

LES LEVURES NON-SACCHAROMYCES :

INTÉRÊT EN OENOLOGIE

K. ZOTT, T. TOMINAGA, C. THIBON, D. DUBOURDIEU,
A. LONVAUD-FUNEL, I. MASNEUF-POMAREDE

UMR 1219 ŒNOLOGIE, ISVV – UNIVERSITÉ VICTOR SÉGALEN BORDEAUX 2
351 COURS DE LA LIBÉRATION, 33405 TALENCE, FRANCE
E-MAIL : K_ZOTT@YAHOO.DE

Les levures non-*Saccharomyces* constituent un vaste groupe de micro-organismes rencontrés en œnologie, extrêmement diversifiés d'un point de vue de la taxonomie et de leurs propriétés technologiques. Au sein de l'écosystème levure du raisin au vin, ce groupe est majoritaire lors des étapes préfermentaires de l'élaboration des vins, notamment durant la macération pelliculaire en vinification en blanc et lors de la macération pré-fermentaire à froid en vinification en rouge. En revanche, au cours de la fermentation alcoolique d'un moût levuré, leur population représente entre 1 à 10% des levures totales.

De nombreux travaux mentionnent, à plusieurs reprises, que les levures non-*Saccharomyces* ont un effet bénéfique sur le vin, en contribuant à son arôme et à sa complexité organoleptique. Plusieurs espèces ont ainsi été proposées pour des co-fermentations en association avec *Saccharomyces cerevisiae*. L'ensemble de ces travaux permet de mieux comprendre le rôle des levures non-*Saccharomyces* sur les constituants volatils des vins, en particulier sur les arômes fermentaires.

En revanche, l'incidence des levures non-*Saccharomyces* sur la libération des arômes variétaux, en particulier ceux de la famille des thiols volatils n'a jamais été étudiée jusqu'à présent. Deux composés majeurs, la 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-one (4MSP) et le 3-sulfanylhexan-1-ol (3SH) à l'origine des arômes respectivement « buis » et « pamplemousse » jouent un rôle important dans l'arôme variétal des vins de Sauvignon blanc. Ces deux composés sont également présents dans les vins is-

sus des cépages Gewürztraminer, Riesling, Colombard, Petit Manseng, Cabernet Sauvignon et Merlot (Murat, 2001; Tominaga et al., 2000). La 4MSP et le 3SH sont libérés pendant la fermentation alcoolique à partir de leur forme précurseur S-conjugué à la cystéine par l'activité des levures. Plusieurs travaux ont décrit le rôle de la souche de *Saccharomyces cerevisiae* ou de *Saccharomyces uvarum* sur la libération de ces arômes (Murat, 2001a; Howell et al., 2004; Dubourdieu et al., 2006). L'objectif de cette étude est d'évaluer la contribution des levures non-*Saccharomyces* à l'arôme variétal des certains vins.

1. Matériels et méthodes

Les souches utilisées dans ce travail proviennent de la collection de l'UMR 1219 œnologie (Talence, France). Elles ont été isolées au chai à partir de moûts rouges en cours de macération pré-fermentaire à froid. L'identification génétique des espèces a été réalisée à l'aide de l'analyse des séquences ITS des ADNr (PCR-RFLP et séquençage). Des tests de fermentations sont réalisés au laboratoire en milieu synthétique stérile (Marullo et al, 2006) supplémenté en S-3-(hexan-1-ol)-L-cystéine et S-4-(4-méthylpentan-2-one)-L-cystéine et sur un moût de Sauvignon blanc préalablement filtré stérilement. La souche *S.cerevisiae* Zymaflore X5 est utilisée comme référence (Masneuf-Pomarède et al., 2006) A mi-fermentation, les milieux, alors stabilisés par addition de dioxyde de soufre, sont analysés pour leur TAV et leurs teneurs en sucres résiduels, acidité volatile, en esters et en thiols volatils.

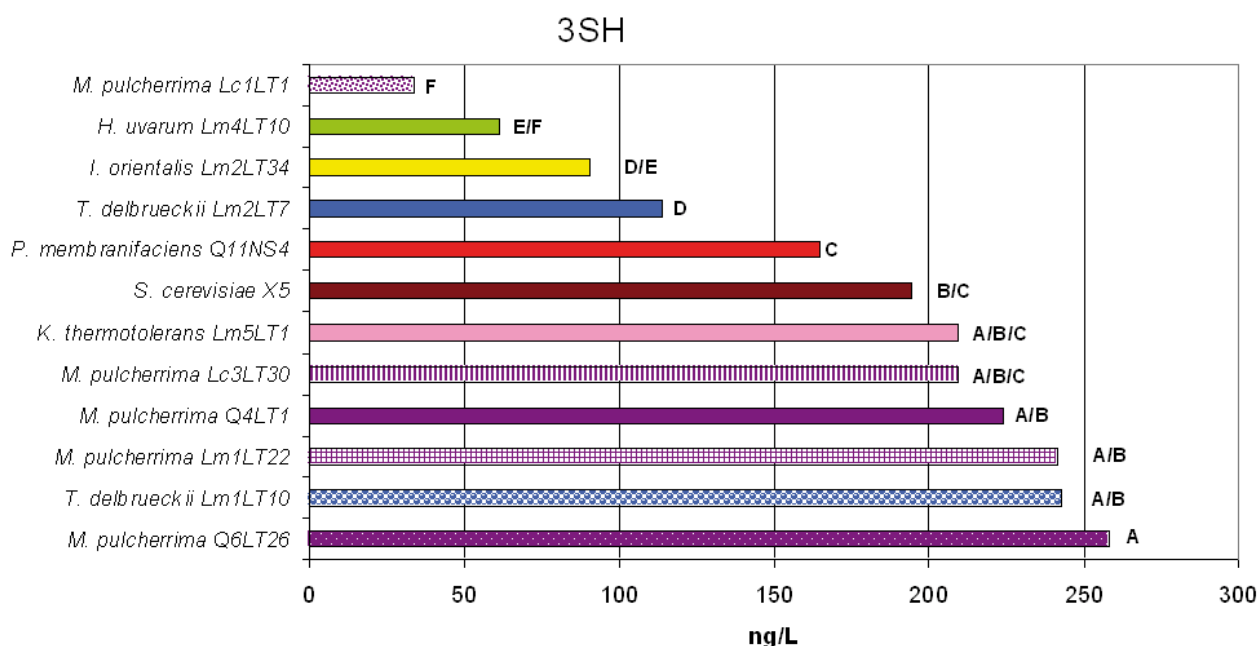


Figure 1 : Libération de la 3MSP par les levures non-*Saccharomyces* et une souche de *S. cerevisiae* dans des moûts de Sauvignon blanc à mi-fermentation, moyenne des répétitions, analyse de variance, $\alpha=0,05$.

2. Résultats et Discussion

Les fermentations sont arrêtées entre 3 et 6% d'alcool produit selon les espèces. Les teneurs en acidité volatile sont comprises entre 0,05 et 0,43 g/L H₂SO₄. Pour les deux milieux, les 14 souches non-*Saccharomyces* testées produisent des arômes fermentaires à des teneurs variables (résultats non montrés). Dans les conditions de l'essai, la plupart des levures non-*Saccharomyces* produisent des teneurs faibles en acétate de phényl-éthyl à l'exception de *Hanseniaspora uvarum* qui en libère plus que *S. cerevisiae*. Par rapport à *S. cerevisiae*, les souches de *Issatchenkia orientalis* et *Kluyveromyces thermotolerans* libèrent des teneurs élevées en acétate d'isoamyle dans le moût de Sauvignon, proches du seuil de perception de ce composé. Concernant le phényl-2-éthanol, les 4 souches de *Metschnikowia pulcherrima* et celle de *Issatchenkia orientalis* et *Torulaspora delbrueckii* produisent des teneurs largement au-dessus de son seuil de perception et supérieures d'un facteur 3 à 5 par rapport aux quantités libérées par *S.cerevisiae*. Ces arômes fermentaires sont donc générés dans les vins dans des proportions variables selon l'espèce. Une microflore diversifiée peut ainsi contribuer à la complexité aromatique des vins.

Les levures non-*Saccharomyces* ont une capacité à libérer les thiols volatils en milieu synthétique (résultats non montrés). Plus spécifiquement, on remarque une forte libération de 3SH par les espèces *M. pulcherrima* et *T. delbrueckii* équivalente et même supérieure à celle obtenue pour la levure Zymaflore X5 de référence. En revanche, l'impact des levures non-*Saccharomyces* sur la libération du 4MSP est moins significatif. La figure 1 rapporte les teneurs en 3SH libérées par les levures non-*Saccharomyces* dans du moût de Sauvignon blanc. Pour quatre des cinq souches de *M. pulcherrima* testées les teneurs sont supérieures à celle de la souche Zymaflore X5. De plus, deux souches, *T. delbrueckii* Lm1LT10 et *K. thermotolerans* Lm5LT sont également très performantes dans les mêmes conditions.

Concernant la capacité à libérer la 4MSP, l'impact des levures non-*Saccharomyces* est significativement plus bas que celui de la levure *S. cerevisiae* X5 (91 ng/L). *T. delbrueckii* (Lm1LT10) ne libère pas ce composé, et *K. thermotolerans* (Lm5LT1) est la levure non-*Saccharomyces* qui en libère le plus. Pour les autres non-*Saccharomyces*, les teneurs sont comprises entre 3,5 ng/L et 12 ng/L, valeurs néanmoins supérieures au seuil de perception de ce composé (0,8 ng/L) (figure 2).

L'intérêt œnologique des levures non-*Saccharomyces* est depuis quelques années au cœur de nombreux travaux et discussions. Si leur impact a souvent été jugé comme négatif, certains auteurs décrivent néanmoins les aptitudes technologiques de ce groupe de levures. Leur capacité d'augmenter la complexité du produit final, d'agir comme « productrices » d'arômes fermentaires, d'excréter des activités enzymatiques d'intérêt, sont autant de potentialités qui ont été rapportées dans de nombreuses publications scientifiques. Nous démontrons, et ce pour la première fois, que les levures non-*Saccharomyces* peuvent transformer les précurseurs

S-conjugués à la cystéine en arôme, lors de fermentations partielles (production d'alcool entre 2,5% et 5%). Il semble que cette aptitude, à l'image des résultats obtenus pour *Saccharomyces*, soit variable selon la souche de levure au sein d'une même espèce. La plupart des levures non-*Saccharomyces* sont capables de libérer la 4MSP mais sans toutefois atteindre le niveau de la levure fermentaire de référence *S. cerevisiae* X5. *T. delbrueckii* et *M. pulcherrima*, souvent décrites dans l'écosystème vin, présentent selon les souches, une capacité équivalente ou supérieure à celle de *S. cerevisiae* à libérer le 3SH. Ainsi, l'analyse des thiols volatils, composés majeurs de l'arôme variétal de certains cépages, constitue un indicateur original de la contribution positive des levures non-*Saccharomyces* à l'arôme des vins.

Références bibliographiques:

Dubourdieu D., Tominaga T., Masneuf I., Peyrot des Gachons C., and Murat M.L., 2006. The Role of Yeasts in Grape Flavor Development during Fermentation: The Example of Sauvignon blanc, Am. J. Enol. Vitic., 57, 81-88

Howell, K. S., Swiegers, J. H., Elsey, G. M., Siebert, T. E., Bartowsky, E. J., Fleet, G. H., Pretorius, I. S., Pretorius, S. & Lopes, M. A. D. (2004). Variation in 4-mercapto-4-methyl-pentan-2-one release by *Saccharomyces cerevisiae* commercial wine strains. FEMS Microbiology Letters 240, 125-129.

Marullo P., Bely M., Masneuf I., Pons M., Aigle M. and D. Dubourdieu, 2006. Breeding strategies for combining fermentative qualities and reducing off-flavour production in a wine yeast model, FEMS Yeast Research, 6, 268-279.

Masneuf-Pomarède, I., Mansour, C., Murat, M. L., Tominaga, T. & Dubourdieu, D. (2006). Influence of fermentation temperature on volatile thiols concentrations in Sauvignon blanc wines. International Journal of Food Microbiology 108, 385-390.

Murat, M.-L. (2001). Recherche sur la vinification des vins rosés et claires de Bordeaux, mémoire n°13, Diplôme d'Etude et de Recherche de l'Université Bordeaux2, mention œnologie-ampélogie

Murat, M.-L., Masneuf, I., Darriet, P., Lavigne, V., Tominaga, T. & Dubourdieu, D. (2001a). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains on the Liberation of Volatile Thiols in Sauvignon blanc Wine. American Journal of Enology and Viticulture 52, 136-139.

Tominaga, T., Baltenweck-Guyot, R., Gachons, C. P. D. & Dubourdieu, D. (2000). Contribution of Volatile Thiols to the Aromas of White Wines Made From Several *Vitis vinifera* Grape Varieties. American Journal of Enology and Viticulture 51, 178-181.

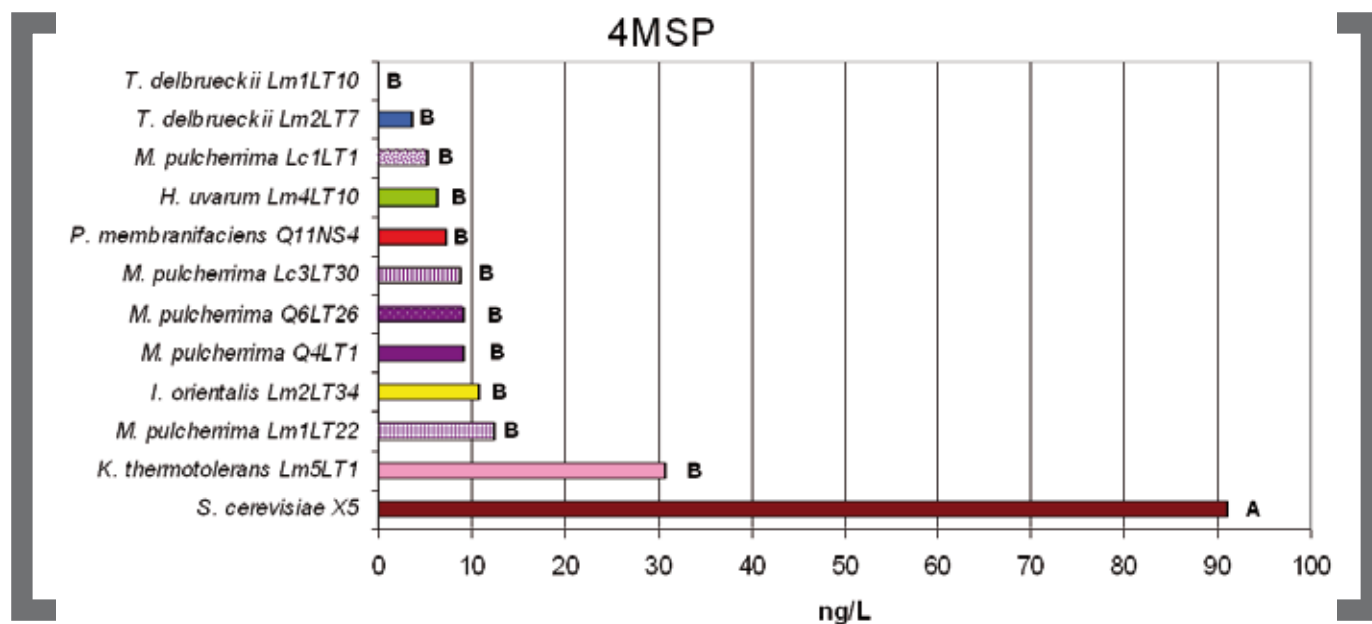


Figure 2 : Libération de la 4MSP par les levures non-*Saccharomyces* et une souche de *S. cerevisiae* dans des moûts de Sauvignon blanc à mi-fermentation, moyenne des répétitions, analyse de variance, $\alpha=0,05$.