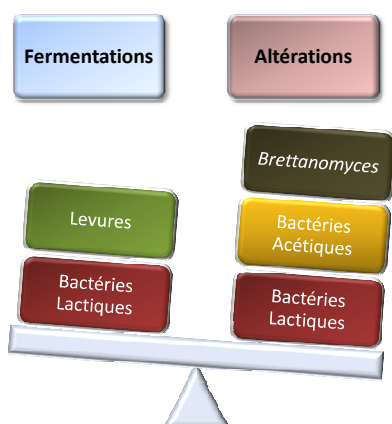


Laurent MASSINI



## *Choix des analyses microbiologiques*

### *Micro-organismes du Vin*



- Micro-organismes variés et présents à tous les stades
- Evolution des paramètres analytiques
- Meilleures connaissance et maîtrise de micro-organismes nécessaires

## Micro-organismes du Vin



**Les moisissures**, présentes sur les raisins et dans les caves. Elles ne sont **jamais utiles** et peuvent provoquer des **mauvais goûts**.




**Risques identifiés :**

- **Ochratoxine A** : *Aspergillus carbonarius*
- **Goûts Moisis Terreux** : *Penicillium sp.*
- **Aérocontamination/goûts de bouchon**

Moisissures

## Micro-organismes du Vin



**Les levures**, responsables de la **fermentation alcoolique**, mais aussi d'**altérations** ("fleur", fermentation en bouteilles).



**Risques identifiés :**

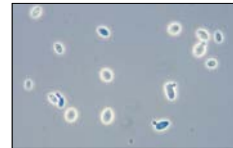
- Carbamate d'éthyle
- Voile de surface
- Refermentation en bouteilles/BIB

Levures

## Micro-organismes du Vin



Les levures du genre *Brettanomyces*, à l'origine d'altérations de type **odeur** et **goûts animaux**.



### Risques identifiés :

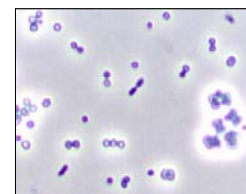
- Production de **phénols volatils** (*Animal, cuir, sueur de cheval, écurie, encre, gouache,...* Masque le fruit et les arômes propres du vin)
- **Arrêts de fermentation alcoolique ou malolactique**

*Brettanomyces*

## Micro-organismes du Vin



Les **bactéries lactiques**, agents de la fermentation **malolactique**, mais aussi de **maladies lactiques** (piqûre lactique, tourne, graisse).



### Risques identifiés :

- La maladie de la graisse
- Piqûre lactique
- Amines biogènes

*Bactéries Lactiques*

## Micro-organismes du Vin

<http://www.cmeba.univ-rennes.fr>



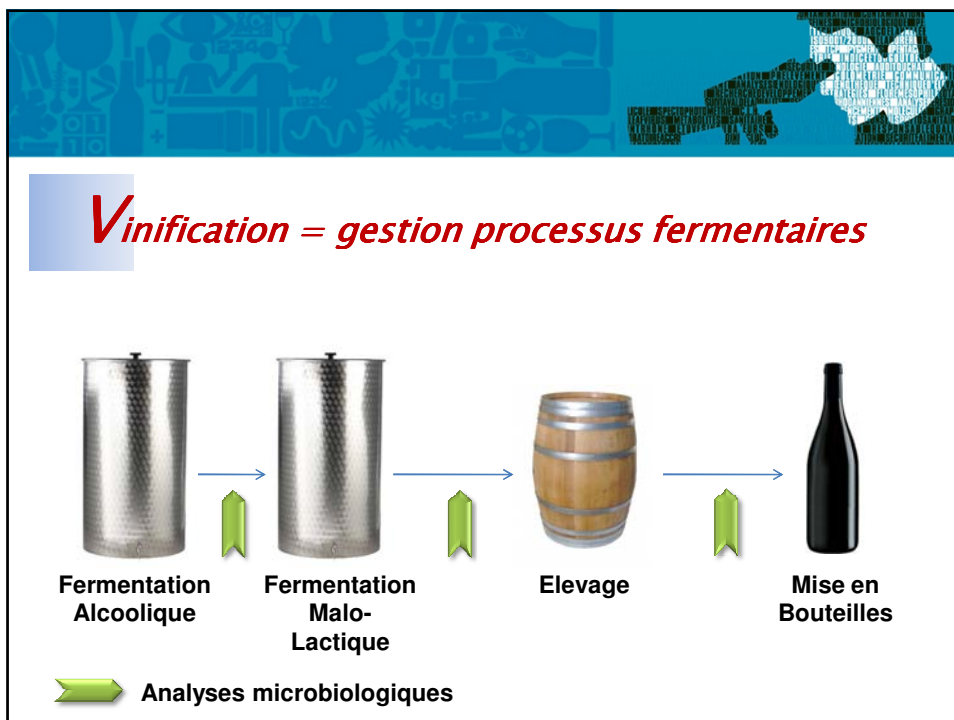
**Les bactéries acétiques**, toujours néfastes, responsables de la **piqûre acétique**.



**Risques identifiés :**

- **Piqûre acétique**
- **Ethanol transformé en acide acétique + acétate d'éthyle**

**Bactéries Acétiques**



## Méthodes d'Analyses : Epifluorescence

Levures

Levures

Brettanomyces

Bactéries

Bactéries Lactiques

Bactéries Acétiques

**Applications :** - Contrôle avant filtration & mise en bouteilles  
- Diagnostic de fermentations languissantes

**Avantage :**

- Rapidité

**Inconvénients:**

- Niveau de détection : à partir de 25 germes/mL
- Peu de spécificité : levures & bactéries

**INTER RHÔNE**  
LABORATOIRE D'ANALYSES

**RAPPORT D'ANALYSES N°RA/ 84\_10.2.055-0**  
Dossier N° : RA\_10.2.055 - 1 (Echantillon)  
Code Client : C0390  
Référént : NIKOLAS CONSTANTIN  
Date Enregistrement : 08/03/2010

---

**2010.84 - 009475** Fin

Couleur : Blanc      Identification : Cuve 25  
Millième : 2 009  
N°Lot:

| MICROBIOLOGIE   |       |              |
|---|-------|--------------|
| Nombres par Epifluorescence<br><i>Méthode Epifluorescence</i> | 3380  | Levures/mL   |
| Nombres par Epifluorescence<br><i>Méthode Epifluorescence</i> | 74200 | Bactéries/mL |

| OENOLOGIE  |       |           |
|--|-------|-----------|
| Titre Alcoométrique Volumique<br><i>Méthode Prévost-Florin</i>           | 13,42 | % Volume  |
| Acidité Totale<br><i>Méthode Prévost-Florin</i>                          | 3,10  | g/L H2SO4 |
| Acidité Volatile catérolée<br><i>Méthode Prévost-Florin</i>              | 0,37  | g/L H2SO4 |
| pH<br><i>Méthode Prévost-Florin</i>                                      | 3,78  |           |
| Sucres<br><i>Méthode Prévost-Florin</i>                                  | 41,5  | g/L       |
| Dioxyde de Soufre Libre<br><i>Méthode Oenologique - Analyseur Séparé</i> | 28    | mg/L      |
| Dioxyde de Soufre Total<br><i>Méthode Oenologique - Analyseur Séparé</i> | 119   | mg/L      |
| SO2 acide à 20°C<br><i>Catérolée</i>                                     | 0,48  | mg/L      |
| Acide Malique<br><i>Méthode Prévost-Florin</i>                           | 2,4   | g/L       |
| Dioxyde de Carbone<br><i>Méthode Cuvage</i>                              | 800   | mg/L      |

Fait à Orange le 08/03/2010  
Analyses validées par :  
  
Isabelle FALLIER  
Responsable Technique en Analyses

Ce rapport d'analyse est annexé par les pages annexes 1 à 6.

INTERPROFESSION DES VINS A.O.C. CÔTES DU RHÔNE ET VALLEE DU RHÔNE  
 Service Technique - 2240 Route du Grès - F 84100 ORANGE - Tél. 33 (0) 4 90 11 46 00 - Fax 33 (0) 4 90 11 46 10  
 Laboratoire : 33 (0) 4 90 11 46 41 - Fax 33 (0) 4 90 11 46 09 - http://www.inter-rhone.com - e-mail: techlab@inter-rhone.com  
 C.C.P. 0846-65 Marseille - C.R.C.A. Angoulême - Fax 33 04 01 00009 - Code ADE 9110 - SIRET : A. Interpro. FR 2778204001

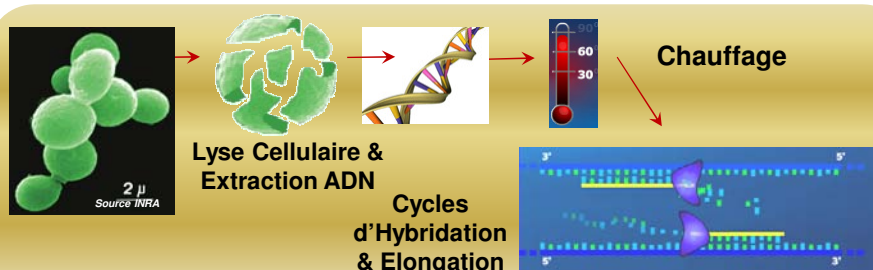
3380 Levures/mL  
74200 Bactéries/mL

**Objectif :** vin exporté à l'étranger & filtration stérile

- Une seule filtration insuffisante
- Nécessite une préfiltration puis une filtration

**Brettanomyces**

## Méthodes d'Analyses : qPCR



**Applications :** - Numération de *Brettanomyces*

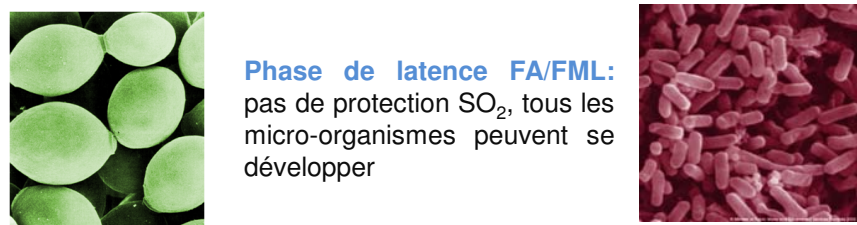
**Avantages :**

- La Meilleure Spécificité

**Inconvénient :**

- Qualitatif & quantitatif

## Méthodes d'Analyses : qPCR



**Phase de latence FA/FML:** pas de protection SO<sub>2</sub>, tous les micro-organismes peuvent se développer

**Contrôle Possible**

- **qPCR:** numération de *Brettanomyces*, résultat 24/48H

## Méthodes d'Analyses : Boîtes de Pétri

**Filtration de 100 ou 200 mL**  
Membrane

**Dilutions**

**Résultats pour 100 ou 200 mL**

**Résultats pour 1 mL**

- Moissures
- Levures
- Brettanomyces
- Bactéries Lactiques
- Bactéries Acétiques

**Applications :** - Contrôle après mise en bouteilles  
- Contrôle de micro-organismes spécifiques sur cuve

**Avantages :**

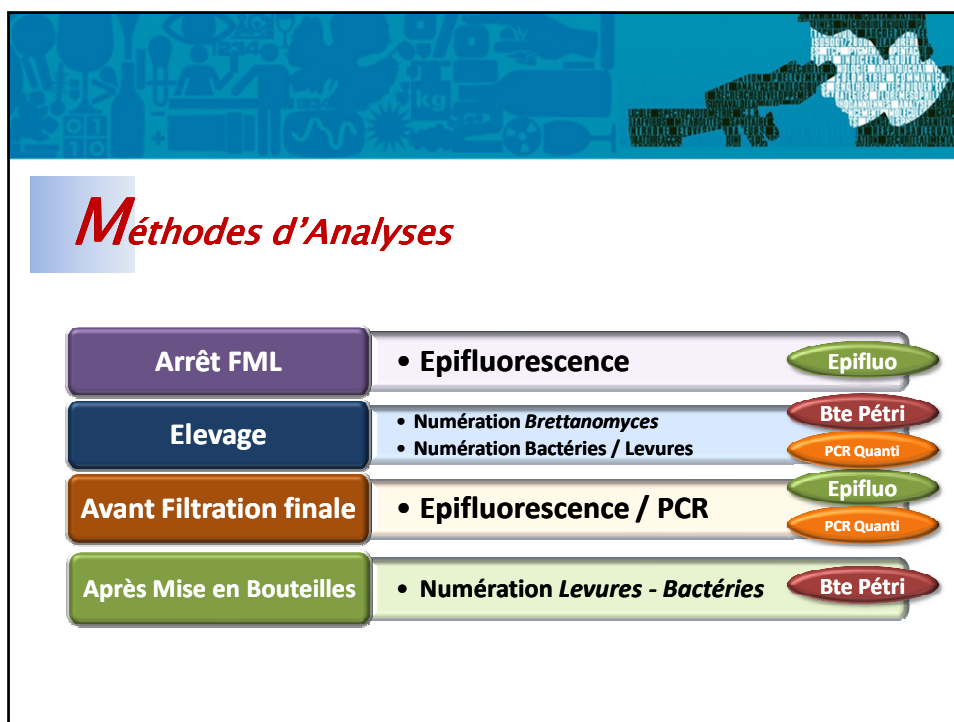
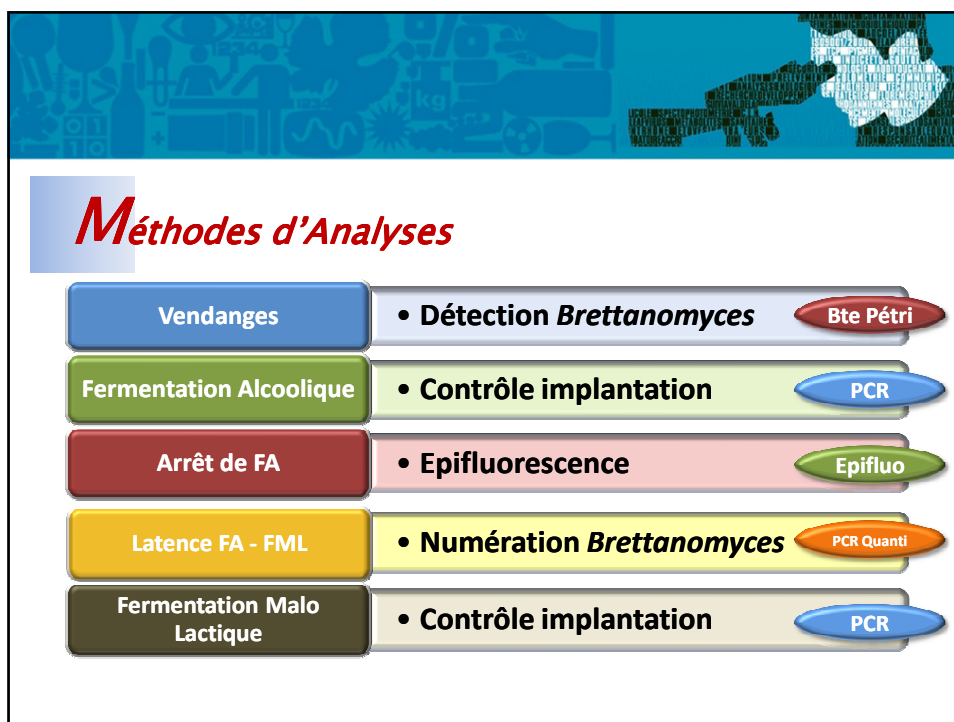
- Bonne Spécificité
- Niveau de détection (0,005 à  $10^9$  germes/mL)

**Inconvénient :**

- Délai

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| Moins de 0,1 germe vivant par mL      | Norme très stricte parfois exigée à l'exportation                          |
| Moins de 2 germes vivants par mL      | Bonne mise en bouteilles pour le marché intérieur et l'exportation         |
| De 2 à 100 germes vivants par mL      | Acceptable dans le cadre d'un circuit de commercialisation court           |
| De 100 à 10 000 germes vivants par mL | Vin limpide à brillant instable. Risque important d'altération microbienne |

*Normes usuelles de stabilité biologique pour un vin sec embouteillé*





## ***Méthodes d'Analyses***

*Conclusion*

- *Méthodes variées par type de micro-organisme*
- *Méthodes adaptées à chaque situation*
  - *Avant mise pour une filtration optimale en fonction de l'objectif produit*
  - *Après mise : contrôles libérateurs de lots*
- *Des outils en constante évolution*
- *Nécessité de former et informer les acteurs de la filière vin*