rouges, Elios® 1 favorise l'expression de **notes épicées et de fruits rouges**, tout en amplifiant volume et concentration en bouche.*
Elios® 1 contribue à valoriser tout le travail effectué au vignoble, à la récolte et dans les chais.
*Grâce à sa mise en œuvre directe dans la cuve, Elios® 1 est d'une **utilisation rapide et facile**.*
Avec Elios® 1, soyez acteur de vos fermentations malolactiques !

Le saviez-vous ?

Après 4 années de recherche, le Groupe ICV a développé un **test rapide** (2 à 6 jours) permettant, pour tout type de vin, de prédire sa facilité à réaliser la fermentation malolactique avec la bactérie de la gamme Elios® sélectionnée.
Le résultat donné est d'une interprétation aisée : malo facile, moyennement facile ou difficile. Ce test prédictif FML vous permet d'**ajuster de manière active** votre stratégie vis-à-vis de la gestion des FML en cave.



Pourquoi choisir Elios® 1?

• Pour son impact sensoriel

> Sur vins rouges premium : pour intensifier les **aromes variétaux** et l'**intensité** du **milieu de bouche**. Synergie intéressante avec les levures ICV GRE® et ICV D21®.

> Sur vins rouges haut de gamme, issus de raisins parfaitement mûrs : Elios® 1 amplifie les sensations de **fruits frais**, de **réglisse** et l'**intensité tannique.**
Synergie sensorielle avec les levures ICV D80® et ICV D21®. Avec ICV D254®, Elios® 1 nuance le profil mûr classique vers plus de fraîcheur aromatique et tannique.

> Elios® 1 est largement appréciée en Californie en raison de son effet jugé positif sur l'accentuation des **caractères variétaux frais et intenses** sur Pinot Noir.

• Pour sa facilité d'utilisation

La présentation d'Elios® 1 sous forme lyophilisée permet une **inoculation directe** dans vos cuves ou barriques.
Vous pouvez l'utiliser aussi bien en co-inoculation (le lendemain du levurage) qu'en ensemencement séquentiel (après fermentation alcoolique).

• Pour présenter rapidement un vin fini à vos acheteurs

> Elios® 1 assure une **dégradation régulière et complète de l'acide malique** [1]. La solution avec Elios® 1 est plus **rapide** qu'une fermentation malolactique sans ensemencement.

> Elios® 1 est parfaitement adaptée à la majorité des conditions œnologiques de nos zones tempérées chaudes : vins avec des pH à partir de 3,4, des TAV jusqu'à 14,5% et des températures comprises entre 17 à 23°C.

[1] dans le cadre du respect des bonnes pratiques de fermentation malolactique

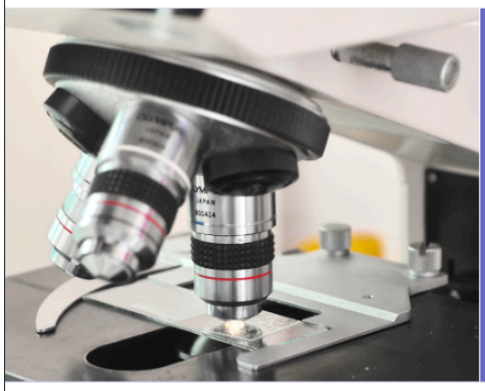
ANNEXE 6 : ANALYSE IGA

GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

Analyses

Indice des Germes d'Altération

Préservez la qualité de vos vins



Ecurie, animal, étable, cheval, phénolé, piqué, filant, amer : tous ces descripteurs dévalorisent vos vins rouges. Ils ont pour origine le développement de micro-organismes indésirables. Conséquence : l'altération de vos produits. Il n'existe pas aujourd'hui de traitement curatif efficace pour permettre à vos vins de retrouver leurs qualités d'origine.
Il est donc essentiel de prévenir le développement de ces germes par des outils de contrôle et d'analyse. La solution : réaliser régulièrement des analyses IGA.

Le saviez vous ?

Votre consultant ICV dispose d'un outil d'identification des cuves les plus fragiles. Vous pouvez ensuite analyser ces cuves en priorité pour sécuriser l'élevage de vos vins.

A partir d'une analyse IGA vous pouvez :

Évaluer le risque microbiologique encouru par vos vins
Les analyses IGA comptabilisent tous les germes d'altérations identifiés dans les vins (*Brettanomyces*, pédiocoques, lactobacilles, *Oenococcus oeni*, bactéries acétiques). Vous identifiez ainsi la totalité des cuvées en danger.

Décider des traitements nécessaires avant l'altération de vos vins
Les analyses IGA précisent la nature des micro-organismes détectés. Vous sélectionnez les actions correctives à programmer sur vos vins en toute connaissance de cause.

Valider l'efficacité du travail réalisé
Vous disposez de différents indices IGA pour répondre à tous les cas de figure. Vous suivez ainsi l'évolution des populations des micro-organismes de vos vins suite aux actions mises en œuvre dans les chais.

Réserver les traitements lourds aux seuls cas critiques
En identifiant les vins qui ne sont pas contaminés, vous pouvez vous affranchir de systématiser certains traitements tels que les filtrations stériles et/ou les sulfitages importants, notamment à l'approche des conditionnements.

ANNEXE 7 : FICHE VISITE PARCELLE

GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

Fiche visite parcelle

Date de visite : ……./……/……. Nom du domaine : ……

Informations sur la parcelle

Surface de la parcelle : …… Année de plantation : ……
Mode de conduite : …….. Cépage : ……..……...
Clone : …….. Porte-Greffe : ……..
Distance intercep : …….. Distance inter-rang = E : ……

Enherbement inter-rang		
Absence	1R/2	2R/2

Enherbement rang		
Absence	Faible présence	Présence importante

Palissage						
Gobelet	1-0-0	1-2-0	1-0-2	1-2-1	1-0-1	1-2-2

Orientation des rangs :

État phytosanitaire

	Nul	<1%	<10%	<50%	>50%
Mildiou					
Black rot					
Oïdium					
Botrytis					
Aspergillus					

Physiologie

Vigueur		
Faible	Moyenne	Élevée

Charge		
Faible	Moyenne	Élevée

% Manquants : ……

ANNEXE 8 : FICHE DEGUSTATION

GROUPE ICV
L'art & l'expertise du vin

Fiche de dégustation expérimentation amines biogènes (Lisa)

Préambule : l'idée de cette dégustation à l'aveugle est d'essayer de mettre en parallèle des teneurs en amines biogsènes et la perception organoleptique. Nous avons dosé les teneurs en amines biogènes sur tous ces échantillons et nous vous demandons maintenant de remplir cette fiche de la manière la plus objective possible. Nous avons sélectionné seulement certains critères qui nous semblaient pertinents pour l'étude mais vous êtes libres de laisser un commentaire général supplémentaire pour chaque échantillon si ce format vous semble trop restrictif. L'ensemble des critères sera évalué sur une échelle de 0 (absence) à 10 (intensité maximale).

Merci de remplir cette fiche de manière individuelle sans vous consulter lors de la dégustation.

Nom du consultant :

Échantillon 1731

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Intensité aromatique											
Expression des arômes fruités											
Expression des arômes épicés											
Complexité aromatique											
Notes animales											
Acidité											
Gras/volume											
Astringence											
Amertume											
Sécheresse											

Défaut remarqué :

Commentaire général (facultatif) :

Si vous avez des questions : Lisa Hostalrich - 06 25 10 90 71

ANNEXE 10 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : CRITERE NOTES ANIMALES

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,46751956	0,45246586	0,34273364	0,79058135	0,12359307	0,49023242	0,12371564	0,06471881	0,25088479
1946	0,46751956	1	1	0,90891947	0,60104222	0,44724035	0,4205728	0,03474438	0,30240629	0,07193627
1783	0,45246586	1	1	0,84155459	0,68027499	0,55540946	0,19801133	0,0454255	0,33250505	0,08643319
1342	0,34273364	0,90891947	0,84155459	1	0,55734229	0,88614424	0,0664109	0,04387636	0,50597557	0,08037655
1543	0,79058135	0,60104222	0,68027499	0,55734229	1	0,34856168	0,22993877	0,11034602	0,17017163	0,21821255
1873	0,12359307	0,44724035	0,55540946	0,88614424	0,34856168	1	0,01567984	0,00591947	0,61643391	0,00950245
1902	0,49023242	0,4205728	0,19801133	0,0664109	0,22993877	0,01567984	1	0,27800673	0,01224645	0,61516405
1287	0,12371564	0,03474438	0,0454255	0,04387636	0,11034602	0,00591947	0,27800673	1	0,0034839	0,56828671
1093	0,06471881	0,30240629	0,33250505	0,50597557	0,17017163	0,61643391	0,01224645	0,0034839	1	0,00575045
1644	0,25088479	0,07193627	0,08643319	0,08037655	0,21821255	0,00950245	0,61516405	0,56828671	0,00575045	1

ANNEXE 11 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : CRITERE INTENSITE AROMATIQUE

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,91636297	0,24769584	0,2640055	0,2402738	0,12885695	0,29216874	0,60568977	0,08170017	0,76749265
1946	0,91636297	1	0,2494548	0,43248106	0,2935572	0,27273366	0,28363163	0,65605815	0,20768077	0,69382499
1783	0,24769584	0,2494548	1	0,87478716	0,03415955	0,01868119	0,24759344	0,09601693	0,78856493	0,12118422
1342	0,2640055	0,43248106	0,87478716	1	0,04379921	0,03163568	0,30387719	0,13312983	0,71121849	0,17948954
1543	0,2402738	0,2935572	0,03415955	0,04379921	1	0,82802337	0,30422646	0,41554644	0,00779905	0,36124811
1873	0,12885695	0,27273366	0,01868119	0,03163568	0,82802337	1	0,30700311	0,31006517	0,00491077	0,28963276
1902	0,29216874	0,28363163	0,24759344	0,30387719	0,30422646	0,30700311	1	0,30691681	0,25867374	0,30752029
1287	0,60568977	0,65605815	0,09601693	0,13312983	0,41554644	0,31006517	0,30691681	1	0,0353383	0,89421467
1093	0,08170017	0,20768077	0,78856493	0,71121849	0,00779905	0,00491077	0,25867374	0,0353383	1	0,05628089
1644	0,76749265	0,69382499	0,12118422	0,17948954	0,36124811	0,28963276	0,30752029	0,89421467	0,05628089	1

ANNEXE 12 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : VOLUME EN BOUCHE

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,01798572	0,02574441	0,02941236	0,03729809	0,01750361	0,19472967	0,91640773	0,00197044	0,20922422
1946	0,01798572	1	0,58065718	0,59540893	0,81284796	0,7720623	0,00138982	0,01416376	0,95646298	0,29519622
1783	0,02574441	0,58065718	1	0,37033061	0,54936311	0,60339515	0,00216748	0,01333493	0,71096741	0,21301048
1342	0,02941236	0,59540893	0,37033061	1	0,79261404	0,71349815	0,0011296	0,03142295	0,43895874	0,48076132
1543	0,03729809	0,81284796	0,54936311	0,79261404	1	0,93766615	0,00280522	0,03703051	0,651071	0,39091009
1873	0,01750361	0,7720623	0,60339515	0,71349815	0,93766615	1	0,00084246	0,02548325	0,55586548	0,3088085
1902	0,19472967	0,00138982	0,00216748	0,0011296	0,00280522	0,00084246	1	0,18697589	5,85E-05	0,01617025
1287	0,91640773	0,01416376	0,01333493	0,03142295	0,03703051	0,02548325	0,18697589	1	0,00206616	0,1903127
1093	0,00197044	0,95646298	0,71096741	0,43895874	0,651071	0,55586548	5,85E-05	0,00206616	1	0,12398738
1644	0,20922422	0,29519622	0,21301048	0,48076132	0,39091009	0,3088085	0,01617025	0,1903127	0,12398738	1

ANNEXE 13 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : EXPRESSION DES AROMES FRUITES

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,45252954	0,02933567	0,04982061	0,28838212	0,7161543	0,01844592	0,97904344	0,0094871	0,73564083
1946	0,45252954	1	0,13786958	0,29579741	0,91686614	0,38940596	0,00019968	0,43508493	0,04877654	0,49807318
1783	0,02933567	0,13786958	1	0,93743406	0,20426343	0,03117028	0,00091977	0,02311568	0,93658349	0,04092923
1342	0,04982061	0,29579741	0,93743406	1	0,33649183	0,04296856	0,00020391	0,04043797	0,70970212	0,07831899
1543	0,28838212	0,91686614	0,20426343	0,33649183	1	0,34835755	0,00023134	0,24342181	0,07131489	0,40468225
1873	0,7161543	0,38940596	0,03117028	0,04296856	0,34835755	1	0,00356629	0,79518771	0,00435845	0,95842058
1902	0,01844592	0,00019968	0,00091977	0,00020391	0,00023134	0,00356629	1	0,00411701	5,68E-05	0,00112033
1287	0,97904344	0,43508493	0,02311568	0,04043797	0,24342181	0,79518771	0,00411701	1	0,00648607	0,71572471
1093	0,0094871	0,04877654	0,93658349	0,70970212	0,07131489	0,00435845	5,68E-05	0,00648607	1	0,00736695
1644	0,73564083	0,49807318	0,04092923	0,07831899	0,40468225	0,95842058	0,00112033	0,71572471	0,00736695	1

ANNEXE 14 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : EXPRESSION DES AROMES EPICES

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,79180809	0,12517633	0,71514887	0,53257079	0,22882908	0,00026635	0,11793075	0,93714308	0,91668959
1946	0,79180809	1	0,07701995	0,67585865	0,51452293	0,22716804	0,00016242	0,05612645	0,79217559	0,97906596
1783	0,12517633	0,07701995	1	0,10611143	0,19283357	0,3752835	0,00036145	0,81079886	0,03987829	0,0422045
1342	0,71514887	0,67585865	0,10611143	1	0,83503485	0,4493481	2,55E-05	0,14435768	0,5315588	0,63879298
1543	0,53257079	0,51452293	0,19283357	0,83503485	1	0,63885228	0,00012374	0,21307743	0,38974114	0,49746514
1873	0,22882908	0,22716804	0,3752835	0,4493481	0,63885228	1	0,00020254	0,37058958	0,14961939	0,21854096
1902	0,00026635	0,00016242	0,00036145	2,55E-05	0,00012374	0,00020254	1	0,00017988	3,52E-05	2,29E-05
1287	0,11793075	0,05612645	0,81079886	0,14435768	0,21307743	0,37058958	0,00017988	1	0,03643034	0,04281005
1093	0,93714308	0,79217559	0,03987829	0,5315588	0,38974114	0,14961939	3,52E-05	0,03643034	1	0,81350544
1644	0,91668959	0,97906596	0,0422045	0,63879298	0,49746514	0,21854096	2,29E-05	0,04281005	0,81350544	1

ANNEXE 15 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : COMPLEXITE AROMATIQUE

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,34579182	0,12471196	0,04887216	0,8961337	0,2791414	0,00222745	0,56603663	0,0036987	1
1946	0,34579182	1	0,63730109	0,21293039	0,62125783	0,93659506	0,00022377	0,18206616	0,09710228	0,35650954
1783	0,12471196	0,63730109	1	0,41771188	0,31085572	0,39982041	0,00040457	0,06896419	0,26242003	0,14391963
1342	0,04887216	0,21293039	0,41771188	1	0,11028258	0,18323126	4,13E-05	0,01592114	0,83169937	0,03823854
1543	0,8961337	0,62125783	0,31085572	0,11028258	1	0,35986851	0,00014976	0,40276807	0,01827959	0,75484072
1873	0,2791414	0,93659506	0,39982041	0,18323126	0,35986851	1	0,00034599	0,10394894	0,02453905	0,31327558
1902	0,00222745	0,00022377	0,00040457	4,13E-05	0,00014976	0,00034599	1	0,00128048	4,10E-05	0,00103511
1287	0,56603663	0,18206616	0,06896419	0,01592114	0,40276807	0,10394894	0,00128048	1	0,00158792	0,619777
1093	0,0036987	0,09710228	0,26242003	0,83169937	0,01827959	0,02453905	4,10E-05	0,00158792	1	0,00549531
1644	1	0,35650954	0,14391963	0,03823854	0,75484072	0,31327558	0,00103511	0,619777	0,00549531	1

ANNEXE 16 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : ASTRINGENCE

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,29502419	0,01016591	0,12444644	0,58468358	0,04565885	0,36029551	0,71384035	0,007489	0,50984866
1946	0,29502419	1	0,035205	0,37007133	0,71413269	0,16481326	1	0,32697618	0,01882468	0,04325914
1783	0,01016591	0,035205	1	0,30631186	0,05229302	0,36640865	0,04898459	0,00712457	0,97873218	0,00298661
1342	0,12444644	0,37007133	0,30631186	1	0,34869747	0,8730827	0,38907023	0,12973425	0,29307487	0,03434597
1543	0,58468358	0,71413269	0,05229302	0,34869747	1	0,18003764	0,77383962	0,77348748	0,04426255	0,24903284
1873	0,04565885	0,16481326	0,36640865	0,8730827	0,18003764	1	0,14575214	0,01696768	0,18309674	0,00552639
1902	0,36029551	1	0,04898459	0,38907023	0,77383962	0,14575214	1	0,33916037	0,02493096	0,11186691
1287	0,71384035	0,32697618	0,00712457	0,12973425	0,77348748	0,01696768	0,33916037	1	0,00396114	0,21706036
1093	0,007489	0,01882468	0,97873218	0,29307487	0,04426255	0,18309674	0,02493096	0,00396114	1	0,00105754
1644	0,50984866	0,04325914	0,00298661	0,03434597	0,24903284	0,00552639	0,11186691	0,21706036	0,00105754	1

ANNEXE 17 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : AMERTUME

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,81386412	0,226167	0,42470861	0,46976839	0,71384035	0,04875384	0,29562579	0,22339696	0,21132432
1946	0,81386412	1	0,35875447	0,5589984	0,59220148	0,9377867	0,01463303	0,16521656	0,32882276	0,08567689
1783	0,226167	0,35875447	1	0,37275101	0,36115807	0,66994766	0,00456983	0,01575653	0,72254558	0,04483908
1342	0,42470861	0,5589984	0,37275101	1	0,89014269	0,97886451	0,0037109	0,028058	0,54885613	0,0346017
1543	0,46976839	0,59220148	0,36115807	0,89014269	1	0,9789068	0,00383951	0,03356778	0,49763415	0,03005324
1873	0,71384035	0,9377867	0,66994766	0,97886451	0,9789068	1	0,09548176	0,24970768	0,70914012	0,32829664
1902	0,04875384	0,01463303	0,00456983	0,0037109	0,00383951	0,09548176	1	0,1530928	0,00103838	0,41993317
1287	0,29562579	0,16521656	0,01575653	0,028058	0,03356778	0,24970768	0,1530928	1	0,00755447	0,58174228
1093	0,22339696	0,32882276	0,72254558	0,54885613	0,49763415	0,70914012	0,00103838	0,00755447	1	0,01497754
1644	0,21132432	0,08567689	0,04483908	0,0346017	0,03005324	0,32829664	0,41993317	0,58174228	0,01497754	1

ANNEXE 18 : TABLEAUX DES P-VALUES DU TEST DE KRUSKAL-WALLIS SUR LES NOTES DE DEGUSTATION : ACIDITE

	1731	1946	1783	1342	1543	1873	1902	1287	1093	1644
1731	1	0,07734275	0,0107857	0,38542082	0,09565496	0,32464352	0,38532991	0,33898325	0,14197178	0,45490379
1946	0,07734275	1	0,52803896	0,4646615	0,83463234	0,19667453	0,08567689	0,56562375	0,34258723	0,29708089
1783	0,0107857	0,52803896	1	0,15232158	0,38662009	0,05246866	0,01414629	0,2032534	0,0926958	0,07056117
1342	0,38542082	0,4646615	0,15232158	1	0,53002852	0,91490712	0,16770187	0,97903592	0,80889244	0,81311179
1543	0,09565496	0,83463234	0,38662009	0,53002852	1	0,27686715	0,07624086	0,65714403	0,50838924	0,38755282
1873	0,32464352	0,19667453	0,05246866	0,91490712	0,27686715	1	0,14399001	0,67316593	0,58547936	0,91540597
1902	0,38532991	0,08567689	0,01414629	0,16770187	0,07624086	0,14399001	1	0,23785117	0,08142391	0,25892992
1287	0,33898325	0,56562375	0,2032534	0,97903592	0,65714403	0,67316593	0,23785117	1	0,89488509	0,69527225
1093	0,14197178	0,34258723	0,0926958	0,80889244	0,50838924	0,58547936	0,08142391	0,89488509	1	0,70919134
1644	0,45490379	0,29708089	0,07056117	0,81311179	0,38755282	0,91540597	0,25892992	0,69527225	0,70919134	1

RÉSUMÉ

Les amines biogènes sont des composés allergènes et également des molécules pouvant altérer le profil organoleptique des vins. Les bactéries lactiques du vin, dont *Oenococcus oeni*, le principal acteur de la fermentation malolactique, sont capables de produire ces molécules, à partir de précurseurs azotés. Afin de réduire la teneur en amines biogènes, il est nécessaire de comprendre quels facteurs viticoles et œnologiques peuvent contribuer à cette production.

Au cours de ce travail de mémoire ingénieur agronome, nous nous sommes intéressés aux deux axes de contrôle de la production des amines biogènes. Premièrement, la relation entre concentration en acides aminés précurseurs et concentration en amines biogènes a été étudiée selon deux axes : le rôle de la teneur en azote assimilable initial sur raisin et l'impact des ajouts de produits œnologiques nutritifs azotés. Secondement, le contrôle de la flore microbienne productrice a constitué le sujet central de ce mémoire en abordant l'intérêt de la co-inoculation avec des bactéries lactiques sélectionnées et la bioprotection des raisins avec une *S. cerevisiae* et une *T. delbrueckii.*

Les résultats de ce mémoire montrent à quel point la problématique des amines biogènes est un sujet plurifactoriel. Le cépage, le process et le millésime constituent des facteurs de variations importants des teneurs en amines biogènes et des variations au sein des amines biogènes. Par exemple, l'expérimentation sur laquelle ce mémoire est basée ayant été conduite sur deux années (2019 et 2020) nous avons pu remarquer que le millésime 2019 était marqué par des teneurs en histamine plus importantes alors que pour le millésime 2020 c'est la putrescine qui s'est montrée prédominante. De plus, il a été établi que la présence d'amines biogènes dans les vins, même en très faibles quantités, impacte significativement la perception sensorielle de ceux-ci.

Ainsi, les données de ce mémoire soulignent la grande efficacité de la co-inoculation avec des bactéries lactiques sélectionnées afin de limiter le pic de production de ces molécules qui se situe entre la fin de la fermentation alcoolique et la fermentation malolactique. L'intérêt de la bioprotection reste cependant à prouver puisque dans notre expérimentation elle n'a pas permis de limiter les teneurs finales en amines biogènes. Le lien entre azote assimilable/ajouts azotés a également été abordé et invite à des études plus poussées sur le sujet puisqu'il constitue un sujet crucial pour la filière.

MOTS CLÉS

Amines biogènes ; Viticulture ; Œnologie ; Nutrition azotée ; Déviation organoleptique ; Réglementation ; Allergènes ; Bactéries lactiques ;

Pour citer ce document : [Hostalrich, Lisa, 2020. ÉTUDE DES LEVIERS VITICOLES ET ŒNOLOGIQUES POUR UNE BONNE GESTION DES AMINES BIOGÈNES DANS LES VINS ROUGES. Mémoire d'Ingénieur Agronome, spécialité viticulture-œnologie, Montpellier SupAgro. 104p.]

ABSTRACT

Biogenic amines are allergenic compounds and also molecules that can alter the organoleptic profile of wines. Lactic acid bacteria in wine, including *Oenococcus oeni*, the main strain in malolactic fermentation, are able to produce these molecules from nitrogenous precursors. In order to reduce the biogenic amines content, it is necessary to understand which viticultural and oenological factors can contribute to this production.

In the course of this work, we focused on the two main axes of control of the biogenic amines production. Firstly, the relationship between the concentration of precursor amino acids and the concentration of biogenic amines was studied along two axes: the role of the initial assimilable nitrogen content in grapes and the impact of the addition of oenological nitrogen nutrient products. Secondly, the control of the producing microbial flora was the central subject of this work by addressing the interest of co-inoculation with selected lactic acid bacteria and the bioprotection of grapes with *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii.*

The results of this work show how multifactorial is the biogenic amines subject. The grape variety, the process and the vintage are important factors in the variation of biogenic amine contents and variations within biogenic amines. For example, since the experiment on which this dissertation is based was conducted over two years (2019 and 2020), we were able to observe that the 2019 vintage was marked by higher levels of histamine, whereas for the 2020 vintage it was putrescine that proved to be predominant. Furthermore, it has been established that the presence of biogenic amines in wines, even in very small quantities, has a significant impact on their sensory perception.

Thus, the data in this dissertation underline the great effectiveness of co-inoculation with selected lactic acid bacteria in order to limit the peak production of these molecules, which occurs between the end of alcoholic and malolactic fermentation. However, the interest of bioprotection remains to be proven since in our experiment it did not permit to limit the final contents of biogenic amines. The effects of assimilable nitrogen amount and nitrogen additions over biogenic amines content has also been discussed and invites further studies on the subject since it is a crucial subject for the sector.

KEY WORDS

Biogenic amines; Viticulture; Oenology; Nitrogen nutrition; Organoleptic deviation; Regulation; Allergens; Lactic bacteria

Montpellier SupAgro
2 Place Pierre Viala, 34060 Montpellier