

Sciences et techniques

**Cave &
Terroir**

Aline LONVAUD-FUNEL

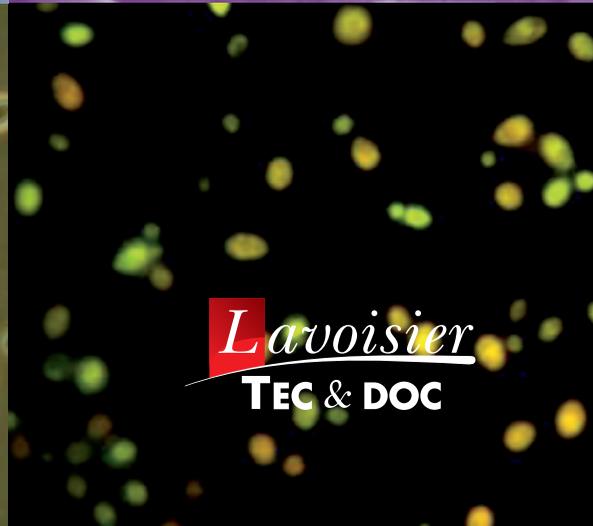
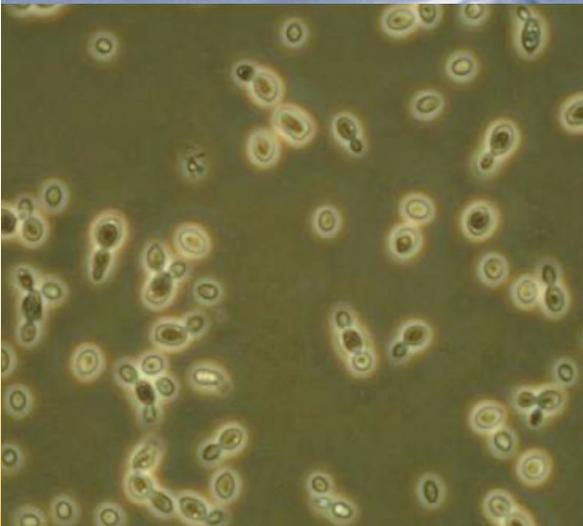
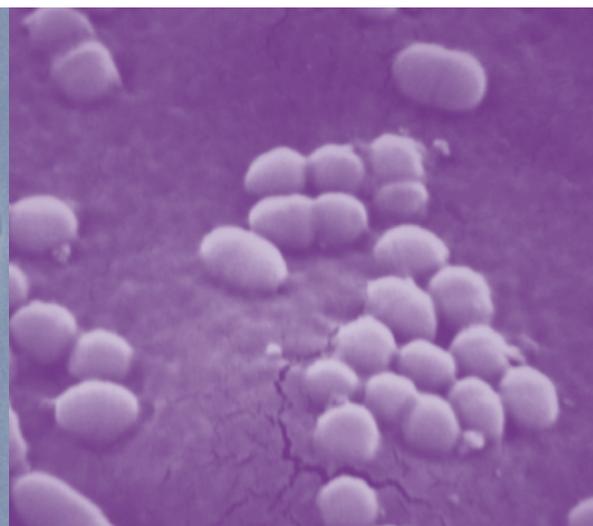
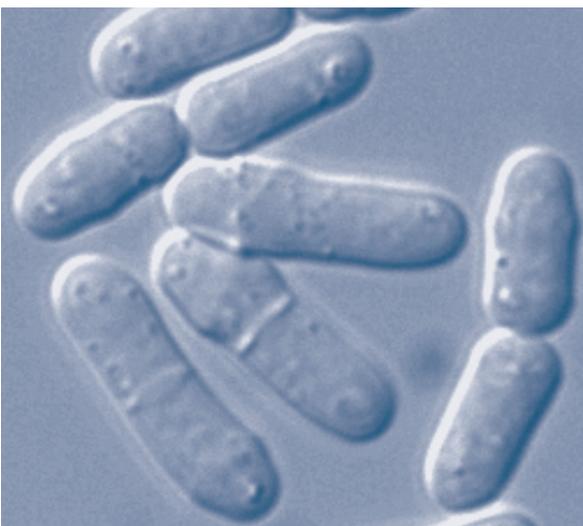
Vincent RENOUF

Pierre STREHAIANO

Microbiologie du vin

Bases fondamentales et applications

2^e édition



Lavoisier
TEC & DOC

Chez le même éditeur

L'œnologie (8^e Éd.)

C. Navarre, P. Belly, 2017

Le livre du pinot noir

R. J. Boidron, 2016

Le champagne, de la tradition à la science (édition actualisée)

Bruno Duteurtre (2016)

Manuel de viticulture (12^e Éd.)

A. Reynier, 2016

Brettanomyces et phénols volatils – Outils pratiques pour prévenir et limiter les altérations dans les vins

V. Renouf, 2015

La fermentation malolactique dans les vins – Mécanismes et applications pratiques

V. Renouf, 2013

Analyses et décisions en œnologie – Guide pratique du laboratoire et de la cave

C. Bonder, 2014

Changement climatique et terroirs viticoles

H. Quéno, 2014

Le vin – De l'analyse à l'élaboration (6^e Éd.)

D. Delanoë, D. Maisondieu, C. Maillard, 2012

Bases scientifiques et technologiques de la viticulture - Manuels (2^e Éd.)

Bac pro CGEA option vigne et vin modules MP 141-142 (Coll. TEAM)

G. Girard, 2010

Bases scientifiques et technologiques de l'œnologie (2^e Éd.)

Bac pro CGEA, option vigne et vin, modules MP 141 et 143 (Coll. TEAM)

G. Girard, 2012

Traité de viticulture de terroir – Comprendre et cultiver la vigne pour produire un vin de terroir

R. Morlat, 2010

Les climats sur les vignobles de France

R.-P. Dubrion, 2010

Pour plus d'informations sur nos publications :



newsletters.lavoisier.fr/9782743025465

Microbiologie du vin

Bases fondamentales et applications

2^e édition

Aline Lonvaud-Funel

Vincent Renouf

Pierre Strehaiano

L*avoisier*
TEC & DOC

editions.lavoisier.fr

Direction éditoriale : Jean-Marc Bocabeille
Édition : Brigitte Peyrot
Composition et couverture : Patrick Leleux PAO, Caen

© 2021, Lavoisier, Paris
ISBN : 978-2-7430-2546-5

Table des matières

Préface à la 1 ^{re} édition	XV
Avant-propos à la 2 ^e édition	XIX

Chapitre 1

Levures et bactéries du raisin et du vin

Composants cellulaires et leurs fonctions. Rappels

1. Généralités	1
2. Enveloppes cellulaires	2
2.1. Paroi	2
2.2. Membrane plasmique	4
3. Matériel génétique : chromosomes et plasmides	6
3.1. Chez les bactéries	6
3.2. Chez les levures	7
4. Cytoplasme	8

Chapitre 2

Taxonomie et diversité des micro-organismes du raisin et du vin

1. Classification	11
1.1. Généralité. Principes	11
1.2. Levures	12
1.2.1. Classification phénotypique	13
1.2.2. Classification phylogénétique	13
1.3. Bactéries	13
1.3.1. Bactéries lactiques	14
1.3.2. Bactéries acétiques	17
2. Diversité des souches dans les espèces. Évolution génétique des espèces	19
2.1. Origine de la diversité	19
2.2. Phylogénomique et diversité intraspécifique	20
2.2.1. Généralités	20
2.2.2. Exemples chez des espèces déterminantes rencontrées en œnologie ...	21
2.2.3. Diversité chez d'autres espèces de levures de raisin et de vin	25

Chapitre 3

Microbiote œnologique

Du raisin à la cave de vinification

1. Un système microbien complexe dans une niche écologique	27
1.1. Le système	27
1.2. Niche œnologique	28

2. Méthodes d'étude du microbiote.....	30
2.1. Méthodes conventionnelles.....	30
2.2. Méthodes moléculaires et métagénomique.....	31
3. Micro-organismes du raisin.....	33
3.1. Quels micro-organismes?.....	33
3.2. Facteurs de variation de la composition du microbiote de la baie.....	38
4. Les micro-organismes du vignoble à la cave.....	41

Chapitre 4

Croissance microbienne : multiplication cellulaire et cinétique de la croissance

1. Mode de multiplication des bactéries et des levures.....	45
1.1. Multiplication des bactéries.....	45
1.2. Multiplication des levures.....	45
1.2.1. Bourgeonnement.....	45
1.2.2. Scissiparité.....	48
1.2.3. Multiplication sexuée.....	48
1.3. Quelques remarques sur le cycle biologique.....	48
2. Croissance des populations : analyse physiologique et cinétique.....	50
2.1. Outils de l'analyse, vitesses, vitesses spécifiques.....	50
2.2. Analyse de la croissance.....	52
3. Relations entre croissance et production.....	54
4. Culture continue.....	56
4.1. Théorie en bref.....	56
4.2. Application œnologique.....	57
4.3. Systèmes utilisés en œnologie.....	58
4.4. Modélisation et modèles de croissance.....	58

Chapitre 5

Populations de levures et de bactéries pendant l'élaboration du vin

1. Évolution globale des micro-organismes en vinification traditionnelle en rouge : vue générale.....	65
2. Dynamique du système pendant la vinification.....	67
2.1. Population des levures pendant la fermentation alcoolique.....	67
2.1.1. Cas général.....	67
2.1.2. Incidences de différentes pratiques sur les genres de levure.....	69
2.1.3. Diversité des souches de <i>S. cerevisiae</i> pendant la fermentation.....	71
2.1.4. Levures après fermentation alcoolique.....	72
2.2. Population des bactéries pendant la vinification.....	73
2.2.1. Bactéries acétiques.....	73
2.2.2. Bactéries lactiques.....	74
2.3. Effet du contenant sur l'évolution des micro-organismes de la vinification.....	77
3. Micro-organismes pendant l'élevage.....	79
3.1. Généralités.....	79
3.2. Notion de viabilité, survie et cultivabilité.....	81

3.3. Évolution des levures et bactéries pendant l'élevage en barrique	85
3.3.1. Levures	86
3.3.2. Bactéries acétiques et bactéries lactiques	89

Chapitre 6

Interactions entre les micro-organismes du vin pendant la vinification

1. Introduction	93
2. Interactions entre les levures	95
2.1. Généralités	95
2.2. Mécanismes	97
2.2.1. Disponibilité en oxygène	97
2.2.2. Compétition pour les nutriments et facteurs de croissance	98
2.2.3. Production de métabolites	99
2.2.4. Phénomène <i>Killer</i>	100
2.2.5. Nécessité du contact entre les cellules	103
3. Interactions entre levures et bactéries lactiques	105
3.1. Interactions négatives <i>S. cerevisiae</i> /bactéries lactiques	105
3.2. Interactions positives <i>S. cerevisiae</i> /bactéries lactiques	107
3.3. Interactions <i>B. bruxellensis</i> /bactéries lactiques	109
3.4. Hypothèse d'une forme prion de <i>S. cerevisiae</i> déclenchée par les bactéries lactiques	110
4. Interactions entre les bactéries lactiques	111
4.1. Analogue de bactériocine	111
4.2. Bactériophages	112
5. Interactions entre les bactéries acétiques et les autres micro-organismes du vin ...	113

Chapitre 7

Nutrition des levures du vin – Métabolismes

1. Nutrition des levures	117
1.1. Généralités	117
1.2. Sources de carbone	118
1.2.1. Sucres	118
1.2.2. Alcools	118
1.2.3. Acides organiques : acide malique et acide acétique	119
1.2.4. Gaz carbonique	120
1.3. Sources d'azote	120
1.4. Éléments minéraux	122
1.4.1. Phosphore	122
1.4.2. Soufre	123
1.4.3. Potassium, sodium	123
1.4.4. Autres métaux	123
1.5. Vitamines	123
2. Métabolismes	124
2.1. Rappels généraux sur le métabolisme	124
2.1.1. Métabolisme et énergie cellulaire	124
2.1.2. Les enzymes et leurs régulations	125

2.2. Métabolisme des sucres	127
2.2.1. Voies d'utilisation du glucose	127
2.2.2. Glycolyse	129
2.2.3. Fermentation alcoolique et fermentation glycéropyruvique	130
2.2.4. Respiration	132
2.2.5. Les régulations et leurs implications en œnologie	134
2.2.6. Utilisation des sucres par la voie des pentoses phosphate (ou voie des hexoses monophosphate)	136
2.2.7. Formation de produits secondaires	137
2.3. Métabolisme azoté	139
2.3.1. Synthèse des acides aminés	139
2.3.2. Synthèse du carbamate d'éthyle – Métabolisme de l'arginine	141
2.3.3. Formation des alcools supérieurs et arômes fermentaires	142
2.4. Métabolisme des composés soufrés	146
2.4.1. Sulfites	146
2.4.2. Sulfures	147
2.4.3. Glutathion	147
2.5. Libération des arômes variétaux	148
2.5.1. Thiols volatils	148
2.5.2. Terpènes	149

Chapitre 8

***Saccharomyces cerevisiae* et la fermentation alcoolique en vinification**

1. Analyse générale	151
1.1. Populations microbiennes pendant la vinification	151
1.2. Étude de <i>S. cerevisiae</i> et évolution de la fermentation alcoolique	152
2. Conditions et facteurs biologiques	156
2.1. Qualité des membranes « facteurs de survie »	156
2.2. Toxicité des acides gras – Effet des enveloppes cellulaires	157
3. Facteurs de l'environnement	157
3.1. Oxygène	157
3.2. Azote	160
3.3. Température	162
3.3.1. Effet de la température sur l'activité cellulaire	162
3.3.2. Fermentation et augmentation de la température	166
3.4. pH	167
3.5. Pesticides	168
3.6. Cuivre	169

Chapitre 9

Métabolismes des bactéries lactiques du vin

1. Fermentation des sucres	172
1.1. Fermentation par les homofermentaires	172
1.2. Fermentation par les hétérofermentaires	173

2. Métabolisme de l'acide malique et de l'acide citrique	175
2.1. Métabolisme de l'acide malique	175
2.2. Métabolisme de l'acide citrique	178
3. Métabolisme des acides aminés	180
3.1. Désamination de l'arginine	180
3.2. Décarboxylations et productions d'amines biogènes	182
3.3. Métabolisme d'acides aminés soufrés	183
4. Autres activités enzymatiques des bactéries lactiques importantes en œnologie	185
4.1. Activité protéolytique et peptidases	185
4.2. Activités glycosidases	185
4.3. Activités estérases	186
5. Apports sensoriels liés à l'activité des bactéries lactiques	187
5.1. Diacétyle et molécules carbonylées	187
5.2. Molécules soufrées	189
5.3. Composés phénoliques	189

Chapitre 10

Nutrition et croissance des bactéries lactiques dans le vin – Fermentation malolactique

1. Nutrition des bactéries lactiques dans le vin	193
1.1. Nutrition glucidique	193
1.2. Nutrition azotée	194
1.3. Autres facteurs nutritionnels	196
2. Toxicité de composés du vin sur les bactéries lactiques	196
2.1. Produits toxiques du métabolisme des levures	197
2.1.1. Éthanol	197
2.1.2. Acides gras	198
2.1.3. Diminution de la toxicité du milieu par les « écorces de levures »	198
2.2. Effet des composés phénoliques du vin	200
3. Facteurs œnologiques primordiaux de la croissance des bactéries lactiques	201
3.1. Rôle du pH sur la croissance et le métabolisme des bactéries lactiques	202
3.2. Effet de la température	203
3.3. Effet du SO ₂	204
4. Croissance des bactéries lactiques dans le vin : conditions de la fermentation malolactique	205
5. Observations générales diverses	207

Chapitre 11

Bactéries acétiques

1. Caractères généraux	211
1.1. Des bactéries bien adaptées à la niche œnologique	211
1.2. Deux grands groupes : bactéries acétiques du raisin et celles du vin	211
2. Métabolismes principaux	213
2.1. Oxydations – Généralités	213

2.2. Métabolisme des sucres	214
2.2.1. Oxydations incomplètes	214
2.2.2. Utilisation des sucres par les voies du métabolisme central	215
2.3. Métabolisme de l'éthanol et du glycérol	217
2.4. Autres métabolismes	219
2.4.1. Acides carboxyliques	219
2.4.2. Estérification	219
3. Incidence du développement des bactéries acétiques dans le moût et le vin	220
3.1. Dans le moût	220
3.2. Dans le vin	221
3.3. Des bactéries toujours présentes, toujours indésirables, mais faciles à éliminer	223

Chapitre 12

Altérations microbiologiques des vins par les levures et les bactéries lactiques

1. Altérations par les levures	228
1.1. Levures à métabolisme oxydatif	228
1.2. Levures de refermentation	230
2. <i>Brettanomyces bruxellensis</i> , biologie dans le vin	232
2.1. Généralités, morphologie, physiologie, métabolisme	232
2.2. Origine et présence dans le vin	234
3. Altération des vins par <i>B. bruxellensis</i>	238
3.1. Production des phénols volatils	238
3.2. Autres produits du métabolisme de <i>B. bruxellensis</i>	240
4. Évolution de la concentration en phénols volatils des vins pendant leur élaboration	241
4.1. Autres micro-organismes producteurs de phénols volatils	241
4.2. <i>B. bruxellensis</i> et 4-éthylphénols pendant l'élaboration du vin	244
4.2.1. Pendant la vinification	244
4.2.2. Pendant l'élevage et le vieillissement	246
4.3. En résumé	248
5. Défauts et altérations par les bactéries lactiques	250
5.1. Piqûre lactique	250
5.2. « Maladie de la graisse » ou « maladie des vins filants »	252
5.3. Maladie de l'amertume ou piqûre acroléique	254
5.4. Maladie de la tourne	256
5.5. Production des amines biogènes	256
5.6. Autres métabolismes d'altération par les bactéries lactiques	259
5.6.1. Éthylphénols	259
5.6.2. « Goût de souris »	259

Chapitre 13

Levures et bactéries lactiques sélectionnées pour la vinification

1. Considérations générales sur l'utilisation des micro-organismes sélectionnés	263
2. Micro-organismes sélectionnés	265
2.1. Définition	265

2.2. Principe de sélection des levures	266
2.2.1. Critères de sélection pour <i>S. cerevisiae</i>	266
2.2.2. Non- <i>Saccharomyces</i>	267
2.3. Étapes de la sélection des levures.....	268
2.4. Sélection des bactéries lactiques	270
2.5. Principes des approches d'amélioration des micro-organismes.....	272
2.5.1. Mutagenèse aléatoire	272
2.5.2. Évolution dirigée et co-évolution expérimentale	273
2.5.3. Amélioration génétique par transfert de gènes ou de régions génomiques.....	274
3. Préparations commerciales	277
3.1. Levures sèches actives (LSA).....	277
3.1.1. Entretien et conservation en laboratoire des cultures « mère »	279
3.1.2. Préparation des milieux de culture.....	279
3.1.3. Multiplication des cellules de levure en <i>fed-batch</i>	279
3.1.4. Séparation et granulation des levures	281
3.1.5. Contrôle de la qualité des LSA.....	281
3.2. Immobilisation des micro-organismes	281

Chapitre 14

Utilisation des micro-organismes sélectionnés

1. Les différents modes d'addition des levures au moût de raisin.....	285
1.1. Déclenchement et maîtrise de la fermentation alcoolique	285
1.1.1. Pied-de-cuve à partir de levures indigènes	286
1.1.2. Pied-de-cuve à partir de levures <i>S. cerevisiae</i> sélectionnées	287
1.1.3. Utilisation directe des LSA (<i>S. cerevisiae</i>) et leur implantation	288
1.1.4. Levures indigènes de <i>S. cerevisiae</i> sélectionnées	289
1.1.5. Levains et traitements des arrêts de fermentation	290
1.2. Utilisation des levures non- <i>Saccharomyces</i>	291
1.2.1. <i>Schizosaccharomyces</i> et leur utilisation	293
1.2.2. Les autres non- <i>Saccharomyces</i>	295
1.3. Cas de la macération pré-fermentaire à froid.....	296
1.3.1. Macération pré-fermentaire sans ajout de levain	297
1.3.2. Macération pré-fermentaire avec ajout de levain	298
1.3.3. Ajout de <i>S. cerevisiae</i> après la macération	298
1.4. Bioprotection	298
2. Utilisation des levures immobilisées	299
2.1. Application à la prise de mousse pour l'élaboration des vins effervescents	299
2.2. Application à la désacidification des moûts.....	300
2.3. Traitement des arrêts de fermentation et des fermentations languiissantes	301
3. Ensemencement par les bactéries lactiques.....	302
3.1. Généralités	302
3.2. Levains malolactiques <i>O. oeni</i> réactivés.....	304
3.3. Levains malolactiques d' <i>O. oeni</i> pour l'inoculation directe.....	305

3.4. Modes d'utilisation des levains.....	306
3.4.1. Comment inoculer le vin avec <i>O. oeni</i>	306
3.4.2. Quand ajouter les levains d' <i>O. oeni</i>	308
3.5. Fermentation malolactique avec <i>Lactobacillus plantarum</i>	310
3.6. Contrôle de l'efficacité du levain malolactique.....	311

Chapitre 15

Traitements pour diminuer ou éliminer les populations de micro-organismes

1. Additions d'antimicrobiens.....	313
1.1. Dioxyde de soufre.....	313
1.1.1. Dioxyde de soufre dans le vin.....	313
1.1.2. Mode d'action du SO ₂	318
1.1.3. Tolérance des levures et des bactéries au SO ₂	319
1.1.4. Application technologique.....	319
1.1.5. Mode de sulfitage du vin pour la stabilisation.....	322
1.2. Acide sorbique.....	323
1.3. Diméthyl dicarbonate (DMDC).....	324
1.4. Lysozyme.....	325
1.5. Chitosan.....	327
2. Traitements physiques.....	328
2.1. Traitement par la chaleur.....	328
2.1.1. Lois de la destruction thermique.....	328
2.1.2. Application au traitement des moûts et des vins.....	332
2.2. Filtration.....	334
2.2.1. Principes.....	334
2.2.2. Les différentes sortes de filtration.....	335
2.2.3. Application des filtrations à la stabilisation microbiologique.....	337
3. Autres opérations de chai.....	340
3.1. Écoulage.....	340
3.2. Pressurage.....	340
3.3. Entonnage.....	342
3.4. Soutirages et micro-oxygénation.....	342
3.5. Collage au blanc d'œuf.....	345

Chapitre 16

Analyse microbiologique

1. Mode de prélèvement des échantillons.....	348
2. Essais de tenue.....	349
3. Méthodes de la microscopie.....	349
3.1. Observation microscopique.....	350
3.1.1. Examen à l'état frais.....	350
3.1.2. Coloration de Gram.....	351
3.2. Estimation d'une population microbienne.....	352
3.2.1. Numération directe à l'hématimètre ou « compte-cellules ».....	352
3.2.2. Couplage à une méthode d'estimation de la viabilité.....	354

4. Dénombrement des micro-organismes par culture.....	356
4.1. Principe et intérêt de la méthode	356
4.2. Mise en œuvre de la culture sur milieu nutritif gélosé	358
4.3. Milieux et conditions de culture	361
4.3.1. Dénombrement des levures	361
4.3.2. Dénombrement des bactéries	362
5. Principe des méthodes moléculaires pour l'identification et le dénombrement des micro-organismes du raisin et du vin.....	364
5.1. Généralités	364
5.2. Propriétés remarquables de la molécule d'ADN	365
5.2.1. Rappel sur la structure de l'ADN.....	365
5.2.2. Dénaturation/renaturation	365
5.2.3. Hydrolyse de la chaîne d'ADN par les enzymes de restriction	366
5.2.4. Synthèse d'ADN <i>in vitro</i> par polymérisation de nucléotides.....	367
5.3. Applications aux méthodes d'identification	368
5.3.1. Hybridation ADN/ADN	368
5.3.2. PCR ou réaction de polymérisation en chaîne	368
5.3.3. Séquençage d'ADN.....	371
5.4. Extraction d'ADN pour la PCR.....	373
5.4.1. Extraction directe à partir de colonies.....	373
5.4.2. Extraction par « kit FTA (Whatman®) »	374
5.4.3. Autres procédés.....	374
5.4.4. Dosage et conservation des ADN extraits	375
5.5. Analyse par l'électrophorèse des fragments d'ADN, après hydrolyse ou néosynthèse	375
5.5.1. Électrophorèse classique.....	376
5.5.2. Électrophorèse en conditions dénaturantes	377
5.5.3. Électrophorèse en champ pulsé.....	378
6. Méthodes moléculaires appliquées en microbiologie du vin	379
6.1. Identification au niveau de l'espèce (exemples)	380
6.1.1. Détection de <i>B. bruxellensis</i> et d' <i>O. oeni</i>	380
6.1.2. Identification d'espèces de levures et de bactéries lactiques par amplification suivie de la restriction enzymatique (RFLP, <i>restriction fragment length polymorphism</i>).....	381
6.1.3. Identification d'espèces en mélange par PCR et gel dénaturant (PCR-DGGE).....	383
6.1.4. Séquençage après amplification	385
6.2. Identification au niveau de la souche.....	385
6.2.1. Discrimination de souches de levure <i>S. cerevisiae</i>	385
6.2.2. Différenciation de souches d' <i>O. oeni</i>	387
6.3. Détection et quantification des micro-organismes d'altération	389
6.3.1. <i>B. bruxellensis</i>	390
6.3.2. Bactéries lactiques d'altération	390
7. Autres méthodes en développement	391
7.1. Cytométrie en flux	391
7.2. Bioluminescence ou ATPmétrie	392
7.3. Spectrométrie de masse MALDI-TOF	393

- 8. Analyse microbiologique pendant l'élaboration du vin et jusqu'à l'embouteillage... 393
 - 8.1. Quelle population analyser ?..... 393
 - 8.2. Méthodes les plus courantes adaptées au contrôle des vins 394
 - 8.3. À quel moment réaliser une analyse ? 396
- Index des noms de genres et d'espèces**..... 401
- Index** 405

Préface à la 1^{re} édition

Nul ne l'ignore, Louis Pasteur fut certainement l'un des plus grands savants français ; on lui doit la découverte d'une science nouvelle, la microbiologie, qui connut très rapidement des développements exceptionnels en agronomie, en biologie et en médecine. Certes, aujourd'hui, il est plus connu pour ses remarquables travaux concernant les maladies humaines et leur prévention par la vaccination. Mais il ne faut pas oublier ses précédents travaux comportant d'abord de remarquables études théoriques sur la cristallographie, utilisant comme modèles les cristaux de tartre, grâce auxquels lui a été attribuée sa première notoriété et qui lui a valu d'entrer à l'Académie des sciences dans la section de minéralogie. Ses recherches ultérieures ont porté sur la fermentation alcoolique et ont orienté toute sa carrière ; la bière et surtout le vin lui ont servi, à de nombreuses reprises, de matériel d'étude. Cette circonstance, avec d'autres d'ailleurs, explique la notoriété de son laboratoire dans les sciences agronomiques ; ses deux principaux collaborateurs, Émile Duclaux, physicien et chimiste issu de l'École normale supérieure et Émile Roux, médecin de formation, furent tous les deux élus à l'Académie des sciences dans la section relevant des sciences agronomiques.

Louis Pasteur s'attaque donc à l'étude de la fermentation alcoolique ; le phénomène est connu, son nom existe ; il se traduit par la transformation du sucre en alcool, avec un dégagement gazeux, un échauffement et l'apparition d'un trouble laiteux qui se résorbe en dépôt assez abondant. Avant lui, Lavoisier disait déjà : « la fermentation est l'une des opérations les plus frappantes et les plus extraordinaires de toutes celles que la chimie nous présente ». Il a été encore plus loin en utilisant ce phénomène pour démontrer, croyait-il, la loi de conservation de la matière. Après des dosages soigneux, il conclut que le poids de sucre fermenté correspond exactement à la somme du poids d'alcool formé et de celui du dioxyde de carbone dégagé. Pasteur a été très critique à l'égard de l'interprétation de résultat, montrant l'intervention, de chaque côté de l'équation, d'erreurs importantes qui se compensent assez bien ; mais Lavoisier pensait qu'il s'agissait d'une simple réaction chimique.

Concernant le mécanisme de la fermentation alcoolique, différentes études avaient envisagé les deux hypothèses possibles, sans pouvoir arriver à une conclusion définitive ; soit il s'agit d'un phénomène chimique résultant de la réaction de deux ou plusieurs constituants du moût, soit il s'agit d'un phénomène biologique mettant en jeu des cellules vivantes. La deuxième hypothèse supposait la présence d'un levain dont on pouvait concevoir l'existence dans le cas de la bière, puisque

la fermentation nécessite une inoculation ; par contre, dans le cas du vin, l'existence d'un inoculum était plus difficile à concevoir puisque la fermentation peut se déclencher spontanément dans le jus de raisin. Pasteur a imaginé une série d'expériences ingénieuses, restées célèbres ; il obtient des raisins dont le jus n'est pas fermentescible, en recouvrant le cep de vigne par un filet à mailles assez fines ne bloquant pas la maturation du raisin, mais empêchant la visite des insectes qui assurent la dissémination des levures, prélevées dans les sols des vignobles. Il arrive ainsi à l'idée que la « génération spontanée » n'existe pas ; ce concept nouveau donnera lieu à des discussions mémorables et sera difficile à imposer.

Plus tard, il découvrira les bactéries qui sont les agents des maladies du vin, bien connues des viticulteurs qui parlent de la « piqûre du vin ». Il s'agit de microbes beaucoup plus petits que les levures, dont l'observation a nécessité l'amélioration des performances de son microscope ; il imagine le chauffage des vins, la « pasteurisation », pour protéger les vins des maladies.

Surtout, Pasteur constate la contamination rapide d'une bouteille de « vin sain » par quelques gouttes de « vin piqué ». Il a tout de suite un pressentiment qu'il exprime clairement : « comment ne pas être obsédé par la pensée que des faits de même nature peuvent et doivent se présenter quelquefois chez l'homme et les animaux ».

Dans le domaine du vin, Pasteur fera d'autres études par exemple sur le vieillissement et le rôle de l'oxygène, sur l'analyse et la composition chimique. Globalement, il y consacra trois années de son activité professionnelle qui se terminèrent par la publication de son célèbre ouvrage *Études sur le vin*, en 1863 (deuxième édition en 1872), aux frais de l'État, à la demande expresse de Napoléon III qui mettait beaucoup d'espoir dans l'application de ces nouvelles recherches à une activité importante pour l'économie nationale.

Ainsi donc Pasteur a découvert une discipline scientifique nouvelle, la microbiologie, dont les applications furent immédiatement d'une grande importance. Simultanément, il donnait à l'œnologie, discipline déjà connue, une véritable dimension scientifique. Il a développé de nombreuses idées nouvelles, concernant non seulement la fermentation alcoolique, mais aussi bien d'autres problèmes scientifiques en relation avec le vin. Elles ont été reprises et précisées par ses élèves, parmi lesquels Ulysse Gayon à Bordeaux, dont les travaux ont marqué les conditions de travail du vin dans les chais pendant plusieurs dizaines d'années.

De nouveaux progrès, tout à fait originaux, des recherches dans le domaine de la microbiologie du vin interviendront dans les années 1930, qui aujourd'hui font partie intégrante du métier des œnologues :

- l'existence de la fermentation malolactique, son rôle, les conditions de sa réalisation et son contrôle analytique ;
- les mêmes bactéries peuvent être nuisibles si elles se développent en présence de sucre ou utiles lorsqu'elles décomposent l'acide malique ;
- il faut obligatoirement éviter les « arrêts de la fermentation alcoolique » qui laissent du sucre dans le vin ;

– des méthodes d'analyse microbiologique permettent d'apprécier la présence et l'identification des différents micro-organismes.

Aujourd'hui, j'ai le privilège de préfacier un nouvel ouvrage, concernant l'état actuel des connaissances de la microbiologie du vin et traitant plus particulièrement des bases scientifiques de cette discipline. On trouvera décrit, dans ce livre, d'abord les questions relatives aux levures, leur identification, les conditions de leur croissance et les mécanismes de la fermentation alcoolique. Ensuite sont abordés les problèmes concernant les bactéries, les transformations qu'elles provoquent, en particulier la fermentation malolactique. Un autre développement concerne les altérations du vin d'origine microbienne. On trouve également deux chapitres consacrés à la sélection des micro-organismes et à leur amélioration éventuelle par le génie génétique, en vue de leur inoculation. Un autre chapitre traite de la maîtrise des micro-organismes et de la stabilisation microbiologique des vins, par les procédés chimiques (dioxyde de soufre) ou physiques (chaleur ou filtration). Enfin, l'ouvrage se termine par un important chapitre concernant le contrôle microbiologique des vins ; il donne une large place aux méthodes découlant de la biologie moléculaire, en particulier celle utilisant l'ADN pour l'identification des souches.

Les trois auteurs sont des spécialistes bien connus de la recherche œnologique, plus particulièrement de la microbiologie du vin. Aline Lonvaud, professeur à la faculté d'œnologie de l'université Victor Segalen Bordeaux 2, a réalisé personnellement de beaux travaux sur les bactéries lactiques du vin, avant de créer une équipe de chercheurs spécialistes de cette discipline, dont la production scientifique, bien reconnue, a intégré les acquisitions modernes de la biologie moléculaire. De nombreuses thèses de doctorat d'œnologie ont été soutenues par cette équipe dont celle de Vincent Renouf, co-auteur de cet ouvrage, intitulée « Description et caractérisation de la diversité microbienne durant l'élaboration du vin » ; elle a apporté des résultats significatifs dans ce domaine. Enfin, Pierre Strehaiano, à l'université de Toulouse, il est très impliqué dans les activités du centre d'œnologie de cette université ; il a apporté une contribution personnelle de qualité à la microbiologie du vin, particulièrement dans les domaines des levures et de la fermentation alcoolique, qui le prédisposait à sa participation à la rédaction de ce livre, dont il a été l'initiateur.

Le mérite de cet ouvrage est essentiellement de faire une mise au point précise de l'état des connaissances sur la microbiologie du vin, en insistant sur les aspects fondamentaux ; il montre l'importance des résultats acquis dans un passé récent et les applications qui en ont découlé. Il laisse en outre entrevoir les nombreux développements que l'on peut attendre des recherches futures.

Il faut féliciter les auteurs de nous laisser ce document dont on appréciera la présentation à la fois claire et rigoureuse, comme la rédaction précise et sa lecture aisée. Enfin, cet ouvrage confirme parfaitement que l'œnologie et le métier d'œnologue ne peuvent plus s'appuyer presque exclusivement sur la chimie, mais doivent donner une place toujours plus grande à la microbiologie qui est la science de base, à l'origine de l'existence même du vin.

Ayant personnellement exercé la responsabilité de la direction de l'Institut d'œnologie, devenu faculté d'œnologie, pendant vingt ans (1976 à 1996), je suis particulièrement heureux de constater que, des années plus tard, Bordeaux est toujours un centre de recherches œnologiques actif et reconnu, qui d'ailleurs vient de connaître un nouvel essor, à la suite de son intégration dans le nouvel Institut des sciences de la vigne et du vin, organisme pluridisciplinaire, dont il est une composante majeure.

Professeur P. RIBÉREAU-GAYON
Doyen honoraire de la faculté d'œnologie
de l'université Victor Segalen Bordeaux 2
Membre correspondant de l'Institut
Membre de l'Académie d'agriculture de France

Avant-propos à la 2^e édition

Pour cette deuxième édition, l'ouvrage de 2010 a été entièrement remanié pour intégrer les notions qui prévalent aujourd'hui en microbiologie du vin. Naturellement, il n'y a rien de nouveau sur la biologie générale des levures et des bactéries du vin. Les caractères essentiels de leur fonctionnement sont connus depuis longtemps, leurs propriétés métaboliques et leur incidence sur la qualité du vin aussi. Plusieurs chapitres leurs sont consacrés, avec dans certains cas, plus de précision que dans la première édition. Le progrès des méthodes d'investigations auxquelles les laboratoires ont de plus en plus facilement accès est à l'origine de ces nouvelles connaissances.

Le premier chapitre de la première édition traitait de l'organisation des micro-organismes de la vinification dans un système complexe. Ce n'était pas nouveau. Nos prédécesseurs savaient que des dizaines d'espèces et de souches occupent le moût en fermentation et le vin. Pour les indispensables études de physiologie et des métabolismes, ils les isolaient, et c'est toujours nécessaire aujourd'hui. Mais cette approche réductionniste doit être suivie d'une approche systémique pour prendre en compte les interactions dont dépendent la dynamique du système, et par conséquent la qualité du vin. À cette fin, les méthodes analytiques ont trouvé leurs outils avec les spectaculaires progrès de la biologie moléculaire, de la bio-informatique, et de la bio-statistique.

Après un bref rappel de biologie cellulaire, les premiers chapitres s'intéressent aux études de diversité des micro-organismes, à la fois à l'échelle des espèces et à celle du microbiote œnologique. Dans l'observation de la diversité des souches, la phylogénomique rend compte des mécanismes de l'évolution du génome lors de l'adaptation des micro-organismes à leur niche écologique. L'étendue de la diversité des espèces dans le microbiote est révélée par l'approche métagénomique.

Une fois le moût dans la cuve, le système s'organise spontanément. Les mécanismes d'interactions font le sujet d'un chapitre ; ils sont loin d'être élucidés, mais les méthodes d'investigation progressent. Les pratiques œnologiques permettent de les orienter pour composer un ensemble microbien dont les réactions biochimiques doivent aboutir à un vin de la meilleure qualité. Aucune opération, que ce soit en phase préfermentaire ou fermentaire, n'est insignifiante. L'engouement récent pour l'utilisation des non-*Saccharomyces* est l'une d'elles. Le rôle des non-*Saccharomyces* a été redécouvert, et conduit à leur addition en masse dans le moût, associée à celle des *Saccharomyces*. La deuxième édition de cet ouvrage y accorde une plus grande place que la première. Aujourd'hui, une profusion d'articles scientifiques et professionnels décrivent les résultats d'associations d'espèces de

levures diverses, sur la composition et la qualité sensorielle des vins. Très souvent, l'application technologique a précédé la connaissance de la physiologie et des métabolismes de ces levures. En particulier elle prend peu en compte la diversité des souches dans chaque espèce de non-*Saccharomyces*. Si des résultats sont indéniables, ils sont toutefois rarement généralisables.

Dans les années 1960-1970, nos prédécesseurs déclaraient à juste titre que grâce aux progrès de l'œnologie moderne, les vins altérés avaient disparu, pour peu que les règles œnologiques établies soient appliquées. C'est naturellement toujours d'actualité. Mais une levure est venue déranger ce propos. Connue depuis longtemps, évoluant à bas bruit, *Brettanomyces bruxellensis* devient aujourd'hui un véritable problème dans toutes les régions du monde. Dans cette édition sont exposées les données nouvelles qui confirment pourquoi cet incident ne peut plus être considéré seulement comme la conséquence d'un défaut d'hygiène.

Cette deuxième édition a pour objectif d'accompagner les étudiants, futurs œnologues, dans leur formation. Elle vise aussi à satisfaire les exigences de mise à jour et la curiosité des œnologues et praticiens auxquels l'importance de la microbiologie n'a pas échappé.

Professeur Aline LONVAUD-FUNEL
Bordeaux, août 2021

Microbiologie du vin

Bases fondamentales et applications – 2^e édition

Le livre Consacré exclusivement aux micro-organismes du vin, **Microbiologie du vin – Bases fondamentales et applications (2^e éd.)** est le premier ouvrage de synthèse à exposer les bases scientifiques des phénomènes microbiologiques de la vinification et à décrire les applications œnologiques qui en découlent.

Sont ainsi exposés la constitution des levures et des bactéries, leur taxonomie, leur multiplication, les paramètres de croissance de population pendant l'élaboration du vin, mais aussi les causes d'altérations microbiologiques, l'amélioration et l'utilisation de souches sélectionnées, enfin la stabilisation et l'analyse microbiologique des vins.

Pour cette 2^e édition, l'ouvrage a été entièrement remanié pour présenter les notions qui prévalent aujourd'hui. Il intègre les connaissances nouvelles issues de l'application dans la recherche en œnologie des méthodes d'investigation moléculaire et d'exploitation des données. Les connaissances les plus récentes sur la biologie générale des levures et des bactéries du vin, sur la complexité du système microbien et sur son fonctionnement dont dépend la qualité du vin, viennent compléter les bases essentielles de la microbiologie des vins.

Accessible et pratique, illustré de nombreux exemples précis issus d'expériences de terrain et de laboratoire, ce livre est un outil indispensable aux œnologues et aux vinificateurs.

Le public Cet ouvrage s'adresse à tous les praticiens et professionnels du vin : œnologues, producteurs, laboratoires œnologiques, industriels, fournisseurs et distributeurs de produits œnologiques, chercheurs ou étudiants.

Les auteurs **Aline Lonvaud-Funel** est docteur es Sciences, œnologue de l'Université de Bordeaux, professeur des universités.

Pierre Strehaiano est œnologue, docteur es Sciences, professeur émérite de l'Institut national polytechnique de Toulouse.

Vincent Renouf est ingénieur de l'INSA Toulouse, microbiologiste et docteur de l'INP Toulouse, directeur général et associé des laboratoires EXCELL.

