RENCONTRE TECHNIQUE

MICRO-ORGANISMES
GESTION THERMIQUE

18 DECEMBRE 2008

WWW.ITV-MIDIPYRENEES.COM

INTRODUCTION

J.F. Roussillon

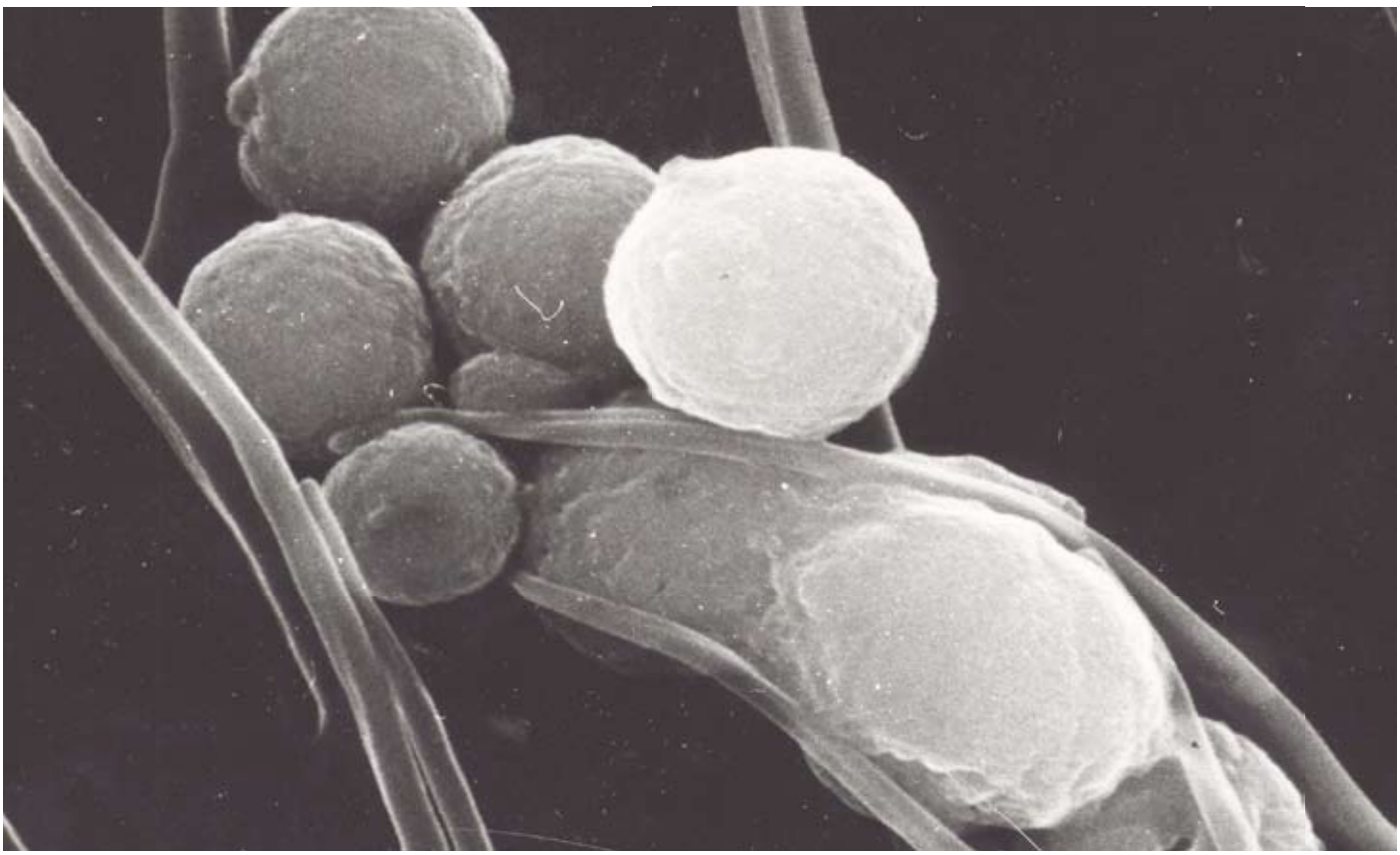
Président de l'IFV Midi-Pyrénées

La recherche et l'expérimentation s'appuient sur la science, les vérités et les démonstrations.

Nombreuses sont les théories, en oenologie et en viticulture qui peuvent être échaffaudées sur des intuitions, des observations...

Elles ont souvent fait progresser notre métier mais, toutes avancées et innovations s'appuient invariablement sur des vérités scientifiques vérifiées par l'expérience.

Il est utile de revenir sur ces vérités pour mieux comprendre les nouvelles avancées de notre recherche et éviter des racourcis trop rapides.



SOMMAIRE

1ère session
Micro-organismes en oenologie

Saccharomyces cerevisiae et arômes : le point sur la question.....**5**
Rémi Guérin Schneider, IFV Rhône Méditerranée

Flores et fermentations spontanées **9**
Morvan Coarer, IFV Val de Loire

Pied de cuve et levain : éléments pratiques de mise en oeuvre.....**11**
Alain Poulard, IFV Val de Loire

Hybridation et OGM : le point sur les stratégies d'amélioration des levures **15**
Bruno Blondin, Montpellier Supagro

La co-inoculation levures/bactéries : intérêt et mise en oeuvre.....**17**
Vincent Gerbaux, IFV Bourgogne

Brettanomyces : facteurs favorisant son développement à la vigne et dans le vin.....**19**
Patricia Taillandier, LGC Toulouse

Dénombrement rapide de *Brettanomyces* dans un vin par cytométrie de flux.....**21**
Vincent Gerbaux, IFV Bourgogne

Les levures *non-saccharomyces* : intérêt en oenologie **23**
Isabelle Masneuf Pomarede, Enita de Bordeaux

Les levures immobilisées : une réalité oenologique **25**
Pierre Strehaiano, LGC Toulouse

2ème session
Gestion thermique

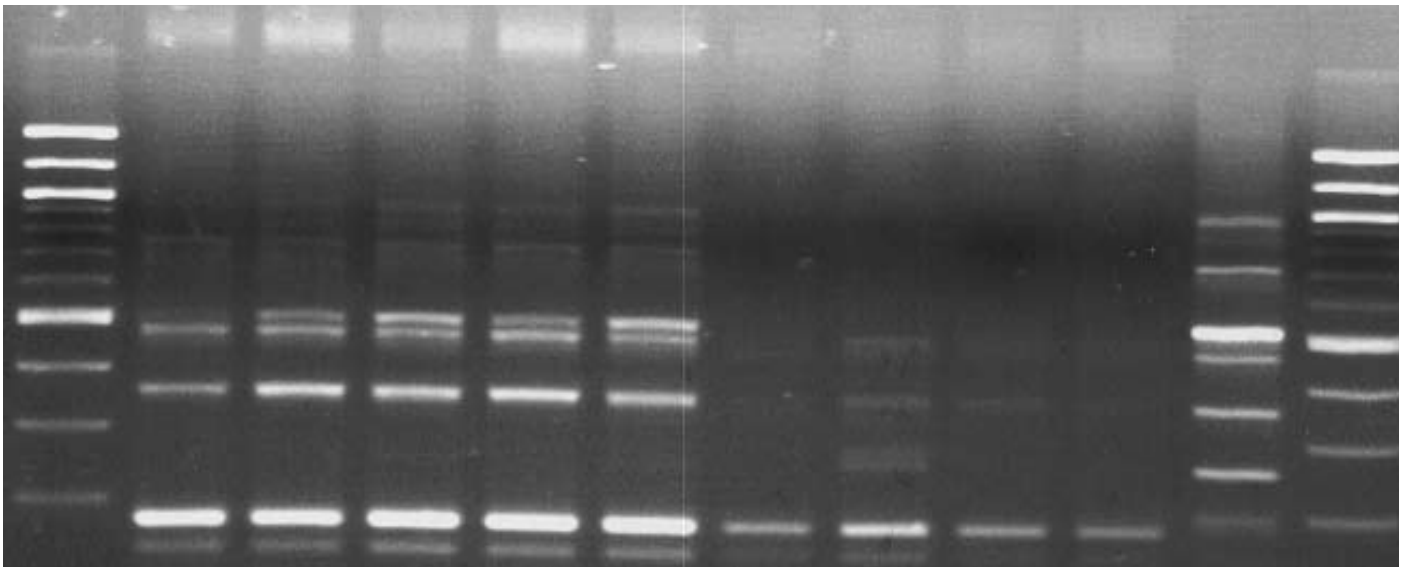
Chauffage de la vendange : les technologies et les méthodes de vinifications associées.....**31**
Michel Moutounet, INRA montpellier

Aspects pratiques de la thermovinification et quelques règles à suivre.....**41**
Stéphane Yerle, Vivélys

Conditions de fermentation et expression des thiols variétaux dans les vins.....**45**
Thiery Dufourcq, IFV Midi-Pyrénées

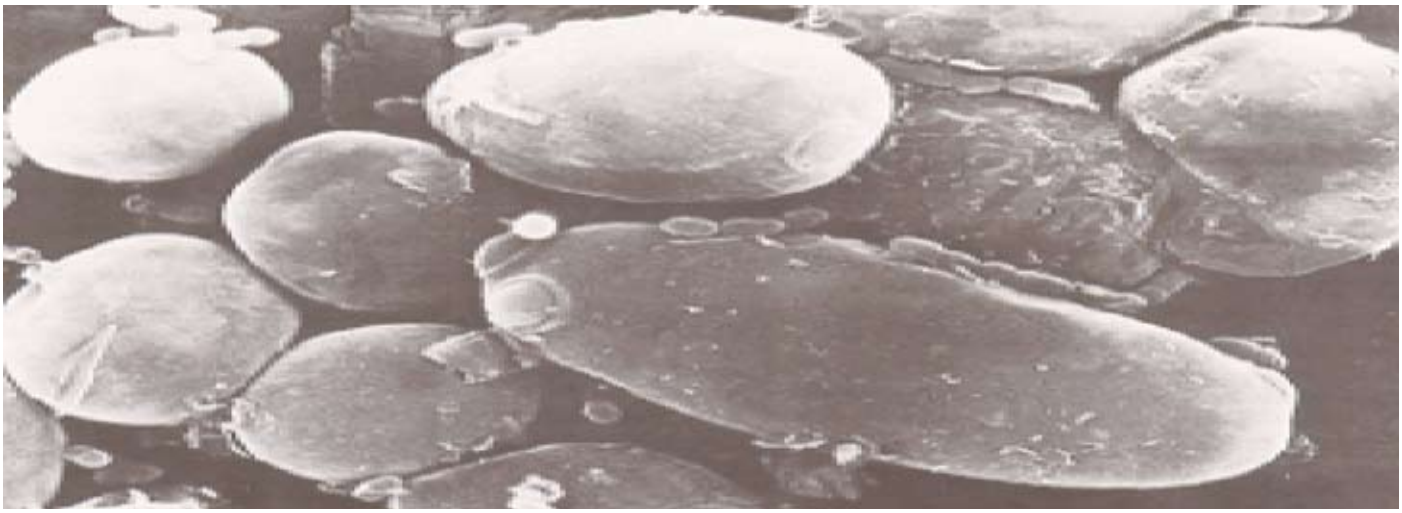
Influence de la température de conservation sur la qualité aromatique des vins blancs.....**49**
François Davaux, IFV Midi-Pyrénées

Optimisation de la cuverie et des dépenses frigorifiques grâce à un simulateur de la fermentation alcoolique.**53**
Jean-Marie Sablayrolles, INRA Montpellier



1ÈRE SESSION :

MICRO-ORGANISMES EN OENOLOGIE



Saccharomyces et arômes :

Le point sur la question

R. Schneider[1] et M. Subileau[2]

1 IFV détaché à l'INRA-UMR-SPO (1083), 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 1
2 INRA-UMR-SPO (1083), 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 1

Introduction

L'arôme des vins est classiquement défini comme la résultante de quatre composantes correspondant à autant d'étapes biotechnologiques au cours de la vinification (Drawert et al., 1974 ; Cordonnier, et al.,1978). L'arôme variétal (ou primaire) provient du raisin lui-même. Il constitue un potentiel aromatique responsable en grande partie de la typicité des vins. Cette composante de l'arôme comprend elle-même deux familles de composés : les composés d'arôme libres, directement perceptibles par la muqueuse nasale, et les composés d'arômes liés, non odorants. Ces derniers sont liés, dans leur grande majorité, à des sucres : ce sont des précurseurs glycosidiques. Plus récemment, Tominaga et al. (1998) ont mis en évidence dans le cas de thiols volatils des précurseurs constitués d'une molécule volatile liée à la cystéine, et Ségurel, (2004) a identifié un précurseur en sulfure de diméthyle, composé responsable en partie de la typicité des vins de Syrah. L'arôme préfermentaire se forme au cours des étapes que subit la vendange entre sa récolte et le début de la fermentation (éraflage, foulage, macération pelliculaire, pressurage,…), essentiellement à la suite de réactions enzymatiques (Crouzet et Flanzy, 1998). L'arôme fermentaire est issu du métabolisme secondaire des levures et/ou des bactéries dans le cas d'une fermentation malolactique. L'arôme vieillissement enfin, se forme par des réactions purement chimiques au cours de l'élevage et du vieillissement des vins

Les recherches récentes dans le domaine des arômes des vins ont essentiellement porté sur les arômes variétaux, responsables en grande partie de la typicité du vin. Les nombreuses publications portant sur la biogénèse dans les raisins de ces composés variétaux ont tendance à occulter le rôle fondamental de la levure dans la formation de l'arôme du vin. Pour l'arôme, la levure en fermentation alcoolique est d'autant plus importante qu'elle est responsable de la note vineuse qui constitue la base aromatique commune à tous les vins et autour de laquelle vont intervenir divers harmoniques qui feront la subtilité de l'arôme d'un bon vin. De plus, les constituants volatils issus de la fermentation alcoolique représentent quantitativement la majeure partie des constituants de l'arôme.

A côté des composés d'arôme issus du métabolisme secondaire de Saccharomyces cerevisiae utilisée en œnologie qui ne sont pas forcément spécifiques mais n'en restent pas néanmoins importants, le rôle de la levure sur les composés d'arôme variétaux eux-mêmes est de plus en plus étudié, que ce soit pour les composés soufrés, pour la révélation desquels son action est indispensable, mais aussi pour les glycosides ou le sulfure de diméthyle potentiel qui s'avèrent également sujets à transformations de la part de la levure contrairement à ce qui a été longtemps avancé .

1. Les composés d'arôme non spécifiques formés au stade fermentaire

1.1 Alcools supérieurs, acides gras ramifiés, aldéhydes ramifiés.

Ces constituants fermentaires proviennent du métabolisme des acides aminés[1] par la levure aboutissant à la formation d'alcools supérieurs ou d'acides gras ramifiés (Bayonove,1998). Le rapport « acides gras ramifiés / alcools supérieurs » n'est, en œnologie, que de quelques %. Quant aux aldéhydes ramifiés, intermédiaires des alcools supérieurs ou des acides gras ramifiés, ils sont présents à l'état de traces dans le vin jeune à l'issue de la fermentation (Culleré et al., 2007).

Globalement, ces composés sont liés au caractère « grossier » de l'arôme du vin, contrairement à leurs acétates, à l'exception du 2-phényléthanol à l'odeur de rose. Ainsi il est communément admis que la qualité de l'arôme du vin augmente avec le rapport esters / alcools supérieurs (Etiévant, 1991).

En général, les conditions qui diminuent la vitesse de fermentation défavorisent la formation des alcools supérieurs (Etiévant, 1991). Citons parmi les paramètres de fermentation qui limitent leur formation : un taux élevé d'ions ammonium, une turbidité faible, une température de fermentation basse et un pH faible du moût. L'influence des teneurs en acides aminés du moût est quant à elle plus sujet à contreverse : certains auteurs ont rapporté une diminution des teneurs en alcools supérieurs formés avec un déficit en acides aminés (Nykanen, 1986), d'autres ont rapporté l'inverse (Schulthess et Ettlinger, 1978).

Les acides gras ramifiés, comme les autres acides gras linéaires possèdent des odeurs désagréables, contrairement aux odeurs de leurs esters éthyliques, mais, au regard des teneurs rencontrées dans les vins et de leurs seuils de perception, seuls les acides 2-méthylbutanoïque et 3-méthylbutanoïque pourraient être perceptibles (Etiévant, 1991). Quant aux aldéhydes ramifiés, leurs seuils de détection olfactive sont proches de leurs teneurs dans les vins jeunes, et leur contribution, bien que modeste, serait positive, avec des notes de fruits secs (Culleré et al., 2007).

1.2 Esters.

Les esters éthyliques d'acides gras et les acétates d'alcools supérieurs dérivent tous des acyl-S-coenzyme A par alcoolise. La prépondérance quantitative d'acétyl-coenzyme A, et d'éthanol dans le moût en fermentation explique la prédominance de ces deux classes (Bayonove, 1998).
Les principaux esters éthyliques rencontrés dans les vins, ainsi que leur seuil de détection, sont consignés dans le tableau suivant. Ils ont tous une odeur rappelant plutôt les fruits à chair blanche comme la pomme ou la poire.

Tableau 1 : Principaux esters éthyliques d'acides gras linéaires à courte chaîne rencontrés dans les vins

	seuil de détection (µg/l)	milieu
butanoate d'éthyle	20	10% v/v
hexanoate d'éthyle	5	10% v/v
octanoate d'éthyle	2	10% v/v
décanoate d'éthyle	510	vin désodorisé

En ce qui concerne les acétates, outre l'acétate d'éthyle fortement majoritaire, mais dont la contribution est jugée plutôt défavorable, les acétates majoritairement rencontrés dans les vins sont l'acétate d'isoamyle (odeur de banane caractéristique, seuil de détection olfactive de 30µg/L), l'acétate d'hexyle (odeur d'ananas) et l'acétate de 2-phenyléthyle (odeur de rose fanée).

[1] Les acides aminés précurseurs d'arômes fermentaires, ont pour la plupart une chaine carbonée ramifiée, et sont dits ramifiés (valine, leucine, isoleucine), comme les constituants fermentaires correspondants, sauf les alcools, dits supérieurs en référence à l'éthanol. Certains, comme la phénylalanine, ne sont pourtant pas ramifiés.

Il a été récemment démontré que les esters ramifiés (2-méthylpropanoate, 2- et 3-méthylbutanoate d'éthyle) présents dans le vin pouvaient avoir un rôle important dans l'arôme (Güth, 1997; Güth, 1997a, Ferreira et al., 1998; Kotséridis, 1998, Schneider, 2001). Le tableau 2 suivant donne les seuils de détection olfactive des différents esters ramifiés, qui présentent tous des odeurs de fruits rouges..

Ces composés se forment au cours de la fermentation alcoolique par estérification des acides correspondants, mais contrairement aux esters éthyliques d'acides gras à nombre pair d'atomes de carbones dont la concentration diminue au cours du vieillissement, ces derniers semblent relativement stables au cours du vieillissement (Kotséridis, 1998) voire augmentent (Schneider, 2001).

Tableau 2 : Principaux esters éthyliques d'acides gras ramifiés rencontrés dans les vins

	seuil de détection (µg/l)	milieu
butanoate d'éthyle	15	solution
hexanoate d'éthyle	1	hydro-
octanoate d'éthyle	3	alcoolique

Cette augmentation s'explique par le fait, qu'en fin de fermentation l'équilibre de la réaction d'estérification n'est pas atteint. Elle se poursuit donc, par voie chimique, de manière lente au cours du vieillissement.

L'importance de ces composés à l'arôme fruité des vins a été rappelée très récemment par Masson et Sanchez (2005), lors d'une expérience de reconstitution d'odeur sur un vin rosé de Provence. Cette contribution aromatique des esters est modulée par le type de vin, comme signalé par Ferreira et al. (1995), et les proportions relatives des esters, qui donnent lieu à des effets complexes de synergie et de masquage. Ces effets de synergie entre esters ont été soulignés lors d'une étude récente sur la macération pré-fermentaire à froid en vinification en rouge et Rosé de Merlot et Cabernet Sauvignon pour expliquer la genèse des notes fruitées, exhaussées dans les vins correspondants (Pineau et al., 2007).

La biogénèse des esters éthyliques et des acétates pendant la fermentation alcoolique est sous la dépendance des métabolismes lipidiques et azotés. Les conditions de fermentations sont très importantes pour la production des esters éthyliques. Des conditions d'anaérobiose strictes, plus facilement atteintes lors de fermentations en phase liquide, des températures de fermentation basses et une clarification des moûts importante mais permettant la présence suffisante de bourbes résiduelles (ou d'ergostérols) sont les facteurs les plus favorables à la formation des esters éthyliques (Bayanove, 1998). Comme le rappelle l'auteur, les esters éthyliques en C6, C8, C10 et C12 étant des inhibiteurs de la multiplication levurienne, il faut rester vigilant, dans ces conditions de vinification, aux arrêts de fermentation.

Pour les acétates, outre la souche de levure, et notamment sa plus ou moins forte capacité d'acétylation, il semble que la teneur en alcools supérieurs soient le facteur prédominant qui régule leur synthèse. Une clarification trop poussée, défavorable à la production d'alcools supérieurs (Bertrand, 1981), peut donc être dans ce cas limitante pour la formation des acétates correspondants.

La diminution des concentrations en esters éthyliques d'acides gras à nombre pair d'atomes de carbone au cours du vieillissement est bien connue (Marais et al., 1978; Marais et al., 1980 Shinohara et al., 1981 Garofolo et al.,1994). Elle résulte du retour à l'équilibre entre les esters et leur produit d'hydrolyse. Les vitesses des réactions d'hydrolyse dépendent de la température, des concentrations en réactants, du type de composé (poids moléculaire des esters).

2. Le rôle de la levure dans la révélation des composés d'arômes variétaux

2.1 Action sur les précurseurs glycosidiques :

Mis en évidence par Cordonnier et Bayonove (1974), les précurseurs glycosidiques sont constitués d'une partie sucre liée par une liaison osidique à un composé volatil, l'aglycone, odorant ou non. Ils sont contenus dans les parties solide et liquide de la baie, mais la répartition peut différer d'une variété à l'autre, la pellicule en contenant la plus grande partie (Bayonove, 1998). Ces composés sont reconnus comme étant un réservoir d'arôme dont la libération implique une hydrolyse acido-catalysée Ces transformations interviennent principalement au stade post-fermentaire, car la plupart des glycosides sont faiblement affectés au cours des stades préfermentaire et fermentaire (Günata et al., 1986 ; Delcroix et al., 1994).

Cependant, des études récentes remettent en cause l'hypothèse de l'action négligeable des levures et des bactéries lactiques dans la formation de composés d'arôme à partir des glycoconjugués, et notamment dans leur influence sensorielle globale sur le vin. En effet, bien que les composés odorants, formés à l'issue de la fermentation, soient à des teneurs très faibles, inférieures à leurs seuils de perception olfactive, leur nombre par classe de composés présentant des propriétés odorantes similaires, est élevé. Ces composés pourraient donc exercer une action concertée pour avoir une influence significative sur l'arôme du vin, comme l'ont montré des études de reconstitution d'arôme (Loscos et al., 2007 ; Hernadez-Orte at al., 2008). Par ailleurs, ces auteurs suggèrent que les levures pourraient intervenir par leur métabolisme, sur la formation de certains composés odorants issus des glycosides, mais non observées par la voie acido-catalysée seule. Cette action serait analogue à celle, connue, de la transformation du géraniol libre en citronellol.

2.2 Action sur le potentiel en sulfure en diméthyle

Le sulfure de diméthyle (DMS) est un composé soufré léger mis en évidence par Du Plessis et Loubster (1974) dans le vin, dans lequel son seuil de perception olfactive est de l'ordre de 25 µg/l (Etiévant, 1991). Ses teneurs dans les vins jeunes sont le plus souvent inférieures à ce seuil, mais elles peuvent atteindre 900 µg/l dans des vins évolués (Dagan, 2006 et références citées). Les données récentes démontrent qu'il est le plus souvent perçu positivement, mais sa contribution à l'arôme des vins est complexe. A teneurs élevées dans les vins très évolués, notamment ceux issus de raisins blancs en vendanges tardives, il apporte des notes de truffe. A des teneurs plus faibles, il contribue aux notes fruitées des vins rouges, notamment par un effet potentialisateur (Anocibar Beloqui, 1998; Ségurel et al., 2004 ; Escudero et al., 2007).

Au cours des stades fermentaires, la levure *Saccharomyces cerevisiae* est capable de réduire le DMSO en DMS (Anocibar Beloqui, 1998), et certaines souches de levure et de bactéries lactiques sont susceptibles d'utiliser la SMM comme source de soufre. Cependant, du fait de sa grande volatilité, le DMS variétal produit par la levure est en grande partie éliminé par le gaz carbonique produit par la fermentation alcoolique, et de ce fait, les teneurs en DMS rencontrées dans les vins juste après la mise en bouteille sont généralement très faibles.

Par contre, les teneurs en DMS variétal post-fermentaire augmentent avec le temps et la température au cours du vieillissement en bouteille, jusqu'à atteindre des teneurs de l'ordre du mg/l, et ce DMS n'est produit qu'à partir de la SMM par une réaction purement chimique (Ségurel et al., 2004 ; Dagan, 2006).

Ainsi, la fermentation, par la sélection de conditions appropriées (souche de levure, paramètres de la conduite de la fermentation) apparaît à terme comme une voie de maîtrise possible du taux de transfert de SMM du raisin au vin, et donc de la formation du DMS variétal post-fermentaire.

2.3 Levure et composés soufrés variétaux

Quatre thiols variétaux sont actuellement connus dans le vin, la 4-méthyl-4-mercaptopentan-2-one (4MMP), le 4-méthyl-4-sulfanylpentan-2-ol (4MMPOH), le 3-mercaptohexanol (3MH) et le 3-mercaptohexyl acétate (Ac3MH). Ces thiols dérivent de 2 conjugués à la cystéine identifiés à ce jour dans la baie de raisin : Cys-4MMP et Cys-3MH (Tominaga et al., 1995; Tominaga et al., 1998). De plus, un conjugué du 3-mercaptohexanol au glutathion, identifié dans un moût de Sauvignon Blanc, serait un précurseur biogénétique du conjugué à la cystéine correspondant, par hydrolyse des 2 acides aminés liés à la cystéine du glutathion (Peyrot des Gachons et al., 2002).

Dans tous les cas, la conversion des précurseurs en thiols est dépendante de la levure. Ainsi il a été montré que certaines souches de levures étaient de meilleures productrices de thiols que d'autres, et que la composition du milieu, les paramètres fermentaires conditionnaient également la libération des thiols.

Parmi les paramètres clés, la quantité d'azote disponible et sa nature (ammonium et acides aminés) peut avoir un impact significatif, à travers le phénomène de répression catabolique par l'azote (NCR : Nitrogen Catabolic Repression). Cette régulation permet à la levure d'utiliser préférentiellement les sources d'azote facilement assimilables : quand une source d'azote « préférée » est disponible dans le milieu (ammonium), elle est consommée prioritairement alors que la synthèse d'enzymes et de perméases nécessaires pour l'utilisation de sources d'azote « non-préférées » (acides aminés) est limitée.

Il a été montré que dans certains cas l'ajout de diammonium phosphate dans les moûts (+330 mg/L de DAP), utilisé en pratique pour éviter des arrêts de fermentation ou fermentation languissante, pouvait induire une diminution de la production finale de thiols (–30 %) (Subileau et al. 2008). Ces résultats suggèrent que l'ajout de DAP, provoquant un allongement de la répression catabolique par l'azote, peut induire une limitation sur la libération des thiols.

Sur milieu synthétique, la baisse de la production de 3MH et 3MHA a pu être corrélée à la limitation de la consommation du Cys-3MH. En effet, le précurseur Cys-3MH est en partie assimilé à travers le transporteur général des acides aminés codé par le gène GAP1 (general amino-acid permease) dont l'expression est réprimée par la NCR (Subileau et al. 2008).

L'ajout d'azote dans les moûts, souvent bénéfique pour les cinétiques fermentaires doit donc être modulé en fonctions de la production de thiols volatiles souhaitée. D'avantage d'essais sont prévus afin de mieux cerner ce phénomène.

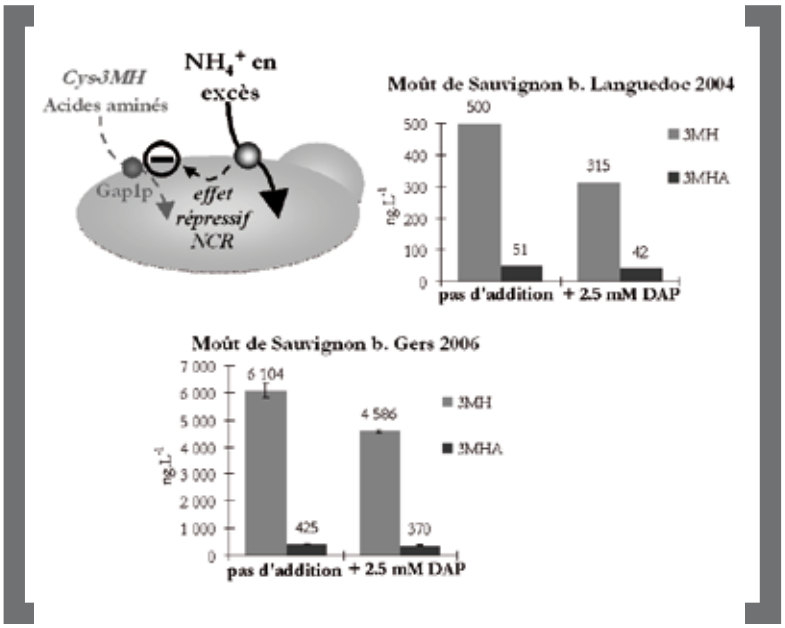


Figure 1 : Effet d'un excès d'ammonium en début de fermentation sur la révélation du 3-mercaptohexanol.

FLORES ET FERMENTATIONS SPONTANÉES

M. COARER

IFV Val de Loire, Château de la Frémoire, 44 120 Vertou

Introduction

La généralisation de l'utilisation de levures sélectionnées en vinification est, pour certains, à l'origine d'une uniformisation organoleptique des vins, pour d'autres d'une déviation du caractère originel de ceux-ci. Si tel était le cas, le fait que ces préparations industrielles soient mondialement diffusées impliquerait une perte d'identité des vins et surtout de savoir faire des régions viticoles traditionnelles.

Le rôle de la levure, au sens large, apparaît donc être en oenologie un thème très largement passionné, et sans nul doute assez méconnu.

Avant même de se faire une opinion personnelle sur l'intérêt ou non d'utiliser des LSA, il convient de mieux connaître l'intimité des flores liées aux fermentations spontanées.

1. Flore spontanée & Biodiversité

Le processus d'élaboration du vin à partir du raisin est caractérisé par une réduction constante de la diversité microbienne aussi bien au niveau bactérien que levurien.

A la vigne les populations de levures sont faibles et concurrencées par les moisissures et champignons. La plupart des espèces sont oxydatives, c'est à dire qu'elles ne transforment pas, ou très peu, les sucres contenus dans le raisin en alcool. C'est ainsi qu'on ne trouve que très peu de *Saccharomyces cerevisiae* sur les raisins.

Des travaux récents ont montré que les levures œnologiques constituent un groupe spécifique dont l'évolution a sans doute accompagné l'expansion de la vinification. C'est sans doute pourquoi, dans le moût en fermentation, on ne retrouve pas systématiquement les levures issues du raisin, tant au niveau des espèces présentes qu'à celui des souches appartenant à ces espèces. Des conditions particulières de récolte et de vinification (à basse température par exemple) peuvent sélectionner

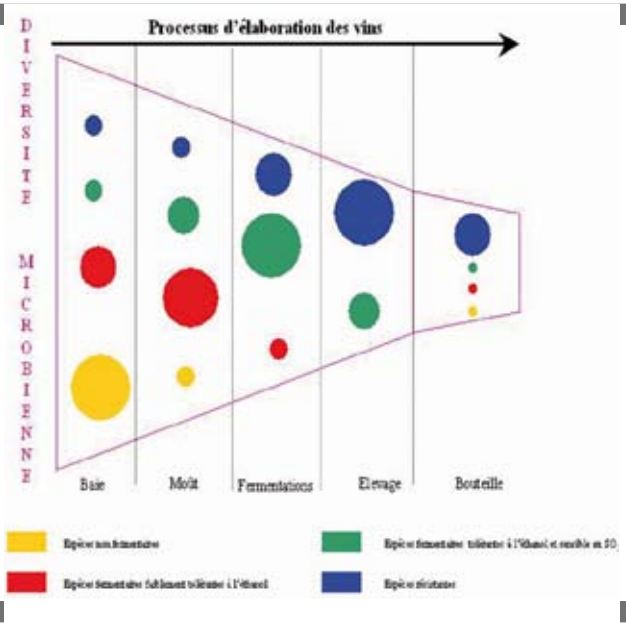


Figure 1 : Evolution de la biodiversité microbienne au cours de l'élaboration des vins (D'après Renouf et *al.*)

certaines populations de levures, comme ça a été montré en Alsace (Lollier 2003). Parallèlement, le chai se caractérise par une atmosphère chargée en levures tant fermentaires qu'oxydatives (Belin 1979, Chrétien, 2001).

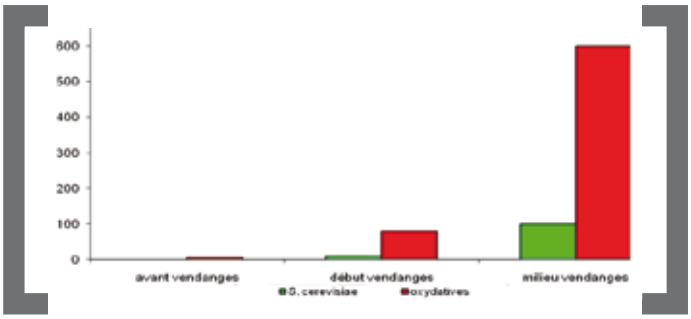


Figure 2 : Proportions respectives des levures oxydatives et *Saccharomyces* dans l'atmosphère d'un chai (Chrétien 2001, Muscadet)

Dans de nombreux cas (*Brettanomyces intermedius ou Saccharomyces cerevisiae*) ces levures ne semblent pas provenir directement du raisin mais plutôt être issues de populations spécifiques de cave.

Tableau 1 : Levures retrouvées sur la raisin et le moût en fermentation

	majoritaires	autres
raisin	*Aureobasidium pullulans* *Candida famata* *Rhodotorula*	*Kloeckera apiculata* *Metschnikowia pulcherrima* *Brettanomyces intermedius* *Saccharomyces cerevisiae*
moût en fermentation	*Saccharomyces cerevisiae* *Saccharomyces uvarum*	*Kloeckera apiculata, javanica, japonica, apis* *Torulaspora delbrueckii* *Candida famata* *Schizosaccharomyces pombe* *Zygosaccharomyces rouxii* *Metschnikowia pulcherrima*

En ce qui concerne les bactéries, on note la présence de nombreuses bactéries lactiques et acétiques sur les raisins, notamment *Gluconobacter oxydans* et *Acetobacter aceti*.

Immédiatement après débourbage, se développent différentes espèces de levures apiculées et oxydatives ne produisant que très peu d'alcool : *Kloeckera , Candida, Metschnikowia* …

Après quelques jours ces espèces sont supplantées par le genre *Saccharomyces* qui assure alors la plus grande partie de la fermentation alcoolique. Les espèces oxydatives peuvent cependant réapparaître de manière sporadique à l'occasion de diverses opérations de vinification : remontage, aération, chaptalisation, …

Contrairement à ce que l'on a longtemps pensé, la fermentation spontanée n'est pas à une « course de relais ». On observe un nombre important de souches différentes (5 à 20), qui varie au cours de la fermentation et d'une année à l'autre. Les souches minoritaires sont rarement présentes plus d' 1 jour ou 2 et le sont toujours en faible proportion. De ce « pool » ou consortium émergent progressivement 1 ou 2 souches dominantes (Coarer et al. 1999). Ces souches dominantes peuvent parfois se main-

tenir plusieurs années (Vezhinet et al., 1992, Renouf et al. 2006), mais il est plus fréquent d'enregistrer un renouvellement annuel (Coarer et al., 1999 – Legras et al., 2003).

L'évolution des caractéristiques analytiques globales des vins obtenus par fermentations spontanées suit celle de la proportion de la souche dominante, notamment en ce qui concerne le degré alcoolique : les souches minoritaires ne sont pas présentes de manière suffisamment significative, tant en durée qu'en proportion, pour imprimer concrètement leur marque organoleptique, sauf à produire rapidement et en grande quantité des composés perceptibles à très faibles concentrations. Les travaux menés par l'IFV (Coarer et al. 1999) n'ont jamais permis de relier la diversité à la complexité, ni l'apparition de telle ou telle souche à celle de tel ou tel composé. Le seul impact mesuré de l'augmentation du nombre de *Saccharomyces* différentes est l'allongement de la durée de fermentation.

2. La diversité de la microflore n'est pas synonyme de complexité ou de qualité

Dans tous les cas, notamment en raison du développement précoce et important de *Kloeckera apiculata*, la fermentation spontanée s'accompagne d'une augmentation de l'acidité volatile par rapport à une fermentation induite. Sans être obligatoirement néfaste, cela peut être handicapant, tant au niveau de l'agrément qu'à celui de la commercialisation (Boisson et al. 2004).

Tableau 2 : *Kloeckera apiculata vs. Saccharomyces cerevisiae*

	acidité volatile (g H_2SO_4/l)	acétate d'éthyle (mg/ml)	TAV % vol.
Kloeckera apiculata	0.80	383	3.0
Saccharomyces cerevisiae	0.43	38	12.7

Le maintien de populations importantes de bactéries acétiques jusqu'au début de la fermentation alcoolique augmente les phénomènes de combinaison du SO2.

Si les fermentations spontanées peuvent souvent se dérouler sans aucun problème, dans environ 30 % des cas on assiste à des fins de fermentations difficiles et languissantes. Contrairement aux accidents de fermentations, ces situations sont difficiles à corriger et ont des conséquences aromatiques impliquant de fortes dépréciations. La présence de bactéries lactiques pendant ces fermentations languissantes peut aussi conduire à des piqûres aux effets dévastateurs.

La fermentation spontanée n'est bien sûr pas responsable de tous les problèmes susceptibles de se présenter. Mal maîtrisée, elle laisse cependant le champ libre à de multiples complications. La fermentation spontanée constitue donc dans tous les cas un risque qu'il convient de bien calculer et de prendre en connaissance de cause…

Comme nous venons de le voir, la microflore levurienne spontanée indigène varie de manière importante d'une parcelle à l'autre, d'un chai à l'autre, d'une cuve à l'autre, d'une année à l'autre. Il est bien difficile, dans ces conditions, de la considérer comme un élément objectif du terroir. Il n'y a sans donc sans doute pas de « levure de terroir ». Par contre, le terroir, tout comme les pratiques culturales et la climatologie du millésime, a sans doute un impact plus ou moins direct sur la structure globale de la microflore levurienne.

Pour plus de données scientifiques :

J-M. Belin, 1979, Contribution à l'étude des levures des chais – taxonomie, répartition des levures

F. Vezhinet, J-N. Hallet, M. Valade, A. Poulard, 1992, Ecological survey of wine yeast strains by molecular methods of identification

M. Coarer, F. Charrier, A. Poulard ,1999, Microflore et Typicité des Vins.

P. Chretien, 2001 Etude de la dissémination des levures industrielles dans l 'environnement des caves vinicoles.

J-L Legras, 2003, Etude de la flore levurienne de différents terroirs alsaciens

M. Lollier, 2003, Diversité, évolution et transferts de la vigne au vin des flores levuriennes indigènes d'intérêt œnologique en Alsace

R. Boisson, V. Lempereur, J-L. Berger, 2004, Le nouveau programme Ferments Vin en Beaujolais

V. Renouf, C. Miot-Sertier, P. Strehaiano, A. Lonvaud-Funel, 2006, Le consortium microbien du vin : une réelle caractéristique du terroir

PIED DE CUVE ET LEVAIN :
ÉLEMENTS PRATIQUES DE MISE EN OEUVRE

A. POULARD

IFV Val de Loire, Château de la Frémoire, 44 120 Vertou

La flore levurienne engagée dans les fermentations spontanées présente généralement une grande complexité. Initialement localisée sur la cuticule de la baie de raisin, elle s'enrichit progressivement par contact de la vendange avec le matériel de transport et au cours des opérations de convoyage et de traitement à la cave. Dans ce cortège floristique composite, où bactéries lactiques, bactéries acétiques, et moisissures se retrouvent, la présence inopinée de levures industrialisées (levures sèches actives ou LSA) contaminant les substrats (tels que les matériels…) en amont ou dans la cave ne peut être exclue.

1. Des contraintes importantes pour un succès aléatoire

La réussite de telles fermentations nécessite la mise en œuvre et la maîtrise totale de moyens appropriés :

- choisir une vendange de qualité sanitaire indiscutable,
- rechercher un niveau hygiène élevé des locaux couplé à l'utilisation de matériels de vinification, si possible spécifiques,
- retenir de préférence les premiers lots de vendanges récoltés, la pression microbienne étant moins forte dans les locaux et sur le matériel œnologique,
- adapter le sulfitage (3 à 5 g/hl) pour sélectionner les souches de levures les plus performantes.

Pour la vinification en blanc, après débourbage et en l'absence de l'introduction d'un pied de cuve, le temps de latence avant le départ en fermentation peut parfois atteindre plusieurs jours, augmentant ainsi les possibilités de contaminations (aéroportées , par contact…). Dans la cave, l'utilisation de matériels non spécifiques (pompes, tuyaux) pour les opérations de remontage et les drapeaux pour maîtriser la température reste un maillon sensible pour la maîtrise globale des pollutions.

Afin réduire au maximum les possibilités de contaminations dans les locaux de cuverie, quelques règles de base doivent être mises en œuvre :

- si possible disposer d'un local spécifique pour conduire séparément fermentations spontanées et dirigées,
- utiliser également dans chaque local les pompes, les tuyaux comportes et en général le petit matériel servant pour le chargement en moût des cuves, les soutirages et les chaptalisations,
- pour les maîtrises thermiques, envisager un équipement spécifique par cuve.

2. Le protocole de préparation de pieds de cuve de levains indigènes

L'inoculation des moûts avec des pieds de cuve vise à :

- pallier la déficience de la microflore naturelle induite par l'apport de SO2 ou par la présence d'éventuels résidus de produits phytosanitaires présents dans le moût par l'apport d'une flore déjà acclimatée de manière à initier plus rapidement le démarrage en fermentation,
- éviter les difficultés d'achèvement de la fermentation,
- éviter l'attente de la phase de prémultiplication, ce qui laisse donc peu de chance au développement de micro-organismes d'altération.

Le consortium levurien choisi pour le développement du pied de cuve doit être de valeur technologique indiscutable pour assurer une fermentation harmonieuse et complète. A défaut d'avoir une connaissance précise de la flore impliquée, il convient de choisir pour la réalisation du pied de cuve une vendange issue des parcelles dont les moûts ne présentent généralement pas de difficulté en fermentation spontanée. Au même titre que les fermentations spontanées, les levains destinés à la mise en œuvre de pieds de cuve peuvent être occasionnellement contaminés par des levures industrielles présentes.

L'addition d'un levain issu d'un pied de cuve a pour but de favoriser les levures spontanées afin qu'elles restent dominantes pendant toute la durée du processus fermentaire. Elles doivent prendre le pas sur les souches de levures dites « indésirables » et éviter l'intervention prématurée des bactéries lactiques.La propagation généralisée des levains liquides tels qu'ils étaient pratiqués il y encore 60 ans n'ont pas fait l'objet de travaux récents.

La réussite du levurage est conditionnée par l'utilisation des levains lorsque les cellules sont dans un état physiologique favorable à leur développement. L'idéal est de réaliser l'ensemencement vers la fin du stade de multiplication afin de concilier l'état d'activité avec une densité cellulaire suffisante. Ces conditions sont en général obtenues 24 à 48 heures après le premier dégagement gazeux suivant l'ensemencement.

Contrairement à l'inoculation des LSA l'utilisation des levains indigènes ne permet pas d'obtenir une bonne reproductibilité de la flore des moûts inoculés , et donc une constance de qualité dans les vins, laissant une grande part au hasard des contaminations dans les chais

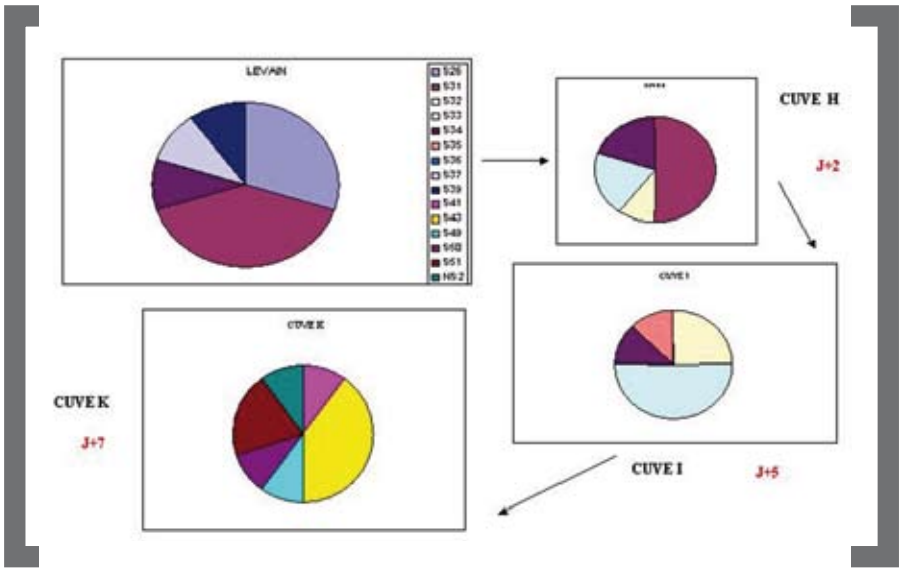


Figure 1 : Flores composites de cuves ensemencées avec le même levain
Légendes : S= *Saccharomyces*, NS = non-*Saccharomyces*
Levain, Cuve H à j+2 , Cuve I à j+5, Cuve K à j+7

3. Des contraintes économiques supérieures par rapport à l'utilisation des levures industrialiées

Cet aspect est relativement difficile à chiffrer dans le sens où avec l'utilisation des levains indigènes, des contraintes particulières interviennent dès la phase pré-fermentaire jusqu'en fin de vinification. Le tableau 1 suivant résume l'ensemble des sujétions liées au mode de levurage.

Globalement, le levurage direct - plus facile à réaliser sur des volumes industriels - assure une régularité en terme de qualité intrinsèque des produits.

Dans le cas de la mise en œuvre d'un levain indigène, les contraintes techniques sont telles que le manque de rigueur et de professionnalisme peuvent aboutir à des résultats très insuffisants, conduisant à une perte de valeur marchande très préjudiciable pour l'élaborateur. Cette dernière technique doit être privilégiée pour la réalisation de cuvées spéciales ne mettant en œuvre qu'un volume minoritaire au sein de l'exploitation.

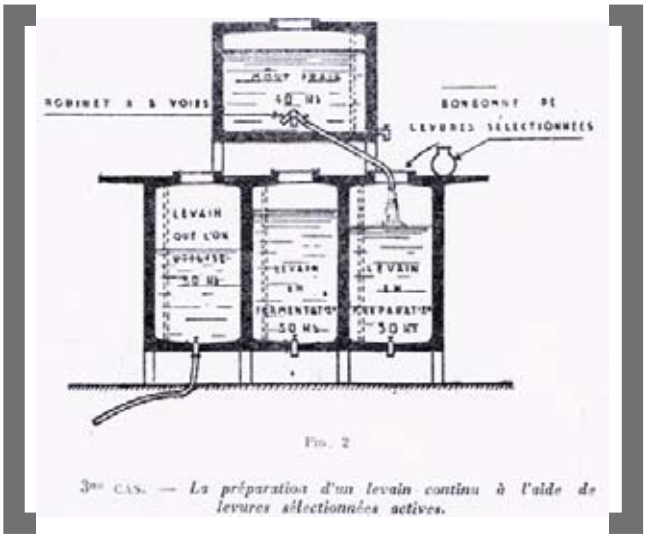


Figure 2 : Technique de levurage préconisée par MARTEAU et GALZY (ICV 1954)

Tableau 1 : Comparaison fermentation spontanée / fermentation dirigée sur les points clé de la vinification

Stade d'élaboration	Utilisation des LSA	Utilisation d'un levain indigène
Réalisation du levain	-	Récolte anticipée (8 à 10 jours) et surveillance de la croissance
Pureté de l'inoculum	Garantie et reproductible	Le moût de raisin est chargé de manière variable en micro-organismes. L'implantation d'un levain est possible mais non garantie.
Phase de latence	Liée à la souche utilisée et aux facteurs du milieu	Quasiment absente si les conditions de milieu (sucres, SO2, température…) du levain et du moût à ensemencer sont proches
Incorporation des souches	Mise en œuvre aisée, volumes faibles à utiliser ne nécessitant pas de pompe	Le respect des contraintes est plus délicat : utilisation de pompes, de tuyaux et de cuvons. Temps de travail plus important (multiplication en cascade)
Reproductibilité	Facilité de constance dans la maîtrise ; qualité des LSA constante ; inoculum toujours réalisé avec une population connue	Le niveau de population est variable et dépend de l'état physiologique des souches. Difficulté d'obtenir un inoculum aux caractéristiques constantes.
Hygiène	Les sources de contamination sont faibles (bac de réhydratation).	**C'est la contrainte la plus lourde** : L'utilisation de grandes cuves pour préparer les pieds de cuve pendant des laps de temps conséquents, l'utilisation de pompes et tuyaux pour les transferts multiplient les risques de contamination. Un plan d'hygiène rigoureux est indispensable. Les moyens à mettre en œuvre sont quasiment doublés pour assurer au minimum la pureté des levains.
Niveau de population apportée	A la dose de 10 g/hl les populations apportées sont régulières (1 million de cellules/ml)	Il faut apporter au minimum 5% du volume de la cuve en levain pour assurer un départ en fermentation du moût.
Respect de la matière première	Les faibles volumes de LSA respectent les efforts de sélection de la vendange	Le volume de 5% apporté ne possède pas forcément le même niveau qualitatif que la matière à ensemencer. L'ajout du levain en vinification en rouge peut conduire à une dilution de la couleur, de même que l'apport de bourbes en vinification en blanc et en rosé.
Contraintes de main d'œuvre	Coût facilement mesurable ; opération nécessitant peu de main d'œuvre et de matériel de cave	Le coût réel est difficilement calculable, les coûts en main d'œuvre et en matériel sont quasiment doublées, et l'inoculation du levain est beaucoup plus contraignante.
Qualité des vins obtenus	Régularité de la qualité des produits obtenus (écrêtage des défauts liés à une mauvaise mise en fermentation)	Incertitude de la qualité des levains susceptible de conduire à des problèmes d'achèvement de la fermentation, avec possible perte de qualité et de valorisation (label) pour le produit.

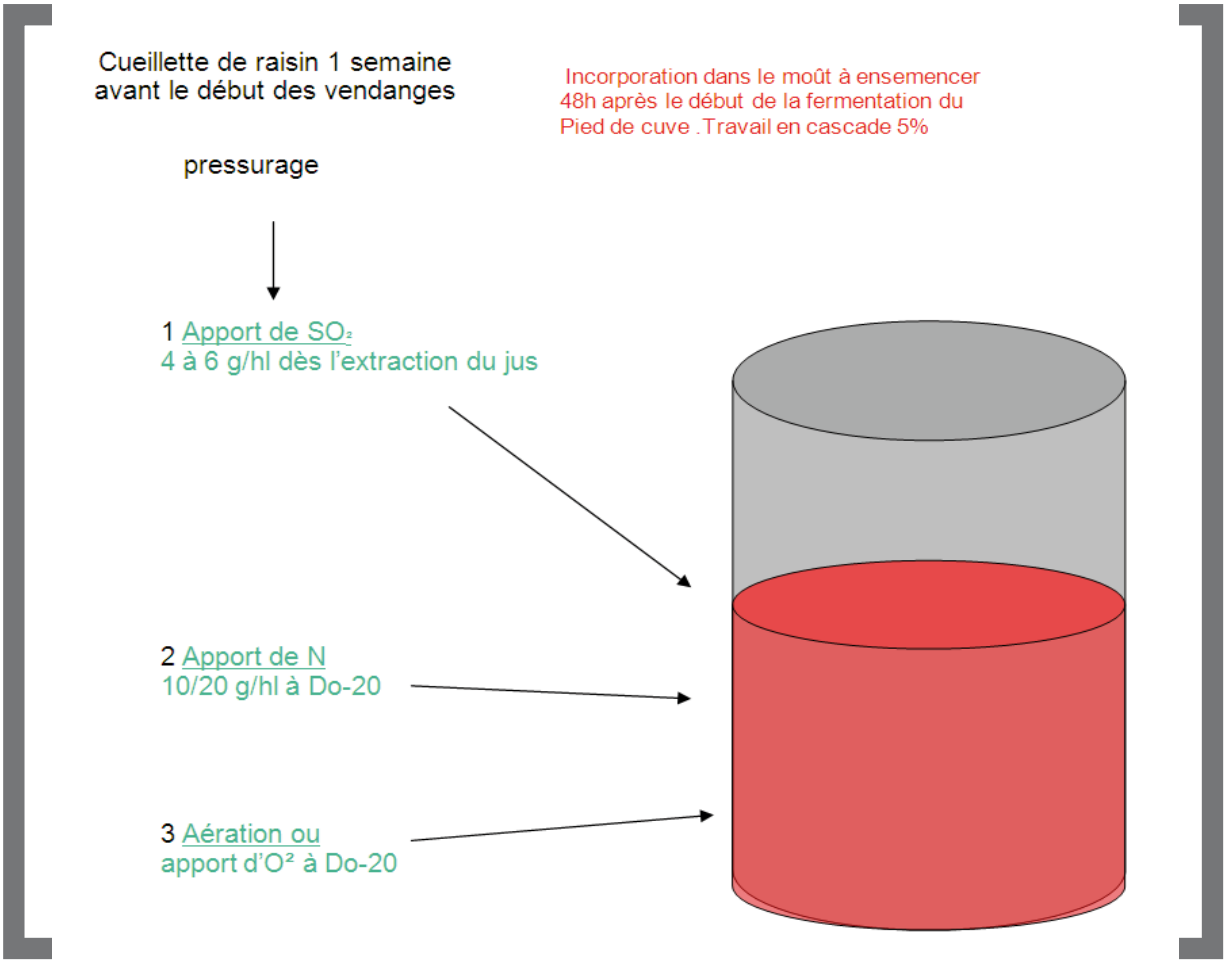


Figure 3 : Préparation du pied de cuve

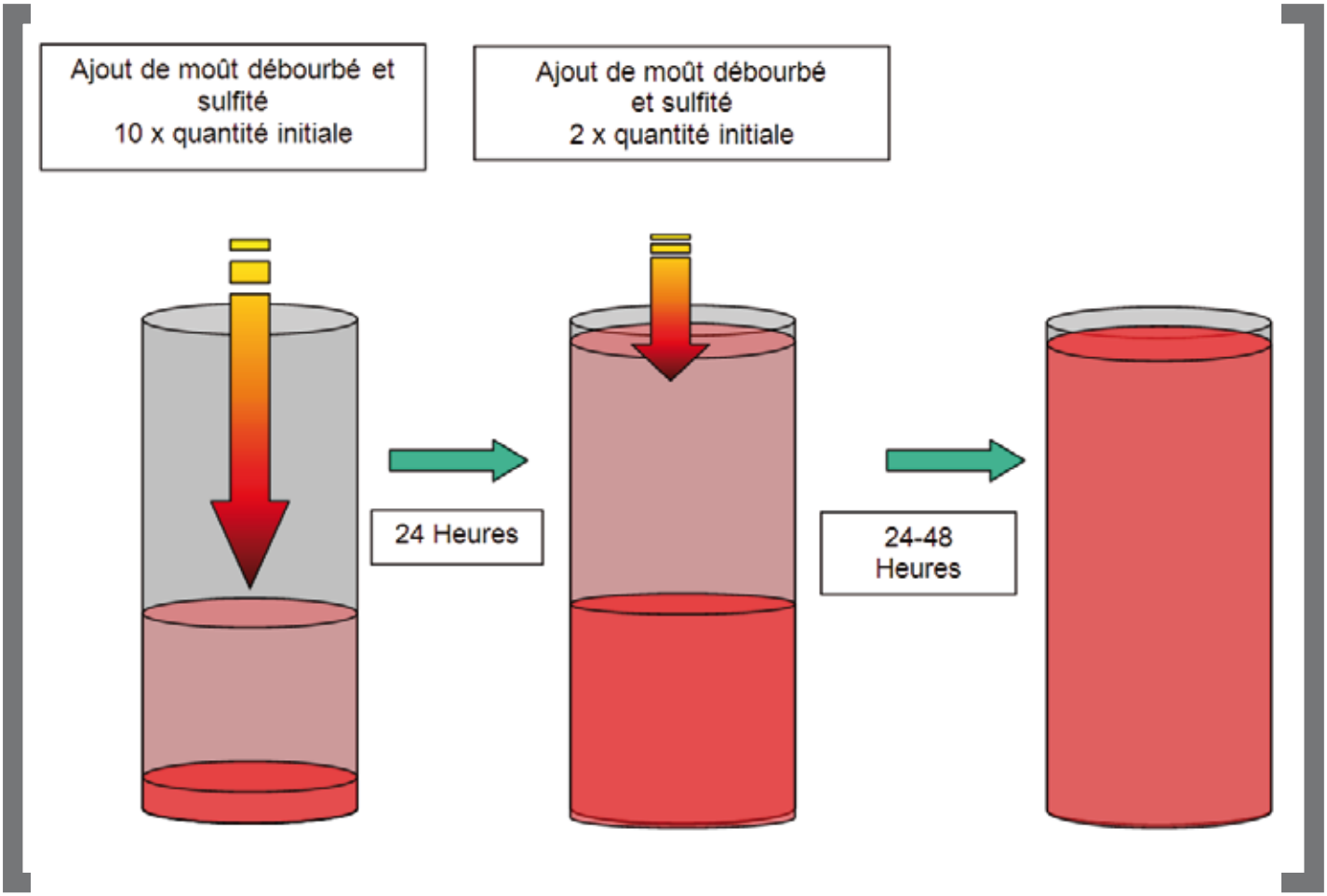


Figure 4 : Propagation du levain dans la cuverie

HYBRIDATION ET OGM : LE POINT SUR LES STRATÉGIES D'AMÉLIORATION DES LEVURES

B. BLONDIN

Prof. Montpellier SupAgro
UMR Sciences Pour l'Oenologie INRA-SupAgro-UM1
Equipe Microbiologie
2 place Viala, 34060 Montpellier, France

Introduction

Le souci d'une meilleure maîtrise des procédés ainsi que des caractéristiques des vins, associé à des connaissances plus fines de leurs déterminants, biologiques, biochimiques, se sont traduit par des exigences plus fortes et plus précises vis à vis des levures de fermentation. Jusqu'à présent les réponses à ces exigences ont été principalement apportées par la sélection de nouvelles souches à partir d'isolats de flores fermentation. Ceci a conduit à une large offre de souches avec des propriétés spécifiques aujourd'hui disponibles sur le marché. Toutefois, les souches issues de la sélection ne répondent pas toujours aux demandes des œnologues, celles-ci toujours plus précises, et qui correspondent souvent à des combinaisons de propriétés rares ou extrêmes. Des réponses à ces demandes pourront être apportées par des travaux de génétique classique (l'hybridation) qui visent à introduire dans des levures œnologiques des caractères spécifiques pour disposer de souches mieux adaptées aux conditions de vinification. D'un autre coté, il existe un fort potentiel d'amélioration des souches par les voies de l'ingénierie génétique. Ces approches sont plus précises que les techniques d'hybridation et s'affranchissent des barrières d'espèces. Elles permettent d'introduire des aptitudes totalement nouvelles, absentes chez l'espèce S. cerevisiae, dans les souches oenologiques. Ces techniques sont donc à même d'apporter des solutions nouvelles, inaccessibles par l'hybridation, qui peuvent être très utiles pour aider la filière à faire face aux nouveaux défis qu'elle devra affronter.

1. L'hybridation : le retour de la génétique classique

L'amélioration des souches de levures industrielles par hybridation n'est pas nouvelle. Divers travaux de génétiques des années 70 – 80 ont montré qu'il était possible de d'améliorer certains caractères par des stratégies basées sur le croisement de souches (Snow, 1984). Toutefois, l'amélioration des souches par ces méthodes s'est rapidement heurtée à différentes difficultés : la faible capacité de sporulation des souches œnologiques, la prépondérance de l'homothallisme qui rend délicats les croisements, le caractère polygénique des traits technologiques qui rend complexe leur amélioration. D'un autre coté, les perspectives offertes par les techniques de génie génétique ont relégué un temps (1990 - 2000) les méthodes de génétique classique au second plan de la scène. Différents facteurs ont récemment conduit à un regain d'intérêt pour les approches génétiques. Le premier est lié aux questions d'acceptabilité des OGM qui ont fait reculer les perspectives d'applications immédiates de ces techniques dans les filières agro-alimentaires. D'un autre coté, différentes avancées ont redonné un nouvel élan aux approches de génétique conventionnelle. Les stratégies génétiques se sont affinées et de nouveaux outils, issus des technique d'analyses des génomes (en particulier les puces à ADN) ont apporté des moyens puissants pour suivre les effets des interventions (identifier les régions de génomes transmises). Un autre élément important a été l'introduction, chez la levure, des concepts de la génétique quantitative, qui ont apporté les outils intellectuels nécessaires pour appréhender les caractères complexes que sont les propriétés technologiques.

D'abord expérimentées sur des objets d'intérêt théorique (Steinmetz et al, 2002), ces approches ont été par la suite appliquées à des levures œnologiques. Plusieurs travaux récents ont montré que des stratégies d'amélioration par croisement s'appuyant sur ces outils permettaient d'obtenir des souches améliorées pour des traits technologiques (Marullo et al, 2006, Marullo et al, 20007). Les stratégies mises en œuvre reposent sur l'identification de régions du génome ou QTL (pour Quantitative Trait Locus) qui affectent le caractère analysé que l'on veut transférer. Ceci est généralement obtenu par des « rétro-croisements » qui permettent de réduire la part de génome « étranger » portant le (ou les) allèles (gènes) favorable(s) dans la souche d'intérêt. Cela peut directement conduire à des souches avec des propriétés modifiées mais, surtout, grâce aux outils de génomique, les puces à ADN, il est alors possible d'identifier les régions de génomes introduites et potentiellement, les gènes impliqués dans le caractère transféré. Cette information peut être ensuite utilisée pour suivre l'allèle (le gène) d'intérêt, on dispose de marqueurs, et les travaux d'hybridation deviennent alors dirigés et plus aisés. Ces approches devraient donc permettre, à la fois, une meilleure valorisation de la biodiversité naturelle, mais aussi, apporter des connaissances nouvelles sur les déterminants génétiques des propriétés technologiques des souches.

2. L'ingénierie génétique : un potentiel d'amélioration des souches important

On rassemble sous la terminologie d'ingénierie génétique toutes les opération de transfert de gènes qui nécessitent la manipulation d'ADN in vitro. Ces techniques permettent, d'une part de transférer des gènes nouveaux isolément, quelle que soit leur origine, mais aussi d'intervenir de manière très précises sur un génome existant, pour en modifier un gène ou son fonctionnement. Elles permettent donc d'aller bien au delà de ce qu'offre la biodiversité naturelle et le spectre des applications est beaucoup plus large que celui de l'hybridation. De nombreux travaux de recherche ont été conduit dans cette perspective au cours des 15 dernières années. La plupart d'entre eux en sont restés au stade de la démonstration de faisabilité et de modèle de laboratoire, toutefois, dans quelques cas ces améliorations ont conduit à des souches OGM sur le marché, exclusivement nord-américain.
Les applications peuvent se décliner en trois catégories : - l'amélioration des process de vinification, - l'amélioration de la qualité organoleptique, - l'amélioration de la qualité hygiénique (Dequin, 2004). Différents travaux relèvent d'applications du premier groupe, et parmi eux, une des premières cibles de l'ingénierie des levures, l'obtention d'une souche de levure réalisant la fermentation malolactique. Une souche finale avec cette aptitude a été construite et commercialisée au USA. Différentes applications basées sur l'introduction d'activités enzymatiques nouvelles, pectinases, cellulases, destinées à faciliter l'extraction ou la filtration ont été aussi proposées. La possibilité d'améliorer la cinétique fermentaire par ingénierie du transport des sucres a été aussi explorée (Guillaume et al, 2007). La modification des caractéristiques sensorielles des vins a fait l'objet de nombreux travaux. Parmi ceux-ci ont peut mentionner, le contrôle de l'acidité des vins par production d'acide lactique, l'augmentation de la formation des esters par action sur des enzymes impliquées dans la biosynthèse ainsi que la production d'enzymes hydrolytiques, glucosidases, visant à libérer des précurseurs variétaux. Des souches avec un rendement en alcool abaissé ont été aussi obtenues par surproduction de glycérol. Du point de vue de l'amélioration de la qualité hygiénique des vins, les travaux les plus aboutis concernent la réduction de l'urée, et donc de carbamate d'éthyle potentiel, par modification de la voie endogène de dégradation. Une souche œnologique avec cette aptitude a été autorisée sur le marché nord-américain.

La gamme des applications de l'ingénierie génétique est donc vaste. Elles traitent le plus souvent de questions qui ne sont pas accessibles par la génétique classique. Toutefois, dans certains cas les deux options peuvent être envisagées (cas de transfert de gènes au sein de l'espèce cerevisiae) et si l'une a l'avantage d'une meilleure image, l'autre apporte une précision dans les interventions bien supérieure. Les techniques d'ingénierie seront vraisemblablement indispensables pour répondre à

certains enjeux. Les souches obtenues par ces techniques relèvent des OGM, aussi il sera indispensable quelles soient précisément validées du point de vue leur propriétés. L'ensemble des outils disponibles chez la levures et, en particulier, les nouveaux outils d'analyse globale, génomique, protéomique, métabolomique, qui permettent des analyses extensives et précises devraient être très utiles pour ces évaluations.

Références

Dequin S. (2001). The potential of genetic engineering for improving brewing, wine-making and baking yeasts. Appl Microbiol Biotechnol. 56:577-88.

Guillaume, C. Sablayrolles, J.M. and B. Blondin. (2007). Molecular basis of fructose utilization by the wine yeast Saccharomyces cerevisiae: a mutated HXT3 allele enhances fructose fermentation. Appl. Env. microbiol. 73 :2432-2439.

Marullo, P. Bely, M. Masneuf-Pomarède, I. Pons, M, Aigle, M. Dubourdieu, D. (2006) breeding strategies for combinig fermentative quality and reducing off-flavour production in a wine yeast model. FEMS yeast Research. 6:268-279.

Marullo, P. Yvert, G. Bely, M. Aigle, M. Dubourdieu, D. (2007). Efficient use of DNA molecular markers to construct industrial yeast strains. FEMS yeast Research. 7:1295-1306.

Snow, R. (1984) Genetic improvement of wine yeast. In yeast Genetics, Spencer, J.F.T., Spencer, D.M., Smith, A.R.W., Edts. P. 440-459.

Steinmetz et al (2002). Dissecting the architecture of a quantitative trait locus in yeast. Nature 416:326-330.

LA CO-INOCULATION LEVURES-BACTÉRIES : INTÉRÊT ET MISE EN OEUVRE

V. GERBAUX(1), C. BRIFFOX(1) ET V. LEMPEREUR (2).

(1) IFV, UNITÉ DE BEAUNE (21200)
(2) IFV, UNITÉ DE VILLEFRANCHE / SAÔNE (69600)

Les Enjeux

La maîtrise de la fermentation malolactique (FML) intègre deux enjeux principaux : réductions des coûts et des délais de production, d'une part, et préservations des qualités sensorielles et hygiéniques des vins, d'autre part. Elle doit s'inscrire dans une problématique œnologique intégrant la gestion des risques microbiologiques et l'optimisation de l'élevage.

Un intérêt de l'utilisation de biomasses sélectionnées est de contenir la flore microbienne indigène. Celle-ci peut être préjudiciable aux qualités sensorielles et hygiéniques des vins : production de phénols volatils dans les vins rouges par *Brettanomyces*, production d'acide acétique et d'acétate d'éthyle par les bactéries acétiques. Les bactéries lactiques indigènes posent aussi problème en produisant des amines biogènes (histamine, tyramine, putrescine), ce qui n'est normalement pas le cas des biomasses sélectionnées. Pour les vins blancs, une stabilisation microbiologique précoce peut éviter une évolution oxydative non souhaitée. Dans ces conditions, il est facile de penser que des fermentations maîtrisées et rapides conduisent à la qualité optimale.

Mais, cette analyse n'est pas toujours valable. En effet, certains vins rouges de garde peuvent profiter pleinement d'un début d'élevage sans ajout de SO2. Cette phase permet une meilleure stabilisation de la couleur (particulièrement intéressant pour un cépage comme le pinot noir) ou une évolution positive des composés phénoliques. La FML ne doit alors pas être trop précoce... ni trop tardive à cause des risques microbiologiques précédemment décrits. Une affaire de compromis.

1. Le moment de l'ensemencement bactérien

Si moment du levurage est bien positionné, celui de l'ensemencement bactérien peut donc être discuté. Classiquement, il est réalisé à la fin de la fermentation alcoolique. Carencés en sucres, la population levurienne très importante pendant la FA (pratiquement 100 millions de cellules /ml) chute rapidement et laisse le champ libre pour les bactéries lactiques. Un ensemencement bactérien apporte alors environ 1 million de cellules /ml. Cette population s'accroît légèrement pour assurer la réalisation de la FML.

Le moment de l'ensemencement bactérien est donc un point clé dans la gestion de la FML : Co-inoculation levures / bactéries lactiques pour une réalisation rapide de la FML et une bonne prévention des risques microbiologiques ; Ensemencement bactérien après la fin de la FA pour une réalisation plus tardive, mais maîtrisée de la FML. L'ensemencement en cours de FA doit aussi être discuté, tandis que l'ensemencement tardif, en cours d'élevage, n'a qu'un intérêt curatif.

2. Les risques de la co-inoculation

La co-inoculation levures / bactéries lactiques pose des problèmes techniques. *Saccharomyces cerevisiae* transforme les sucres, ainsi qu'une partie de l'acide malique (entre 20 à 40%) en alcool. Pendant la phase de croissance, une petite quantité d'acide acétique est produite (de l'ordre de 0.25 g/l pour les vins secs). Les bactéries lactiques métabolisent ensuite l'acide malique en acide L lactique. En fin de FML, l'acide citrique (présent en faible quantité, env. 0.25 g/l) est dégradé, induisant une légère augmentation de l'acide acétique et une production de diacétyle. Ce dernier peut donner des notes beurrées aux vins jeunes. Si la biomasse bactérienne est trop active ou si les levures n'achèvent pas la FA, cette succession métabolique peut être modifiée. Les bactéries lactiques sont en effet capables de dégrader massivement les sucres résiduels en produisant acides acétique et D lactique. C'est la piqure lactique. Mais, pratiquement, cette altération ne peut se déclencher qu'après épuisement de l'acide malique, voir de l'acide citrique. De plus, en dessous d'un pH de l'ordre de 3.2, les bactéries lactiques régressent spontanément en fin de FML, sans dégradation significative des sucres.

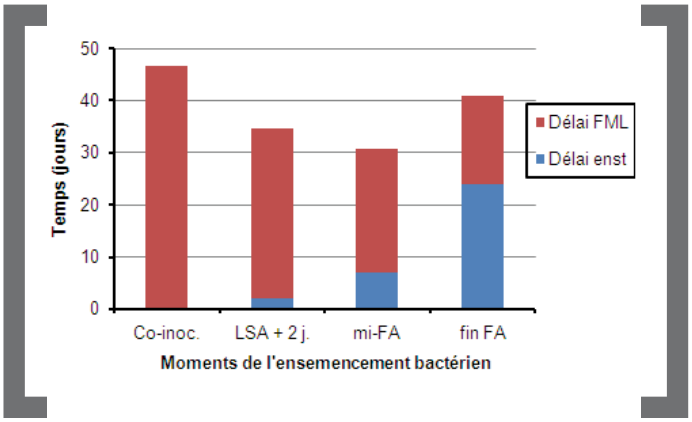


Figure 1 : Comparaison de moments d'ensemencement bactérien sur Chardonnay (pH=3.0 ; 40 mg/l SO2)

A l'inverse, les bactéries lactiques peuvent être victimes d'un milieu trop défavorable, limitant leur implantation. Dans un moût blanc, après débourbage, le SO2, sous forme libre, représente environ 30% du SO2 ajouté au pressurage. La fraction moléculaire, la plus active pour les micro-organismes, augmente pour les valeurs de pH basses, mais aussi pour des températures en hausse. Le pH joue donc un double rôle pour les bactéries lactiques : inhibiteur en temps que tel et potentialisateur du SO2. Ainsi, si on considère une limite acceptable pour les bactéries lactiques de 0.3 mg/l de SO2 moléculaire, le sulfitage au pressurage ne doit pas dépasser 25 mg/l pour un moût de pH 3.0 et 50 mg/l pour un moût de pH 3.3. Hors, pour éviter le brunissement d'un moût issu d'une vendange saine, un sulfitage minimum de 30 à 40 mg/l s'impose. Donc du point de vue pratique, pour co-inoculer un moût acide,

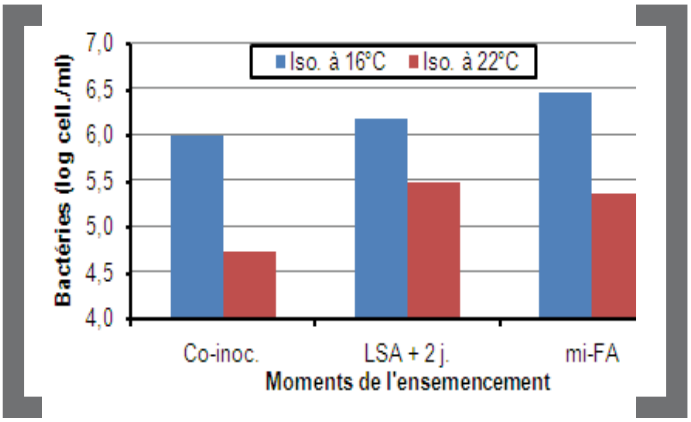


Figure 2 : Influence de la température sur l'implantation des bactéries dans un Chardonnay (populations à 10 jours)

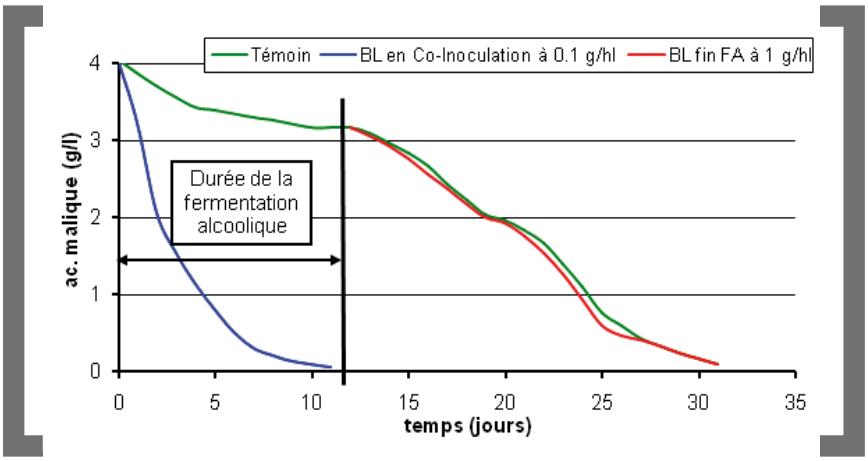


Figure 3 : Gamay vinifié en macération beaujolaise

il est donc impératif, soit de ne pas sulfiter (possible en vinification en rouge ou en blanc type chardonnay), soit de décaler l'ensemencement bactérien pour attendre la combinaison du SO2 par le métabolisme levurien. L'ensemencement séquentiel peut alors être réalisé quelques jours après le levurage, en cours de FA, ou … à la fin de la FA (Figure 1).

La température au moment de l'ensemencement bactérien est aussi un élément important à prendre en compte. Contrairement aux idées reçues, une température fraîche (maximum 16°C) favorise l'implantation de la biomasse (Fig. 2). Enfin, Il n'a pas été constaté d'effet de la souche de levure utilisée sur le délai de réalisation de la FML d'un chardonnay ensemencé en bactérie lactique deux jours après le levurage.

3. La maîtrise de la FML en Beaujolais

Les meilleurs résultats de co-inoculation levures / bactéries lactiques ont été obtenus pour les vins rouges primeurs. De nombreux travaux ont été réalisés conjointement avec l'unité IFV de Villefranche / Saône et la Sicarex Beaujolais. Deux situations ont été mises en évidence. Dans le cas de la vinification beaujolaise traditionnelle (encuvage de vendange entière), l'activité bactérienne est favorisée par le non-sulfitage et la faible quantité de jus initial. Pour éviter une situation de piqure lactique, la co-inoculation considère une dose réduite de bactéries lactiques. Il est ainsi possible de faire chevaucher les deux fermentations, sans problème qualitatif (Fig. 3). La technique de macération pré-fermentaire à chaud (MPC) est de plus en plus utilisée pour les vins primeurs. L'extraction préalable de composés phénoliques, la plus grande quantité de jus, ainsi que la macération écourtée, impose une gestion différente de la co-inoculation. Pour garder son intérêt en termes de gain de temps pour la réalisation de la FML, il est alors conseillé d'utiliser une dose normale de bactéries lactiques (Fig. 4).

Conclusions

L'intérêt de la co-inoculation levures / bactéries lactiques est fort pour les vins primeurs (notamment les vins rouges) pour des raisons de contraintes de temps. Il est fort aussi pour les vins rouges présentant des risques d'altérations microbiologiques importants.

L'intérêt de la co-inoculation est moyen pour les vins blancs, dont la raison première est de préserver les qualités sensorielles. Il est indispensable de bien appréhender les conditions d'implantation des bactéries. L'intérêt de la co-inoculation est nul pour les vins rouges à risques microbiologiques modérés qui peuvent profiter pleinement d'une première phase d'élevage sans SO2.

Il est aussi nécessaire de rappeler l'importance du choix de la biomasse dans la réussite d'un ensemencement bactérien. L'IFV sélectionne des souches de bactéries lactiques et développe des biomasses en partenariats avec des fabricants et distributeurs. Les résultats présentés ont été obtenu avec Lalvin 31, Vitilactic F et FML Expertise S, pour les vins rouges et, avec Vitilactic H+, pour les vins blancs.

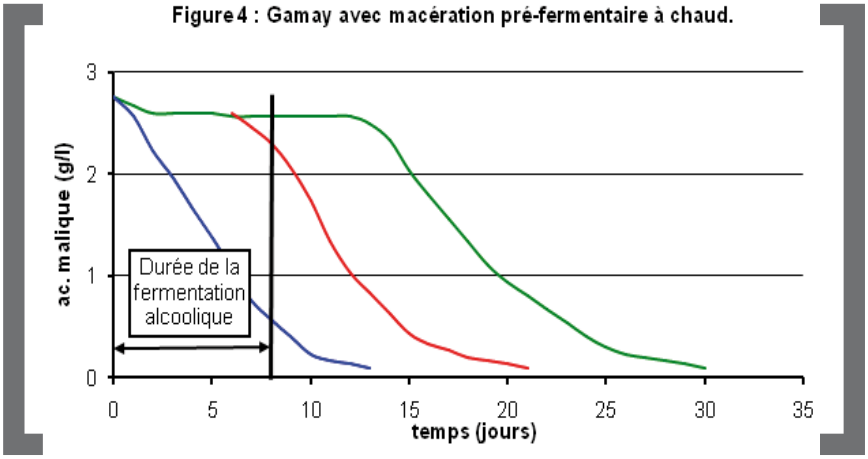


Figure 4 : Gamay avec macération pré-fermentaire à chaud

FACTEURS FAVORISANT LE DEVELOPPEMENT DE *BRETTANOMYCES*

À LA VIGNE ET AU COURS DE LA VINIFICATION

P. Taillandier[1], P. Barbin[1], JF. Gilis[2], P. Strehaiano[1],

[1] Laboratoire de Génie Chimique, UMR INP/CNRS 5503, 5 rue Paulin Talabot, 31106 Toulouse Cedex, BP 1301, France

(2) SARL Oenodev, 32400 Maumusson, France

La levure du genre *Dekkera/Brettanomyces* est reconnue comme un agent problématique dans le monde vinicole (Loureiro et al. 2003, Henick-Kling 2003). Responsable lors de développement sur moûts, sur vins en cours ou vins finis de déviations organoleptiques marquées (notamment dues aux phénols volatils ; odeurs animales, pharmaceutiques, …, Chatonnet et al. 1992), cette levure engendre une diminution non négligeable de la qualité des produits. La problématique *Brettanomyces* est donc plus que jamais au cœur de multiples études. Mais de nombreuses questions restaient sans réponse et peu d'informations pratiques étaient disponibles au démarrage de notre étude.

En étude préliminaire à ce travail nous avons donc commencer à mettre en évidence la présence de *Brettanomyces* à divers points de la chaine de production de vin, depuis la vigne jusqu'au vin en bouteilles. Pour cela nous avons mis au point un test de détection sensible consistant à l'utilisation de milieux gélosés spécifiques après enrichissement.

Puis nous nous sommes alors intéressés aux facteurs pouvant favoriser la présence et le développement de ce contaminant dans un contexte œnologique.

1. Etudes des facteurs à la vigne.

Des études ont montré que la vendange peut être la source majeure de *Brettanomyces* (Renouf et Lonvaud-Funel 2006, Barbin et al. 2007, Barbin et al. 2008). Un programme de recherche, comprenant la mise en place d'une procédure complète de détection, a donc été entrepris pour vérifier la présence de *Brettanomyces* au vignoble de Buzet et d'en préciser les facteurs favorables. L'utilisation de rangs expérimentaux sélectionnés et la mise en place d'une parcelle pilote de Merlot ont permis de tester l'impact de différents facteurs à la vigne sur la présence du contaminant.

Différentes conditions d'humidité (avec des lignes d'arrosage) et l'emploi de traitement anti-*Botrytis* se sont avérés être des facteurs influant sur le développement de la levure au sein de la microflore du raisin. Une humidité forcée au niveau des grappes (+24 mm/semaine et +180 mm/semaine pendant 3 semaines avant récolte) s'accompagne en effet d'une probabilité de présence supérieure en comparaison à l'humidité naturelle de 81 mm totaux sur 6 semaines. L'emploi supplémentaire de traitement anti-*Botrytis* à base de procymidone (1,5 L/ha à 500 g/L, 3 fois réparties sur 15 jours avant vendange) semble réduire cette même probabilité de présence. Alors que la présence de *Brettanomyces* ne semble pas liée à celles d'autres micro-organismes comme les bactéries acétiques et les champignons filamenteux (*Penicillium* et *Aspergillus*), les expériences menées montrent qu'elle est corrélée à celle de *Botrytis* pour l'humidité forcée la plus faible.

D'une façon plus générale, nous montrons donc que des facteurs susceptibles de modifier l'intégrité de la baie ont une influence sur la présence de *Brettanomyces* dans le vignoble.

2- Effet de certains adjuvants œnologiques lors de la vinification.

L'œnologue a à sa disposition de nombreux adjuvants œnologiques pour corriger les moûts ou les vins, et éviter les carences nutritionnelles pour la levure. Ces composés sont reconnus pour stimuler la fermentation alcoolique ou modifier la qualité organoleptique du produit final, mais peu d'études s'intéressent à leurs conséquences sur le développement de population microbienne indésirable telle que *Brettanomyces*. Nous avons étudié l'influence d'ajouts de tels composés couramment utilisés en œnologie sur la croissance et la production de phénols volatils par le contaminant : le sulfate d'ammonium (permettant de faire varier la teneur en azote assimilable), la thiamine (vitamine B1) et les tannins œnologiques. Les essais ont été menés avec un milieu de culture synthétique type moût en fin de fermentation alcoolique (dépourvu de poly-phénols), et la réaction de plusieurs souches de *Brettanomyces bruxellensis* à ces adjuvants (à des concentrations proches des teneurs résiduelles après fermentation alcoolique) a été évaluée en laboratoire.

Le tableau 1 donne pour les différents adjuvants considérés (aux concentrations indiquées) la population maximale (pour un inoculum à 106 cell/mL) ainsi que la concentration de 4-ethyl-phénol produite à partir de 5 mg/L d'acide para-coumarique (précurseur). La souche testée a été isolée d'un vin contaminé en cours de vinification en 2004 à Buzet.

Tableau 1 : Effets d'adjuvant oenologiques sur le développement de *Brettanomyces* lors de cultures sur milieu synthétiques

aduvant testé	population maximale (millions de cell/ml)	teneur en 4-éthyl-phénol (mg/l)
témoin : azote assimilable=120 mg/l	170	2.383
Azote asssimilable bas = 60 mg/l	200	1.595
Témoin + thiamine à 0.6 mg/l	230	1.627
Témoin + tannins de raisin à 2g/l	250	0.918

Nous montrons alors que la thiamine (employée à 0,6 mg/L) est un fort stimulateur de croissance chez *Brettanomyces* mais diminue un peu la production d'éthyl-phénol (-30%).

Les tannins œnologiques (mélange de pellicule et de pépins de raisin) stimulent également la croissance de *Brettanomyces* et provoquent une diminution notable (-60%) de la conversion du précurseur en phénol volatil. L'azote assimilable élevé a une influence positive sur la production de phénols volatils sans fortement affecter la croissance pour la souche testée.

Ces résultats, suggèrent par ailleurs que la croissance et la production de phénols volatils sont chez *Brettanomyces* deux phénomènes non couplés puisque l'un peut être favorisé par l'ajout d'un composé et pas l'autre.

Pour la première fois, ces travaux montrent que des adjuvants classiquement employés en œnologie peuvent jouer le rôle de facteur aggravant de la contamination par la levure *Brettanomyces*.

Conclusion

Ces travaux originaux ont permis de cibler, à deux niveaux du schéma de la vinification, l'effet de facteurs sur le développement du contaminant *Brettanomyces*.

Ainsi, ces études suggèrent donc que la gestion de différents paramètres à la vigne et des choix dans les traitements des vendanges pourront dans le futur être une clé pour limiter l'apport de nouveaux contaminants dans les chais.

Par ailleurs, une mise en garde peut alors être formulée à l'égard des acteurs vinicoles dans la manière de gérer ces pratiques œno-techniques de complémentation, avec une attention particulière à porter aux teneurs résiduelles lors de complémentations. Les adjuvants œnologiques bien que n'étant probablement pas des facteurs déclenchant de la contamination ne sont pas anodins quant au développement de la levure redoutée.

Références bibliogaphiques

Barbin P., Gilis J.F., Strehaiano P., Taillandier P., Revue des Œnologues, 124, 57-60, 2007.

P. Barbin, J.L. Cheval, J.F. Gilis, P. Strehaiano, P. Taillandier. J. Inst. Brewing, 114, 1, 69-75, 2008

Chatonnet P., Dubourdieu D., Boidron J.N., Pons M., J Sci Food Agric 1992, 60, 165-178

Henick-Kling, T. ; Egli, C. ; Licker, J. ; Mitrakul, C.; Acree, T.E., Proceeding du 5ème Symposium " Cool climate viticulture and Oenology" 2003, Melbourne Australie.

Loureiro V., Malfeito-Ferreira, M. Int. J. Food Microbiol. Review 2003, 86, 23-50.

Renouf V., Lonvaud-Funel A., La Revue des Œnologues, 2006, 118, 27-31

DÉNOMBREMENT RAPIDE DE *BRETTANOMYCES* DANS UN VIN PAR CYTOMÉTRIE DE FLUX

V. GERBAUX

IFV, UNITÉ DE BEAUNE (21200)

Brettanomyces est une levure commune dans les caves. Différents travaux montrent que plus de 50% des vins rouges sont contaminés à un moment donné de leur élaboration. Le pourcentage de vins phénolés est heureusement nettement plus faible. L'apparition de ce défaut nécessite, outre les précurseurs disponibles, une population de *Brettanomyces* suffisante pendant un temps suffisant. Un suivi de Brettanomyces permet de mettre en évidence une croissance anormale et de prendre les mesures nécessaires, avant l'apparition du défaut sensoriel. Il faut cependant pouvoir disposer d'une méthode simple et rapide.

La cytométrie de flux n'est une technique nouvelle. Les progrès en électronique et en optique permettent aujourd'hui de proposer un appareillage performant pour un prix contenu. L'IFV, en partenariat avec le fabricant Partec, a mis au point une méthode de dénombrement des levures vivantes, appliquée au suivi de *Brettanomyces* dans les vins en cours d'élevage et en bouteilles. La base de la méthode s'appuie sur le fait démontré qu'une croissance levurienne dans un vin sec, est assimilée à *Brettanomyces*. La population est alors graduellement décroissante des lies vers la surface.

Pour disposer d'une population en état physiologique représentatif, ainsi que pour s'affranchir des contaminations extérieures et des levures de surface, un prélèvement spécifique est requis pour l'analyse. Ceci est d'ailleurs valable pour toute méthode de détermination microbiologique. Le vin prélevé doit avoir achevé la fermentation alcoolique depuis une dizaine de jour au minimum. La population de *Saccharomyces cerevisiae* est alors réduite, en mauvais état physiologique et ne perturbe pas le dénombrement.

L'analyse proprement dite consiste à mélanger l'échantillon avec un tampon et un fluorochrome, à attendre 10 minutes et à injecter dans le cytomètre de flux. L'obtention du résultat demande moins de 15mn. Il est possible de réaliser 15 analyses en une heure.

A partir d'un échantillon brut, la plage de dénombrement est de 100 à 1 million de cellules par ml, ce qui est suffisant pour le suivi d'un vin en cours d'élevage. Pour les vins en fin d'élevage ou en bouteilles, le seuil de dénombrement peut être amélioré par centrifugation de l'échantillon. L'écart-type de répétabilité est de 5.3%.

La méthode a été validée sur des vins en cours d'élevage ou en bouteilles. La référence était la culture sur boite de Pétri en utilisant un milieu spécifique pour *Brettanomyces*. Sur les 225 vins analysés, 116 présentent moins de 200 cellules/ml en cytométrie de flux. Le comptage en boite de Pétri donne en moyenne 13 cell./ml (maxi.: 182). 109 vins présentent plus de 200 cellules/ml en cytométrie de flux. Pour 90 d'entre eux, les valeurs sont fortement corrélées avec celles obtenues en Boite de Pétri (coefficient de 0.96). Pour les 19 échantillons restant (8% de l'ensemble), la cytométrie de flux indique une population non mise en évidence en boite de Pétri. L'explication peut être la présence d'une population résiduelle active de *Sc Cerevisae*, d'une contamination de l'échantillon par une flore levurienne de surface ou de matériel ou par la présence de *Brettanomyces* sous forme viable non cultivable (VNC).

La cytométrie de flux permet donc de suivre le développement de *Brettanomyces* dans les chais et de donner un degré d'urgence pour une opération de stabilisation.

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 oenologie, 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 issus 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.

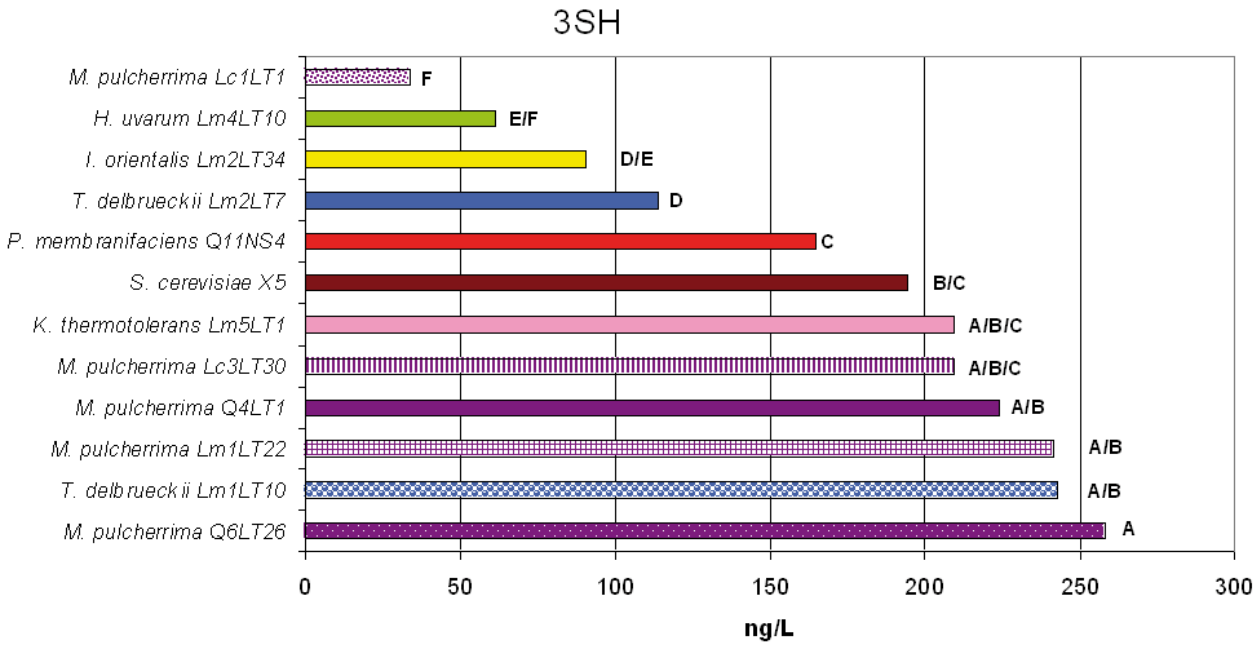


Figure 1 : Libération de la 3MSP par les levures non-*Saccharomyces* et une souche de S. *cerevisiae* dans des moûts de Sauvignon blanc à mi-fermentation, moyenne des répétitions, analyse de variance, α=0,05.

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 phenyl-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 oenologique 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 clairets de Bordeaux, mémoire n°13, Diplôme d'Etude et de Recherche de l'Université Bordeaux2, mention œnologie-ampélologie

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.

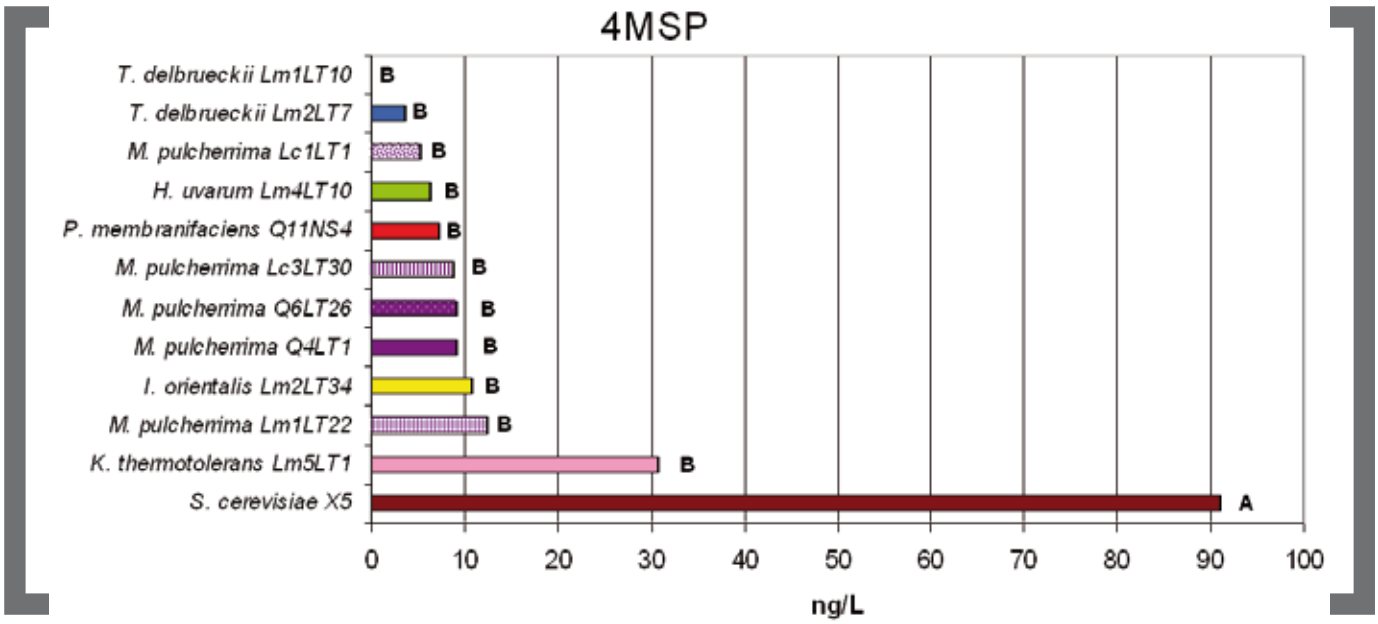


Figure 2 : Libération de la 4MSP par les levures non-Saccharomyces et une souche de S. cerevisiae dans des moûts de Sauvignon blanc à mi-fermentation, moyenne des répétitions, analyse de variance, α=0,05.

LES LEVURES IMMOBILISÉES :

UNE RÉALITÉ OENOLOGIQUE

P. Strehaiano[1], F. Centeno[2],

[1] Laboratoire de Génie Chimique, UMR INP/CNRS 5503, 5 rue Paulin Talabot, 31106 Toulouse Cedex, BP 1301, France

(2) Proenol LDA, Canelas. V.N. de Gaia, portugal

Introduction

Dès les années 1960 l'idée de fixer les « catalyseurs biologiques » c'est-à-dire les enzymes d'abord, puis les micro-organismes a assez rapidement débouché sur des applications industrielles comme les électrodes à enzymes fixées, les bactéries adsorbées en vinaigrerie, ou encore les lits bactériens en dépollution. En œnologie, même si les études en laboratoires sont nombreuses et déjà anciennes puisque déjà le Dictionnaire du Vin les mentionne en 1998, à ce jour cependant, les réalisations pratiques sont encore limitées.

1. Pourquoi immobiliser les micro-organismes ?

Au plan de la théorie, on attend de l'immobilisation des cellules microbiennes les avantages suivants :

- accroître la vitesse de réaction en augmentant le nombre de cellules présentes dans le réacteur.

- éviter la perte du micro-organisme en fin de réaction et donc avoir la possibilité de le réutiliser.

- faciliter la séparation cellules/liquide, ce qui permet soit de mettre fin à la réaction au temps voulu soit de faciliter les opérations de clarification en fin de réaction.

A ce jour, les applications en œnologie visent essentiellement ce dernier objectif.

2. Comment immobiliser les micro-organismes ?

Les procédés utilisés consistent à fixer les cellules sur un support (adsorption), à les inclure dans une matrice (inclusion), ou à les confiner dans une partie du réacteur (confinement).

L'adsorption est le procédé le plus anciennement étudié : les cellules adhèrent à un support inerte par le biais d'interactions électrostatiques. Les supports mis en œuvre sont de nature très diverse : bois, céramique, pouzzolane, bentonite…. En œnologie, une équipe grecque propose depuis longtemps l'emploi de matériaux tels que fragments de pellicule de raisins ou de divers fruits (pomme par exemple). Ces études de laboratoire présentent des résultats intéressants mais à ce jour il n'y a pas de développement industriel.

L'inclusion consiste à incorporer les cellules microbiennes dans la matrice d'un polymère plus ou moins rigide, synthétique (polyacrylamide par exemple) ou naturel (protéine comme la gélatine ou polysaccharide comme la cellulose, l'agar-agar ou les alginates). C'est à ce jour la seule technique qui ait un réel développement industriel.

Le confinement vise à confiner les micro-organismes, dont la concentration peut être très élevée, dans une partie du réacteur grâce à une barrière physique comme une membrane de microfiltration ou une fibre creuse. Ce procédé a été testé avec succès en oenologie, pour l'élaboration des vins effervescents, mais pour des raisons de coût a été vite abandonné.

Enfin, bien qu'il ne s'agisse pas à proprement parler d'une immobilisation, on peut rapprocher de ces techniques celle de la floculation. Ici les cellules microbiennes se lient entre elles par des ponts ioniques établis entre des sites des parois cellulaires et les cations présents dans le milieu. Dans certains cas, en particulier chez les levures, il peut se former de véritables ponts mycéliens entre les cellules. En vinification, des levures agglomérantes sont déjà utilisées pour la prise de mousse des vins effervescents en vue de faciliter le dégorgement.

3- Les applications actuelles en oenologie

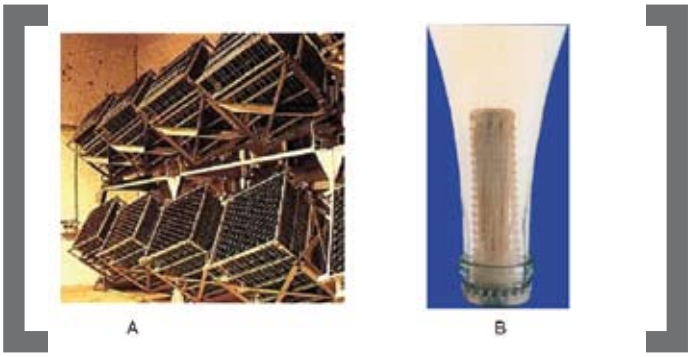
L'emploi de micro-organismes immobilisés est possible pour résoudre les problèmes très spécifiques liés à la prise de mousse des vins effervescents, à la maîtrise de l'acidité et aux arrêts de fermentation. D'autres applications sont actuellement à l'étude.

3.1 Prise de mousse

Dans l'élaboration des vins effervescents en méthode traditionnelle l'opération du remuage qui vise à éliminer les levures en fin de fermentation est une étape coûteuse, encore effectuée manuellement dans beaucoup de cas. Le remuage mécanique est un procédé efficace et opérationnel mais qui nécessite un lourd investissement. La mise en œuvre de cellules de levures immobilisées est une alternative élégante qui a, dès les années 1970, intéressé les chercheurs. Deux approches étaient poursuivies.

- Levures confinées dans une cartouche : le système « Millispark ».

L'objectif du système est à la fois de supprimer le remuage et d'éviter la congélation du col pour éliminer les cellules de levure. Les cellules de levure sont retenues à l'intérieur d'un petit cylindre par le biais d'une membrane microporeuse. Ce cylindre est placé dans le col de la bouteille. Les échanges entre les levures et le milieu se font librement à travers cette membrane. Lorsque la fermentation est terminée il suffit de retirer le cylindre et on obtient ainsi un vin limpide. Par la suite la membrane a été remplacée par un réseau de fibres creuses (figure 1). Les essais réalisés à l'échelle industrielle ont montré que ce procédé donnait d'excellents résultats (Lemonnier et Duteurtre, 1989). Cependant son coût trop élevé par rapport à celui du remuage manuel ou mécanique a rapidement conduit à son abandon.

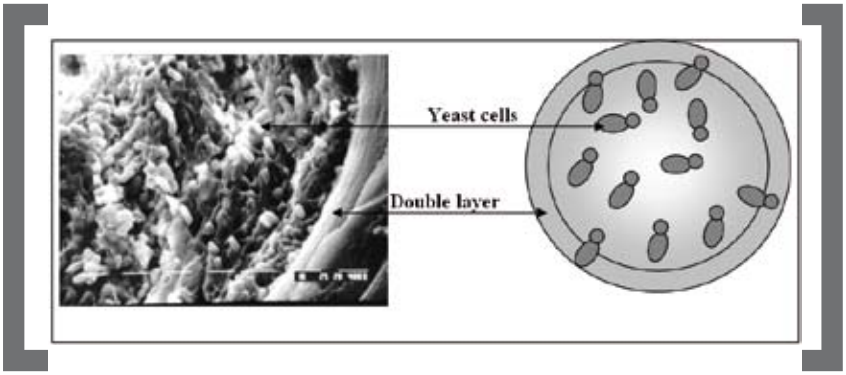


Figures 1: A dispositif de remuage mécanique ; B photographie d'une cartouche «Millispark» avec fibres creuses

- Levures immobilisées en gel d'alginate

Il s'agit ici d'emprisonner les cellules dans un gel d'alginate, polymère

naturel, non toxique et autorisé. Les premiers essais ont vite montré que pour éviter toute sortie des cellules hors de la matrice et donc leur prolifération dans le vin, il convenait d'enrober le noyau « cellules-alginate » d'une couche externe d'alginate stérile. Le produit obtenu est communément appelé « billes double-couche » (figure 2). Depuis les premiers essais, le procédé de production de telles « billes » a été industrialisé et plusieurs sociétés proposent de tels produits, d'une qualité pas toujours comparable. Par exemple, Proenol Lda avec qui nous développons ce procédé depuis 1992, propose des billes sèches, comparables aux LSA, dont l'efficacité et la durée de conservation sont garanties. La mise en œuvre est aujourd'hui parfaitement maîtrisée, y compris l'introduction des billes dans la bouteille au moment du tirage. Les essais réalisés ont largement démontré que la qualité du produit obtenu était en tous points comparable à celle de vins élaborés par remuage. L'avantage de cette technique est de ne nécessiter ni main d'œuvre spécialisée ni investissement en matériel ou locaux et donc de permettre au producteur de s'adapter rapidement aux besoins du marché. A ce jour on peut estimer à près de 10 millions le nombre de bouteilles élaborées par ce procédé, tant dans les appellations « méthode traditionnelle » y compris Champagne, que dans les méthodes « artisanales », comme la blanquette de Limoux par exemple. Bien sur, l'emploi de ces billes impose que le vin soit parfaitement stable vis-à-vis de tout développement microbien comme des risques de précipitations, tartriques par exemple.



Figures 2: A droite : schéma de principe d'une bille double-couche.
A gauche : coupe au microscope électronique

3.2 Maîtrise de l'acidité

Le procédé courant de dégradation de l'acide malique est la bien connue Fermentation Malo-Lactique (FML) due à *Oenococcus oeni*. Même si des progrès réels ont été réalisés dans la production de levains bactériens, la réussite n'est pas toujours assurée, tout spécialement lorsque les vins très acides ou carencés ne permettent pas le développement des bactéries. L'emploi de levures du genre *Schizosaccharomyces* qui réalisent la Fermentation Malo Alcoolique (FMA) a été envisagé dès les années 1970. Le moût est ensemencé en *Schizosaccharomyces* avant la FA et lorsque le pH a atteint la valeur souhaitée, un apport massif de levures Saccharomyces est effectué, ceci afin d'éviter un trop fort développement de *Schizosaccharomyces* susceptible de conduire à de faux arômes. L'immobilisation de ces levures permet de maîtriser totalement leur activité : les billes contenant ces *Schizosaccharomyces* sont placées dans une sorte de sac poreux, lui même introduit dans la cuve à traiter (figure 3). Lorsque le pH a atteint la valeur attendue le sac est retiré de la cuve et le moût est ensemencé avec *Saccharomyces*. Les mêmes « billes » peuvent d'ailleurs être réutilisées plusieurs fois. Les très nombreux tests réalisés depuis des années ont montré la fiabilité du procédé.

3.3 Traitement des arrêts de fermentation

La reprise de fermentation d'un moût arrêté est souvent difficile à réaliser et les protocoles efficaces sont toujours lourds, impliquant la détoxification du moût et des étapes successives de préparation du levain. L'emploi de levures *Saccharomyces* incluses permet d'apporter facilement une population très importante. De plus, dans le protocole de leur production, ces levures sont abondamment pourvues en facteurs nutritionnels, ce qui leur assure une très bonne activité y compris dans des cas difficiles.

4. Perspectives de développement

Dans la bibliographie, il ressort que les utilisations à l'étude actuellement touchent :

- à l'immobilisation de bactéries lactiques afin de réaliser la FML.
- à l'immobilisation de levures non-*Saccharomyces* en vue de parfaire la maîtrise aromatique des vins.
- à la mise en oeuvre de réacteurs continus à cellules immobilisées tant pour la FA que la FML ou la FMA.

5. Situation par rapport à la législation

A ce jour, en France, la seule application explicitement autorisée concerne la prise de mousse des vins effervescents. Alors que la mise en œuvre de cellules « libres » de *Schizosaccharomyces* est autorisée, leur emploi sous forme immobilisée ne l'est pas !!! Il en est de même en ce qui concerne l'utilisation de cellules immobilisées pour le traitement des arrêts de fermentation !!! Mais tous les pays ne sont pas aussi illogiques.

Références

LEMONNIER J., DUTEURTRE B.
Un progrès important pour le Champagne et les vins de "méthode traditionnelle".
Revue Française d'Oenologie, 1989, 121, 15-26.

Nos travaux sur ce sujet

TAILLANDIER P., RIBA J.P., STREHAIANO P.
Malate degradation by *Schizosaccharomyces* yeasts included in alginate beads.
Bioprocess Engineering, 1991, 7, 141-144.

TAILLANDIER P., CAZOTTES M.L., STREHAIANO P.
Deacidification of grape must by *Schizosaccharomyces* entrapped in alginate beads : a continuous fluidized bed process.
The (Bio) Chemical Engineering Journal, 1994, 55, 29-33.

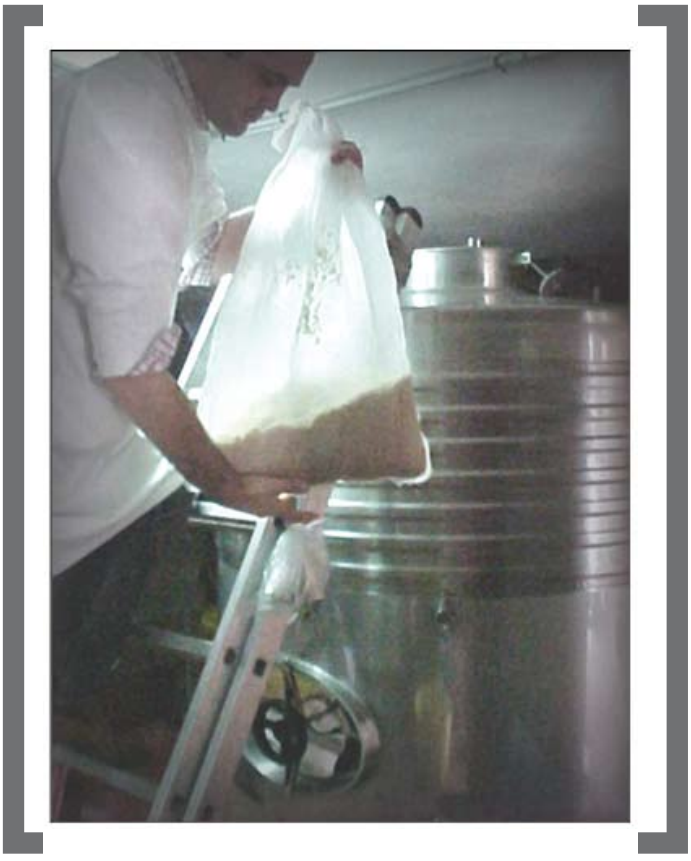


Figure 3 : utilisation de levures *schizosaccharomyces*

SILVA M. de F., SANTOS L., SILVA S., STREHAIANO P.
Producao industrial de leveduras encapsuladas para inoculacao directa-Proelif, e sua aplicacao na producao de vinhos espumantes.
Enologia, 1998, 31/32, 23-26.

SILVA S., RAMON PORTUGAL F., SILVA P., ABREU S., TEIXEIRA DA SILVA M. , STREHAIANO P.
“Démalication de moûts blancs et rouges par des levures *Schizosaccharomyces* pombe incluses dans des billes d’alginate sèches“
Revue Française d’Oenologie, 2002, 196, 18-22.

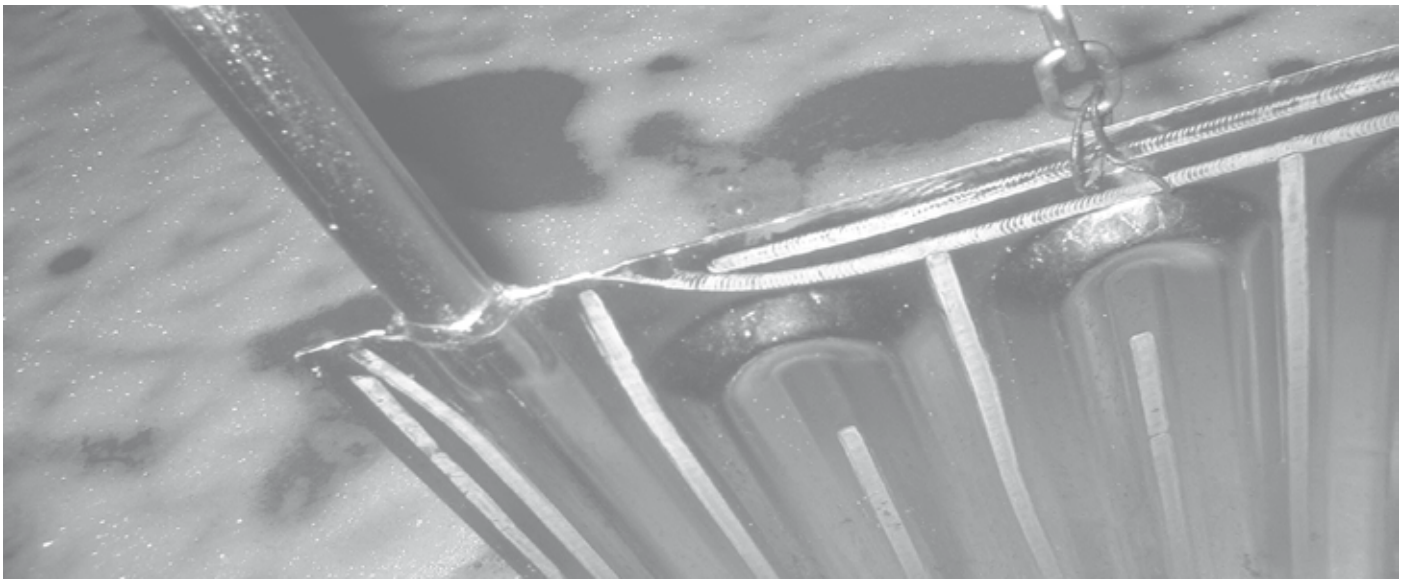
SILVA S., RAMON PORTUGAL F., SILVA P., TEIXEIRA DA SILVA M. , STREHAIANO P.
“Vinification de vin moelleux en utilisant des levures incluses“
Revue des Œnologues, 2002, 104, 23-26.

SILVA S., RAMON PORTUGAL F., SILVA P., TEIXEIRA DA SILVA M. , STREHAIANO P.
Use of encapsulated yeast for the treatment of stuck and sluggish fermentations.
Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 2002, 3, 161-168.

SILVA S., RAMON PORTUGAL F., SILVA P., ABREU S., TEIXEIRA DA SILVA M. , STREHAIANO P.
“Malic acid consumption by dry immobilized cells of *Schizosaccharomyces pombe*“
American Journal of Enology and Viticulture, 2003, 54, 50-55.

2ÈME SESSION :

GESTION THERMIQUE



CHAUFFAGE DE LA VENDANGE :

LES TECHNOLOGIES DISPONIBLES ET LES MÉTHODES DE VINIFICATION ASSOCIÉES

J-L. ESCUDIER , M. MIKOLAJCZAK , M. BES

INRA, UE 0999 Pech Rouge, F-11430 Gruissan, France

Communication présentée par Michel Moutounet

Le chauffage de la vendange est l'étape initiale de nombreuses options technologiques de plus en plus développées en France et dans le monde. Cela permet de mieux diversifier et d'adapter la qualité des vins rouge aux objectifs de l'œnologue et des attentes des consommateurs, des vins d'AOC aux vins rouge fruités plus identifiables par le cépage. Les technologies associées au chauffage de la vendange sont explicitées. Cette étude précise les paramétrages du traitement thermique des grains de raisin : quelques minutes à 95°C associé au traitement de flash détente sous vide, à quelques heures à 70°C. La gestion de la maîtrise sélective des extractions des composés polyphénoliques (ration tanin / anthocyanes) est précisée en vinification sur marc ou en phase liquide en lien avec le traitement par flash détente en particulier. Si ces technologies mettent bien en valeur le potentiel du raisin, elles ne pallient pas à ses carences.

The heating of grapes before vinification is the first step of many qualitatives technologies choices to optimize and diversify red quality wine : origine quality wine to fruity wine more referenced with grape variety. In France and in the world many developments of these technologies are in place. This study spécifie the parameters of thermal treatments : some minuts at 95°C to some hours at 70°C. In particular flash release treatment connected with high level heating temperature and liquid phase fermentation give sélective extraction of polyphénol with good ratio tanins / anthocyans . If these technologies increase grapes potentialities. they don't obliterate its defaults.

Introduction

De nombreux travaux expérimentaux ont été réalisés en France dès les années 1970, puis dans d'autres pays viticoles, sur les vinifications de vendanges chauffées ou thermo traitées. A l'époque, cette technologie avait déjà connu des succès en terme de développement.

Actuellement, les progrès technologiques et les nouvelles connaissances acquises ces dernières années remettent d'actualité les méthodes de vinification associées au chauffage de la vendange. En effet, selon les professionnels de la filière, les différentes méthodes de vinification des vendanges thermo traitées permettent de diversifier la qualité des vins et de les adapter aux attentes du marché. Il faut noter qu'en France, plus de 200 caves ont accès à ces technologies proposées par les équipementiers.

La France fait école sur la maîtrise du chauffage de la vendange pour son utilisation répandue dans les grands bassins de production tels que le Languedoc-Roussillon, la Provence, la Vallée du Rhône, le Bordelais, le Beaujolais ...L'Italie et l'Amérique du Sud ont aussi opté pour le chauffage de la vendange en investissant dans des équipements semblables aux équipements des caves françaises. Seuls certains pays viticoles de l'Europe de l'Est ou en Russie disposent quelquefois encore, pour des raisons d'économie, d'équipements différents de ceux développés en France. La différence principale se situe au niveau du système de chauffage de la vendange. Ce dernier est réalisé non pas en continu mais par batch en cuverie agitée, équipée d'une double enveloppe dans laquelle circule de la vapeur fluante. Ceci atteste, malgré cette diversité de moyens technologiques et de régions viticoles concernées de l'intérêt pour l'œnologue du thermo traitement.

Cet article s'intéresse aux options accessibles au transfert industriel et permettant à l'œnologue de garder la main en choisissant son itinéraire de vinification pour élaborer un vin à la qualité souhaitée :
Quel Chauffage : couple temps / température accessible sur vendange en fonction des équipements, à quel moment réaliser le traitement, quels traitements physiques de vendange associer.

Quelle modalité de vinification : phase liquide, phase solide ?
Quelle sera la qualité du vin en fonction de l'itinéraire choisi ?

Seules les voies faisant appel au départ, au chauffage de la vendange sont traitées et approfondies ici. La macération finale à chaud (MFC) qui consiste à terminée la phase fermentaire sur marc par une macération à 40°C deux jours ne fait pas partie de cette étude, la vendange n'étant pas chauffée initialement avant fermentation.

1. Le chauffage de la vendange : contexte et principes

Le chauffage de la vendange lors de sa mise en place massive, a fait l'objet de 10 années d'expérimentation avec le concours du CEMAGREF de Montpellier, de l'INRA-Ecole d'Agronomie de Montpellier et de l'unité expérimentale INRA de Pech-Rouge. Les résultats ont fait l'objet de rapports et de publications entre 1976 et 1986 (Bénard et al 1980, Barillère et al 1986, Olivieri 1991).L'innovation portait sur la séparation des phases d'extraction sur raisin et des phases de fermentation, et s'appliquer à des vendanges de rendement plutôt élevé. Le développement de cette technologie a été conduit alors en France par les équipementiers de la filière : Imeca, Gasquet, et actuellement Pera, Fabbri, Ertia, principalement. Les chaînes de chauffage, maintenant associées ou non à la flash détente, sont mises en œuvre, le plus souvent au niveau de grandes coopératives. Ainsi, les volumes de vins élaborés par chauffage de la vendange sont de l'ordre de plusieurs millions d'hectolitres (5 millions environ). Une des raisons du succès de cette technologie est due à l'élimination des activités enzymatiques, notamment de la laccase présente dans les vendanges d'un mauvais état sanitaire. L'autre avantage majeur concerne l'objectif de réduction des besoins en cuverie de fermentation par l'élimination immédiate de toute la masse solide (JM Desseigne et al 1998, JC Boulet et al 1998). Aujourd'hui, ces technologies ne concernent plus uniquement les raisins considérés de second niveau (état sanitaire altéré) mais l'ensemble des gammes de qualité de raisin.

En Italie et en Espagne, à l'époque, de moins bons résultats du chauffage de la vendange n'ont pas permis le même développement qu'en France. En effet, les études menées sur les 3 cépages référencés en Italie - Negro Amaro, Primitivo, Ibrido P- montrent un gain d'anthocyanes par thermo vinification, mais une perte globale de polyphénols pour les deux premiers cépages comparativement à une vinification classique sur marc (Stella et al 1991).

Classiquement, le procédé consiste après éraflage et foulage de la vendange partiellement égouttée, à chauffer le raisin. Celui-ci était porté à 65°C dans les années 1970-80, à 70°C et à 75°C ensuite. Avant 1980, le raisin était le plus souvent pressé à chaud après cette étape de chauffage. Le moût chaud était refroidi dans un échangeur tubulaire.

Après 1980, le chauffage en continu est associé à une phase de macération à chaud dont les expérimentations de l'époque conseillent une

durée de 20 à 40 minutes (Bénard et al 1980). Après cette phase de macération, la vendange était refroidie le plus souvent dans un échangeur, souvent à surface raclée puis pressée. Le jus de goutte et le jus de presse sont le plus souvent assemblés.

Les résultats obtenus au niveau extraction des polyphénols étaient les suivants : extraction équivalente au niveau des tanins à une vinification classique sur marc, amélioration des intensités colorantes et des teneurs en anthocyanes, mais perte sensible en cours de conservation des vins. Les vins obtenus correspondaient à un cycle de commercialisation court de quelques mois. La limite du procédé concernait la perte de couleur au cours des mois suivant la vinification. Ces vins ne correspondaient pas à des vins de niveau d'AOC.

En 1996, les publications internationales sur cabernet sauvignon (Auw et al. 1996) rapportaient une bonne extraction de couleur mais un déficit d'extraction en tannins, résultant de l'absence d'extraction en présence d'alcool. En Allemagne (Netzel et al. 2003), des essais ont été réalisés sur Pinot Noir, Lemberger, Cabernet Franc. Les vendanges étaient thermo traitées à 65°C puis refroidies 24 heures avant pressurage. Les comparaisons portaient sur une vinification traditionnelle sur marc et sur une vinification sur marc après chauffage de la vendange. Le gain d'extraction de cette dernière variante est faible. Le meilleur gain d'anthocyanes par chauffage est observé sur pinot noir. La phase de macération post chauffage d'une vendange refroidie permet dans l'ensemble un meilleur gain d'extraction des composés polyphénoliques.

Parallèlement au gain observé pour les polyphénols et anthocyanes, une évolution des caractéristiques sensorielles des vins issus des thermo traitements de la vendange a été mise en évidence. En effet, la clarification avant vinification des moûts de vendanges thermo traitées, permet d'obtenir des vins fruités, marqués en arômes fermentaires les premiers mois. Cette clarification a été rendue possible du fait des progrès réalisés au niveau des techniques de clarification, centrifugation, filtres rotatifs sous vide surtout, mais aussi flottation,

2. Evolution du chauffage de vendange.

2.1. La macération pré-fermentaire à chaud (MPC).

Pour améliorer les extractions à partir du raisin, avec le même équipement traditionnel, les durées de macération sont fortement augmentées, il s'agit alors de macération pré fermentaire à chaud de longue durée (MPC). Le niveau du traitement thermique est identique à celui de la thermovinification classique, le raisin est chauffé de 70° C à 75°C, la phase de macération à chaud dure beaucoup plus longtemps, jusqu'à une quinzaine d'heures.

2.1.1 MPC suivie d'un pressurage direct. (Vinification en phase liquide)

L'étude a porté sur les principaux cépages rouges présents en Languedoc Roussillon (Cottereau et al 2007), elle faisait suite à des expérimentations menées avec de bons résultats par l'IFV en Beaujolais sur gamay. Une durée minimum de 6 heures de macération avant pressurage est nécessaire pour obtenir une couleur et une teneur en polyphènols au moins identique à celle d'un vin « vinification traditionnelle ». Une durée inférieure conduit à une concentration en polyphénols inférieure au témoin. Les jus doivent être refroidis et clarifiés avant d'être mis en fermentation comme pour le thermo traitement classique. Le niveau de clarification et le choix du profil thermique pendant la fermentation sont primordiaux pour ces vins vinifiés en phase liquide. Comme pour la thermovinification classique, une régulation basse température de la phase fermentaire donne des vins jugés plus fruités de type amylique parfois.

2.1.2 MPC avec macération fermentaire.(vinification sur marc)

Dans ce cas, des gains en polyphénols (+ 25% à +45 %, exprimés en indice de polyphénols totaux-IPT) et des gains de couleur sont observés dès 2 heures de macération pré fermentaire à chaud. En revanche, il n'y a pas de gain supplémentaire au delà de 6 à 7 heures (Cottereau et al. 2007). La vendange doit être refroidie avant mise en fermentation. Le décuvage de la vendange chaude est préférentiellement réalisé en cuve autovidante. Le refroidissement est en général effectué dans des échangeurs tubulaires adaptés. C'est une des contraintes techniques de ce procédé. Son avantage est que ce schéma n'impose pas de surcoût en terme d'équipement, mais en revanche il y a un surcoût au niveau énergétique pour refroidir la masse de vendange. Au niveau olfactif, les vins obtenus sur une gamme de cépages évalués en Languedoc Roussillon par l'IFV, restent assez proches des vins vinifiés traditionnellement, sauf pour le cépage cabernet sauvignon. En effet, ce cépage est riche en 3-isobutyl-3 méthoxypyrazine, molécule thermo sensible perdue lors du thermotraitement.(molécule responsable de l'odeur de poivron vert)

A durée de MPC identique, la macération en phase fermentaire permet d'obtenir des vins plus riches en polyphénols que les lots issus de pressurage direct. Pour ces derniers, le niveau de clarification a un fort impact sur l'appréciation aromatique du vin.

2.2. La flash-détente

La flash-détente est une technique extractive qui consiste à soumettre une vendange chauffée (85°C-95°C) à une mise sous vide instantanée (50-60 hPa soit 50 à 60 mbars) (schéma 1). Ce procédé a fait l'objet de protection de brevets internationaux (Escudier et al 1993, Cogat 1993 et 95).Les référencements en cave se sont multipliés rapidement depuis 1995 pour approcher une centaine de références actuellement , tous pays confondus. La brusque vaporisation de l'eau contenue dans la baie et en particulier dans la pellicule provoque une déstructuration tissulaire qui va favoriser les phénomènes d'extraction des composés pelliculaires en l'absence d'oxygène (Ageron et al. 1995, Moutounet et al 2000). Cette vaporisation est la conséquence de la mise sous vide instantanée qui par équilibrage de la température au vide donné, refroidit toute la vendange (liquide exogène et intracellulaire) et génère cette vapeur d'eau issue de la vendange.

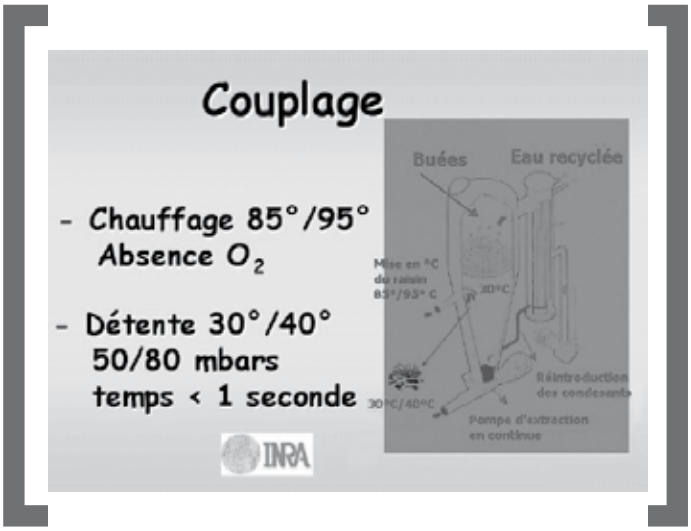


Schéma 1 : Principe de la Flash-détente

A titre d'exemple, sous une pression absolue de 60 hPa, la vaporisation d'eau de 100 kg de vendange si celle ci est chauffée à 86°C est de :

$$E = MCs.\ \Delta T/Cp$$

M : masse de vendange traitée
Cs : chaleur spécifique du moût
Cp : chaleur de vaporisation sous vide de l'eau
ΔT : différence de température entre le raisin avant et après détente
A 60 hPa la température d'équilibre est de 36°C
E = 100 x 0,875 x 50 / 570 = 7,67 kg d'eau

Cette eau est classiquement réintroduite dans la vendange sous forme de condensats, elle peut être également éliminée pour réaliser un enrichissement équivalent en proportion. Dans ce cas cela doit faire l'objet d'une déclaration d'enrichissement.

Sous le vide considéré, la vapeur d'1 kg d'eau occupe un volume de 28 m3, ajouté à l'instantanéité de la vaporisation, ceci explique l'effet déstructurant au niveau tissulaire (photo 1) et la fragmentation des pellicules. De ce fait l'extraction des composés pelliculaires, même si elle est partiellement réalisée par le traitement thermique, est nettement améliorée lors des phases de macération. Pour avoir l'effet souhaité de la flash-détente, un ΔT d'au moins 50°C est recommandé.

La vendange traitée par flash-détente est ensuite vinifiée soit en phase liquide soit en macération fermentaire sur marc.

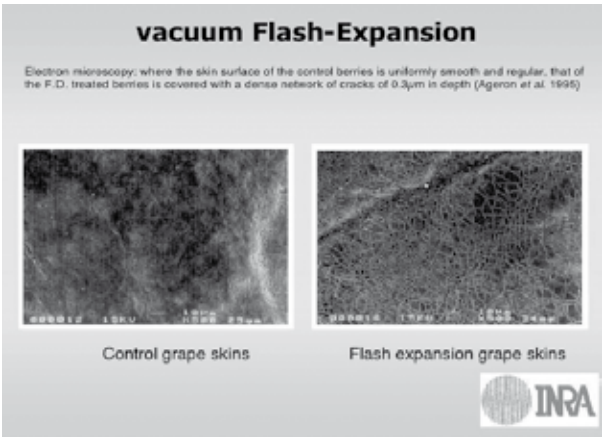


Photo 1 : Effet destructurant de la flash détente au niveau tissulaire

2.2.1 Vinification en phase liquide après flash détente

Les expérimentations réalisées démontrent clairement la faisabilité de la technique au niveau industriel (pressurage à température ambiante facile). Pour obtenir des gains d'extraction beaucoup plus importants qu'en thermovinification classique, après la phase de montée en température, une courte phase de macération a été rajoutée avant la mise sous vide (Escudier et al 2006). Ces travaux INRA complémentaires avec fermentation en phase liquide après flash-détente ont montré l'intérêt d'une courte macération à haute température (9 minutes à 95°C) avant la mise sous vide. Le schéma 2 donne les concentrations en anthocyanes, catéchine, acide phénol et proanthocyanidines du moût prélevé en sortie de flash détente avant fermentation pour ces deux paramétrages..

Les caves peuvent nouvellement par un paramétrage approprié de la technologie, procéder à un traitement de la vendange en ligne en continu avec vinification en phase liquide pour élaborer des vins à teneur élevée et plus équilibré en polyphénols. Comme précédemment, après traitement de la vendange et pressurage, les jus sont clarifiés et mis en fermentation. Les vins obtenus ont une meilleure stabilité de la matière colorante du fait de l'extraction accrue et équilibrée des tanins. Au niveau organoleptique, ces vins sont jugés ronds et fruités.

Ce procédé d'extraction est aussi adapté à l'élaboration de jus de raisin très colorés.

2.2.2 Vinification avec macération fermentaire après flash détente

La technique de prétraitement de la vendange par flash-détente et vinification en « phase solide» concerne des raisins de qualité, dans une logique «vin d'appellation». Les travaux réalisés par l'INRA portaient à l'origine sur cette approche (Moutounet et al 2000). Les gains d'extractions sont importants et équilibrés. Les expérimentations ont démontré que la typicité et la qualité des vins issus de traitement par flash-détente avec macération fermentaire, étaient évaluées comme relevant du niveau de l' AOC dont sont issus les vendanges. Les vins obtenus sont charpentés et tanniques tout en gardant leur typicité et en présentant sur vendange mûre une certaine sucrosité. La stabilité de ces vins lors de leur conservation est améliorée, ce qui rallonge la durée de vie de ces derniers. La macération fermentaire peut être réalisée sur une durée de 2 à 15 jours, suivant la qualité de la vendange et les objectifs de l'œnologue. Une macération de 3 à 4 jours permet d'atteindre l'extraction maximale au niveau du rapport tannins / anthocyanes, (Vuchot , 2004, Morel-Salmi et al. 2006). L'extraction maximum des composés polysaccharidiques totaux nécessite des cuvaisons de 10 jours .L'étude de la composition en composés d'arômes sur les esters éthyliques d'acides gras, et les teneurs en béta-ionone (cépage grenache) sont en faveur du vin issu de vendanges traitées par Flash détente (Kotséridis Y.,2002).

Ce procédé avec thermo-traitement a été référencé en particulier en zone AOC Bordeaux, Côtes du Rhône. En 2004, Inter-Rhône (Vuchot.P) a fait un premier bilan de 13 suivis en cave, menés de 1998 à 2002. Les vins référence thermotraitement modéré (85°C) associés à la flash-détente ont été vinifiés avec un temps de macération réduit de moitié, tout en permettant un gain d'extraction en polyphénols et une diminution de la nuance de 10%, signe d'une couleur moins évoluée.

Du fait de l'extraction accrue par cette technique, un soin particulier est à apporter à la qualité de l'éraflage de la vendange ainsi qu'à son stade de maturité. En effet, les feuilles, les rafles, pétioles ou une vendange en sous maturité peuvent amener des tanins durs et herbacés. Dans ce cas une fermentation en phase liquide est préconisée car mieux adaptée. Les expérimentations ont montré qu'un ajout de 10 % de rafles de carignan dans la vendange ont un impact défavorable sur la composition en polyphénols et l'appréciation organoleptique (Escudier et al, 1995)

2.2.3 Polyvalence de la flash détente au niveau extraction

Des travaux plus spécifiques ont été réalisés dans le cadre d'une étude conduite avec l'aide financière de la communauté européenne, dans le volet quality of life and management of living ressources, projet N° QLRT-2002-02364 intitulé Novel enzyme-aided extraction technologies for maximized extraction technologies yield and functionaly of bioactive components in consumer products and ingredients from byproduct, acronyme Maxfun (2004- 2006) . Les voies enzymatiques étudiées n'ont pas permis de sélectionner des préparations enzymatiques spécifiques pour accroître fortement les extractions. La voie flash détente est la méthode qui a permis les extractions les plus fortes. Cette étude menée sur 3 années par l'INRA a fait l'objet d'une publication de synthèse (Morel-Salmi et al, 2006). Les travaux de recherche ont montré que le niveau d'extraction des polyphénols peut être largement modulé selon la durée de macération à chaud avant la détente sous vide d'une part, et le mode de fermentation en phase solide ou en phase liquide d'autre part.

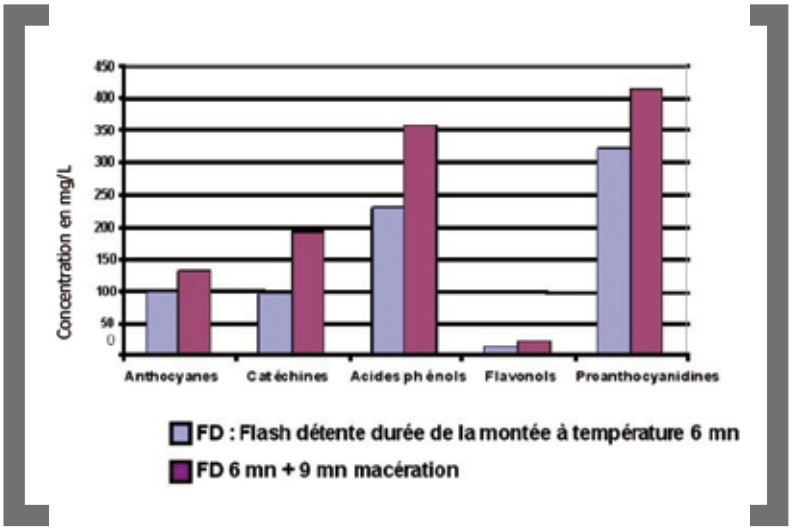


Schéma 2 : Composition en polyphénols des moûts avant fermentation, cépage grenache

Le tableau 1 précise sur le cépage grenache, en situation AOC, méridionale (Corbières , domaine Inra de Pech Rouge), le rapport tannin / anthocyane pour :

- une vinification classique, avec cuvaison de 8 jours sur vendange éraflée,
- une vinification référence flash détente standard (chauffage à 90°C suivie d'une détente, refroidissement instantané), fermentation sur marc 8 jours.
- une vinification référence flash détente avec une macération de 9 minutes à 90°C avant mise sous vide, fermentation sur marc 8 jours,
- un traitement référence flash détente standard
- et une vinification en phase liquide après traitement par Flash détente standard.

Tableau 1 : Rapport tanin / anthocyane mesuré pour différentes vinifications (cépage Grenache)

indices polyphénols	vinification classique VE	flash détente fermentation phase liquide	flash détente fermenttion phase solide	flash détente + 9 mn macération à chaud fermentation phase solide
rapport tanin/ anthocyanes	6,7 ± 0,4	3,1 ± 0,7	9,9 ± 0,3	14,5 ± 1,5
indice polyphénols totaux	27,47 ± 0,8	14,4 ± 0,5	31,2 ± 0,5	34,6 ± 0,4
intensité colorante	3,5 ± 0,2	2,2 ± 0,1	3,4 ± 0,1	4 ± 0

Le ratio tannin/anthocyanes de valeur de 6,7 pour la vinification classique est divisé par 2 pour la vinification FD en phase liquide, mais est augmenté de 50 % pour le schéma FD classique et doublé pour le schéma FD avec courte macération à chaud avant détente.

Les anthocyanes et les acides phénols sont les composés polyphénoliques qui sont extraits le plus rapidement et le plus favorablement par rapport aux autres composés polyphénoliques en vinification classique. Le tableau 1 précise les indices polyphénols et la couleur des vins obtenus. L'évolution du rapport tannin/anthocyane est liée surtout à une extraction en tannin plus forte.

Le niveau élevé de macération à 95°C, tout en permettant un gain d'intensité colorante, se traduit par un accroissement de la conversion des anthocyanes vers des pigments résultant de réactions flavanols -anthocyanes. Cela, contribue à une légère augmentation de la teinte, 0,97 par rapport à 0,93 pour la flash détente sans macération à chaud et la vinification classique (tableau 1), et à une meilleure résistance à la décoloration au SO2 (Morel-Salmi 2006).

Le schéma 3 permet d'évaluer en évolution dans le temps sur 4 options de vinification issues d'un lot homogène de vendange de cabernet sauvignon (Moutounet et al 2000).La hiérarchisation obtenue en terme de gain d'extraction est maintenue dans le temps.

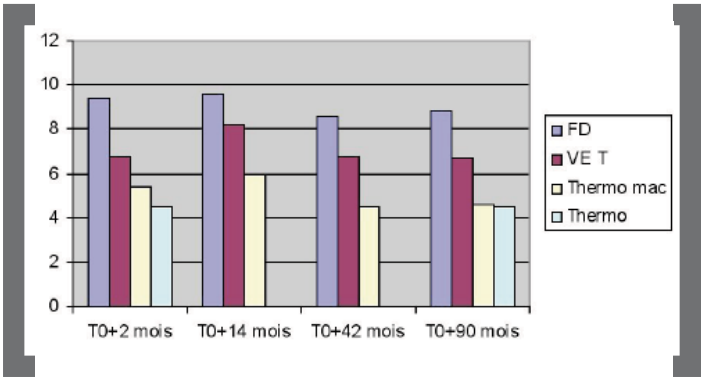


Schéma 3 : Thermo-traitements et durée de conservation

2.3. La thermo-détente.

La société ERTIA, 10 ans après le développement de la flash détente, a imaginé un dispositif dont l'objectif est d'obtenir un gain d'extraction sur raisin avant pressurage.

L'étape de thermo-détente s'intègre dans le procédé de thermovinification. Il consiste à appliquer une surpression faible (de 1 à 4 10-5 Pa) sur de la vendange chaude (68°C à 80°C), puis à réaliser une détente brutale par retour à la pression atmosphérique. La thermo-détente est réalisée dans des « bouteilles » de pression, placées entre la sortie du chauffage de la chaîne de thermovinification et la cuve de macération.

La vendange peut, comme en thermovinification classique, être vinifiée en phase liquide ou en macération fermentaire. La détente n'occasionne pas, dans ce cas, de refroidissement de la vendange, les contraintes thermiques sont donc inchangées par rapport à un thermo- traitement.

La thermo-détente permet d'améliorer les performances d'extraction instantanée de la couleur et des tanins d'une chaîne de thermovinification selon les résultats obtenus en particulier sur les cépages testés : merlot, syrah, cabernet sauvignon tout en conservant les avantages de la thermovinification (Dubernet et al 2004).

Les travaux réalisés par l'INRA concernant la mise sous pression élevée (40 à 60 10-5 Pa) suivie d'une détente à pression atmosphérique à température ambiante montrent qu'il n'y a pas de gain d'extraction significatif en cours de vinification (Osse et al 1987). La température reste le facteur d'extraction dominant en l'absence d'évaporation et non la pression même élevée.

3 . Méthodes de chauffage de vendange :

3.1 Les techniques et outils.

- Le chauffage indirect. Le moût est chauffé par un échangeur souvent de type coaxial ou à surface raclée, alimenté en eau chaude, ou en vapeur. Cela permet un chauffage en continu à 70°C-90°C. Rotathermic de Brunet-Ertia à partir d'eau chaude, surpressée. (Schéma 4). Echangeur dynamique de Pera à partir de vapeur (Schéma 5)

- Le chauffage direct, par du moût chaud. La vendange égouttée est immergée en continu dans ce moût préalablement chauffé dans un échangeur alimenté en eau chaude ou en vapeur. La vendange peut être chauffée de 65°C à 75°C (jusqu'à 90°C dans des échangeurs adaptés). Procédé Gulfstream d'Imeca Pera.

- Le chauffage direct, par fluage de vapeur. Ce système permet des montées plus rapides (4 à 6 mn) aux températures souhaitées (85°C-98°C) en l'absence d'oxygène. La vapeur est produite dans ce cas à partir d'une fraction de jus d'égouttage de la vendange. Les coefficients d'échange de chaleur à partir de vapeur sont plus élevés. Fabbri (schéma 6 et 7) , Pera . en chauffage direct ou indirect (schéma 8).

3.2 Echanges thermiques :

3.2.1 Chauffage

La quantité de chaleur transmise à la vendange est donnée par la formule : $Q = K.S.\Delta T$

Q : en Kcal/h
K : coefficient de transfert en Kcal/(h.m2.°C)
S : surface d'échange en m2
ΔT : en °C

- Chauffage par vapeur biologique fluente

Deux coefficients de transfert sont associés :
La vaporisation du jus : K1 = 1200 Kcal/h m2.°C
Le chauffage par contact de la vapeur avec la surface des baies de raisin: K2 > 3000 Kcal/h m2.°C

Le chauffage est très rapide,il est réalisé à l'abri de l'oxygène de l'air.

- Chauffage par conduction

- Chauffage indirect par tube corrugué ou échangeur à surface raclée
Le coefficient de transfert est compris entre 750 et 1100 Kcal/h m2°C
Remarque : pour une même température d'entrée du fluide caloporteur, le ΔT, dans le cas d'un chauffage avec de la vapeur basse pression, est plus important que dans le cas d'un chauffage à l'eau pressurisée. En effet, la température est maintenue tout le long de l'échangeur avec de la vapeur condensante alors qu'elle baisse avec de l'eau pressurisée. De ce fait, il faut pour un même échange, 22% de surface supplémentaire avec de l'eau pressurisée qu'avec de la vapeur basse pression.

- Chauffage direct par contact du jus chaud
Le coefficient de transfert est au mieux de 750 Kcal/h m2°C

La quantité de calories nécessaires au chauffage de la vendange est donnée par la formule : $Q = M.Cs.\Delta T$

Q : en kcal
M : masse de vendange en kg
Cs : chaleur spécifique de la vendange
∆T : en °C

• Flash-détente
Pour un débit horaire de10 tonnes de vendange entière égrappée, soit 6,7 t/h de vendange traitée (1/3 d'égouttage) le bilan thermique est le suivant : Chauffage de 20°C à 90°C **Q = 6700 x 1 x 70 = 469 000 kcal**

• Thermotraitement
Pour un débit horaire de10 tonnes de vendange entière égrappée, chauffage de 20°C à 70°C : **Q = 10 000 x 1 x 50 = 500 000 kca**l sans égouttage. Si 1/3 d'égouttage : **Q= 6700 x 1 X 50= 335 000 kcal.**

3.2.2 Réfrigération

La quantité de frigories nécessaires au refroidissement de la vendange est donnée par la formule :

Q = M. Cs. ∆T

Q : en frigories fg
M: masse de vendange en kg
Cs : chaleur spécifique de la vendange
∆T : en °C

• Flash-détente

Pour un débit horaire de10 tonnes de vendange entière égrappée, soit 6,7 t/h de vendange traitée (1/3 d'égouttage) le bilan thermique est le suivant :

- Condensation des buées dans le condenseur équivalent au refroidissement du produit de 90 à 32°C :
Q = 6700 x 1 x 58 = 388 600 fg .

- Puissance électrique du moteur du ventilateur de la tour aéro-réfrigérante nécessaire : 15 kw

- Consommation d'eau de la tour : évaporation 500 l/h, déconcentration 500 l/h soit un total de 1000 l/h

- Sous refroidissement de la vendange flashée de 32°C à 22°C à l'aide d'un échangeur et d'un groupe de froid :
Q = 6700 x 1 x 10 = 67 000 fg soit 77 kw

- Puissance électrique du groupe de froid nécessaire : 26 kw
Consommations totales : 15 + 26 = 41 kw/h d'électricité
1000 l/h d'eau recyclée

• Schéma classique : chauffage et refroidissement par conduction
Pour un débit horaire de 10 tonnes de vendange entière égrappée thermo traitée et refroidie de 65°C à 22°C : **Q = 10 000 x 1 x 43 = 430 000 fg .**

Puissance électrique du groupe de froid nécessaire : 164 kw
Soit une consommation de 164 kw/h d'électricité . L'utilisation du vide, en complément de son action physique sur les pellicules est énergétiquement très intéressante,

L'économie d'énergie que représente le refroidissement lié à la mise sous vide instantanée de la vendange est de 75%.

4 Conclusion : Les Procédés et la maîtrise qualitative des niveaux d'extraction .

Les constituants du raisin qui jouent un rôle majeur dans l'expression qualitative des vins sont essentiellement contenus dans la pellicule de la baie de raisin. Une forte proportion des composés d'arômes et des précurseurs aromatiques se trouve dans les tissus pelliculaires. L'apport du chauffage de la vendange a été dés le début de son développement, de séparer cette phase d'extraction pelliculaire de la phase fermentaire en phase liquide. Les résultats acquis grâce aux innovations technologiques, aux expérimentations, aux connaissances concernant les molécules composant la matrice du vin, ont largement fait évolué les procédés. Contrairement à ce que l'état de l'art établissait encore récemment (Sacchi et al 2005), il est possible sans fermentation alcoolique sur marc, d'obtenir des extractions correspondant aux nouveaux cahiers des charges des œnologues.

La voie fermentation en phase liquide peut être largement modulée par le choix du couple temps température avant mise sous vide, une courte macération de 9 minutes à 95°C ayant un impact significatif sur les taux d'extraction instantanés. Les outils aptes à réaliser un traitement de flash détente peuvent être paramétrés (niveau de température, temps, absence d'oxygène) en option MPC, si c'est le choix de l'œnologue. L'inverse n'est en revanche pas possible. Toutefois, l'option flash détente amène un surcoût d'investissement ce qui a conduit les sociétés Pera et Fabbri à proposer également des thermotraitements à niveau de température plus élevés sans flash détente. L'utilisation de vapeur basse pression comme élément de chauffage, direct ou indirect a permis sur vendange d'accéder à de nouveaux paramétrages. Les expérimentation réalisées ont permis avec certains paramétrages de modifier fortement le rapport anthocyanes/ tanins, d'augmenter sélectivement les extractions de façon compatibles avec leur stabilité. En revanche, il est difficile de donner des valeurs types des bons rapports anthocyanes/ tanins. Celles-ci dépendent des raisins et des terroirs dont ils sont issus mais aussi des types de vins à élaborer.

Jusqu'à présents seuls les produits alimentaires en phase liquide ou pâteuse pouvaient bénéficier, en l'absence d'oxygène, pour l'acquisition de stabilité microbiologique, de traitement à températures élevées de durée courte. Les jus de raisin par exemple sont classiquement traités quelques dizaines de secondes à 90°C et non quelques dizaines de minutes voire une heure à 65°C. Le thermo traitement de la vendange est une approche industrielle car elle nécessite des outils techniques adaptés à la vendange, mais ceux-ci sont paramétrés par l'œnologue **(schéma 9)** pour orienter la qualité des vins de chaque millésime en fonction des demandes des metteurs en marché. Grâce à ces technologies nouvellement accessibles, la vinification des vins rouges en phase liquide, et en phase solide ouvre au niveau fermentaire la voie à des profils fruités aromatiques reproductibles. En revanche, la technique ne met qu'en valeur

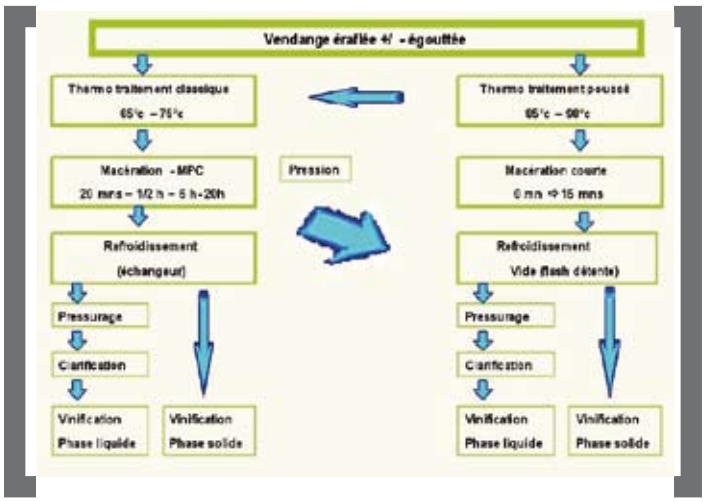


Schéma 9 : Chauffage de la vendange

le potentiel du raisin,et ne pallie donc pas à ses carences.

L'Argentine, le Chili au niveau de leurs plus importantes structures de production développent fortement ces nouvelles voies technologiques sur vin de cépage, en particulier le thermo traitement et la flash-détente

Depuis 2005, l'institut Rhodanien dans le cadre d'un projet européen Flavo, a élaboré des vins riches en flavonoïdes. Quatre voies sont évaluées sur grenache et syrah comparativement au vin témoin (Drinkine .J et al. 2007) : saignée de 25%, tannisage par 50g/hl de tannin de pellicules, enzymage, flash détente avec fermentation sur marc. La teneur globale en tannin des vins témoins était de 0,4 g/L, la saignée l'augmente logiquement de 25%, l'enzymage a peu d'impact au niveau extraction de tannins, le tannisage augmente de 45% la teneur par rapport au vin témoin, et le vin référence flash détente a une teneur augmentée de 100 % (0,8 g/L). A ce niveau là, un élevage des vins est nécessaire pour améliorer les structures tanniques au niveau organoleptique.

En terme de recherche, les méthodes de clarification en ligne des moûts issus de vendanges thermo traitées, à vinifier en phase liquide feront parti des priorités pour leur impact qualitatif au niveau de la phase fermentaire.

Remerciements : les auteurs remercient les sociétés Pera (www.pera.fr), Fabbri (ww.fabbri.fr), Ertia , Pierre Olivier Cogat société Aurore Developpement pour les documents fournis.

Références bibliographiques :

AGERON D.,ESCUDIER JL.,ABBAL P.,MOUTOUNET M.,(1995).Prétraitements des raisins par flash détente sous vide poussé.Rev Fr Oenol, 153:50-53.

AUW JM.,BLANCO V.,O'KEEFE S-F.,SIMS CA.,1996. Effect of processingon the phenolics and color of Cabernet Sauvignon, Chambourcin, and Noble wines and juices. Am.J.Enol.Vitic. 47:279-286.

BARILLERE JM., BENARD P.,VANNOBEL C.,CHABAS J., 1986. Etude statistique des caractères analytiques de vins obtenus par différentes techniques de vinification après chauffage de la vendange. Sciences des aliments, 6,201-211.

BENARD P.,BOURZEIX M., FLANZY C., INRA.,1980.La vinification avec chauffage de la vendange, résultats de 10 années d'expérimentation. Edition INRA.

BOULET JC., ESCUDIER JL.,1988. In Oenologie,fondements scientifiques et technologiques Partie 17 vinifications en rouge , 797-805. FLANZY coord Tec et Doc Lavoisier.

COTTEREAU P.,DESSEIGNE JM., 2007.Chauffage de la vendange et arômes fruités. Entretiene viti vinicoles Rhône Méditerranée. 20-22.

COGAT PO. Brevet N° EP 95900808.7 Installation pour le traitement de matières biologiques hydratées.

DESSEIGNE JM,GRENIER P, 1998. In Oenologie, fondements scientifiques et technologiques Partie 25 Diversification et optimisation des traitements thermiques, 1229-1232. FLANZY coord Tec et Doc Lavoisier

DRINKINE J., VIDAL S., MICHALET M., VUCHOT P., BARNAVON L. 2007. Symposium Oenologie Bordeaux 25/6/07.

DUBERNET M.,DE PARZIA E., DUFORT B., FONTAINE P.,2004. La thermo détente, une nouvelle dimension apportée à la thermo vinification Rev. Fr. Oenol. 214.

ESCUDIER JL., MOUTOUNET M.,COGAT P.O. Brevet N°EP 9313287 et N°EP 95900806.1.Produit alimentaire, obtention,et application à la fabrication de jus de fruits ou de vins.

ESCUDIER JL., MIKOLAJCZAK M.,MARTIN M., SAMSON A., THIBERT D., BOULET JC., MOUTOUNET M., ROSON JP. Intérêts du traitement des raisins par un vide poussé pour l'œnologie. Rapport Onivins Région LR filière viticole déc 95.

ESCUDIER JL., BES M., MOREL-SALMI C., MIKOLAJCZAK M., SAMSON A., MARTIN M. 2006. Vinifications en rouge : macérations post fermentaires, macérations carboniques, flash détente sous vide. RFOE N°216

KOTSERIDIS Y.,ESCUDIER JL., MOUTOUNET M 2002. Flash détente et qualité des vins.
PAV N°20 ,438,442.

MOREL-SALMI C., SOUQUET JM., BES M., CHEYNIER V., 2006. Effect of flash release treatment on phenolic extraction and wine composition. J.Agric. Food.Chem. 54, 4270-4276.

MOUTOUNET M., ESCUDIER JL., 2000. Prétraitement des raisins sous vide, incidence sur la qualité des vins. Bull OIV 827-828 .

NETZEL M.,STRASS G.,BITSCH I., KONITZ M., CHRISTMANN M., BITSCH R. 2003. Effect of grape processing on selected antioxydant phenolics in red wine. J Food Eng. 56:223-228.

OLIVIERI C., 1991. Aspects biologiques physico chimiques et techniques des traitements thermiques des raisins entiers et foulés Bull OIV,604 (54):477-497

OSSE Cécile, rapport Le Cell Cracking. Laboratoire de microbiolologie Wagenigen- INRA UE Pech Rouge. 53 p.

SACCHI K L.,BISSON LF.,ADAMS DO. 2005. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. Am.J.Enol.Vitic. 56-3

STELLA C., TESTA C., VIVIANI C., SABATELLI MP.,1991. Tratamento a caldo delle uve:influenza su vini da vitigni diversi.Vignevini.12:47-50

VUCHOT P.,2004. Développement et intérêt de la flash détente pour les vins d'appellation de la Vallée du Rhône . N° 112, p 37,41

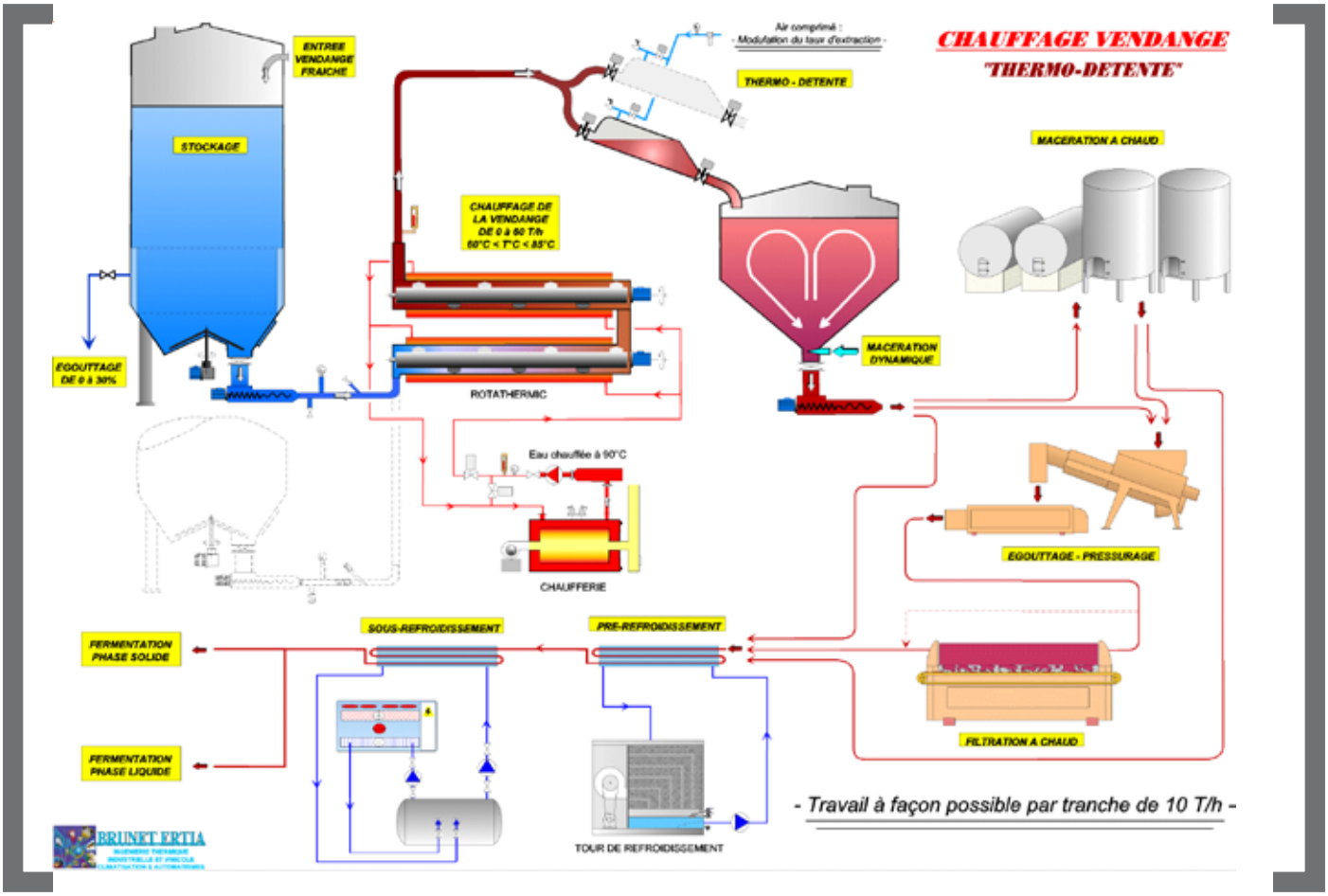


Schéma 4

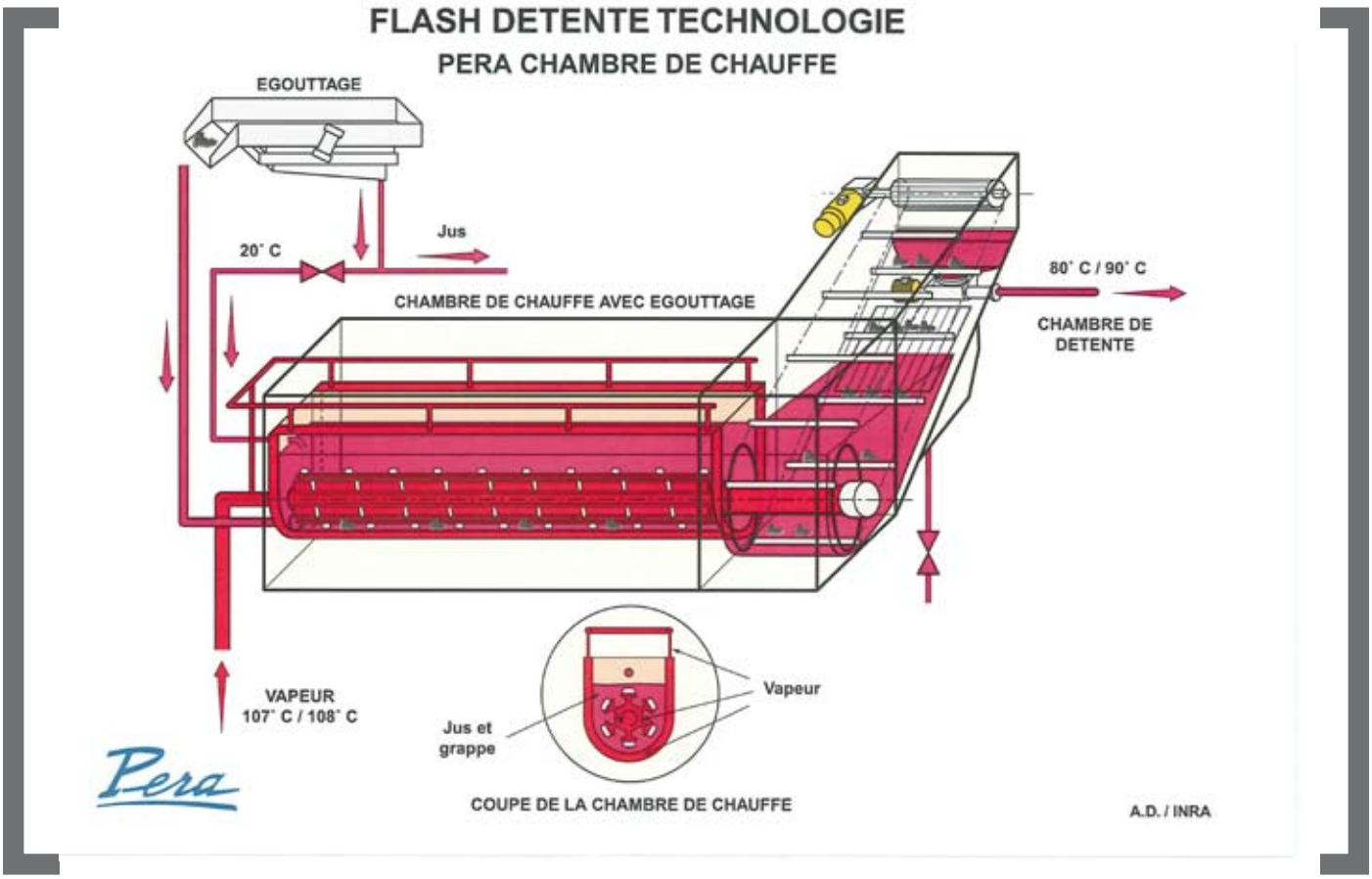


Schéma 5

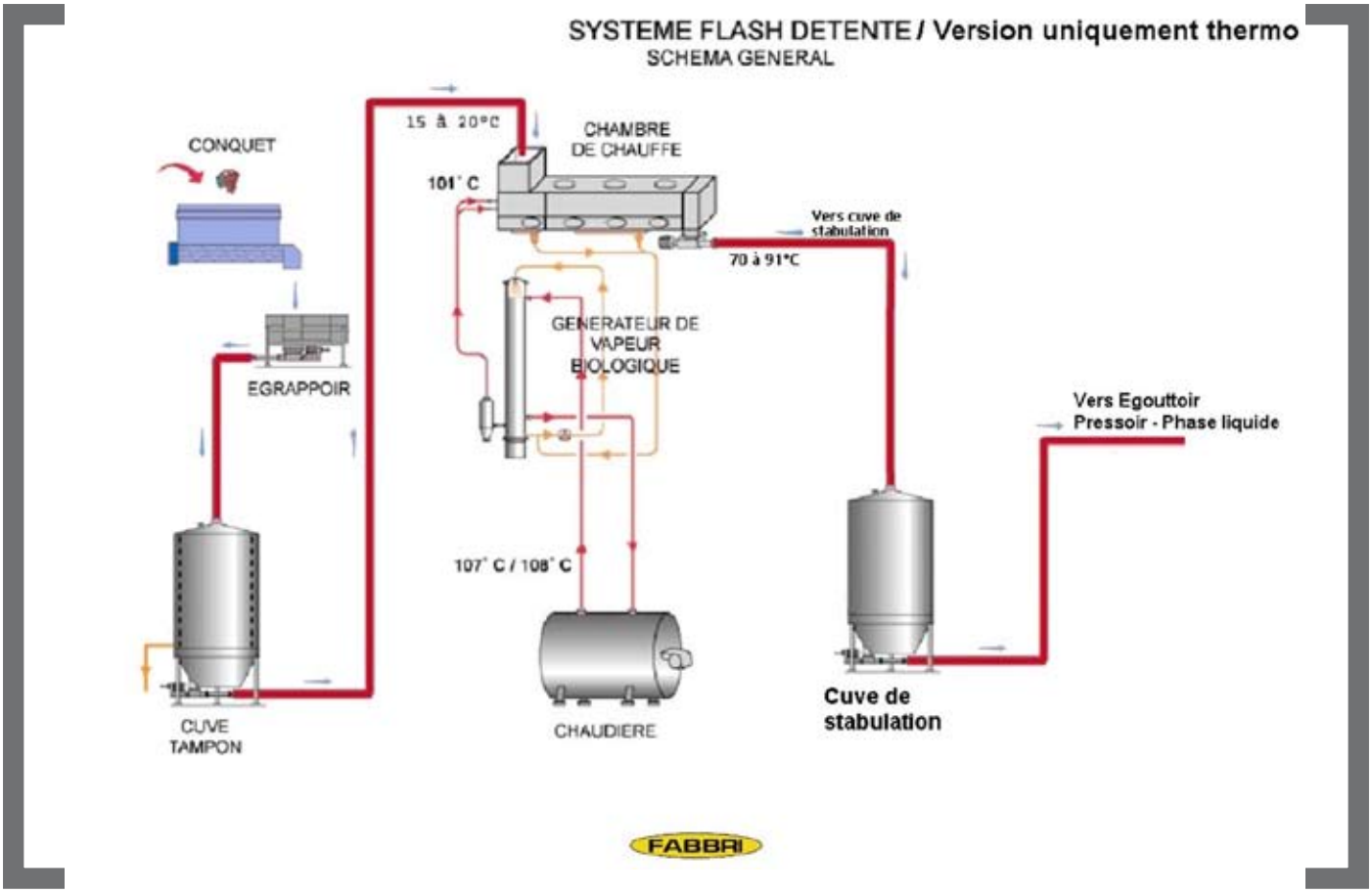


Schéma 6

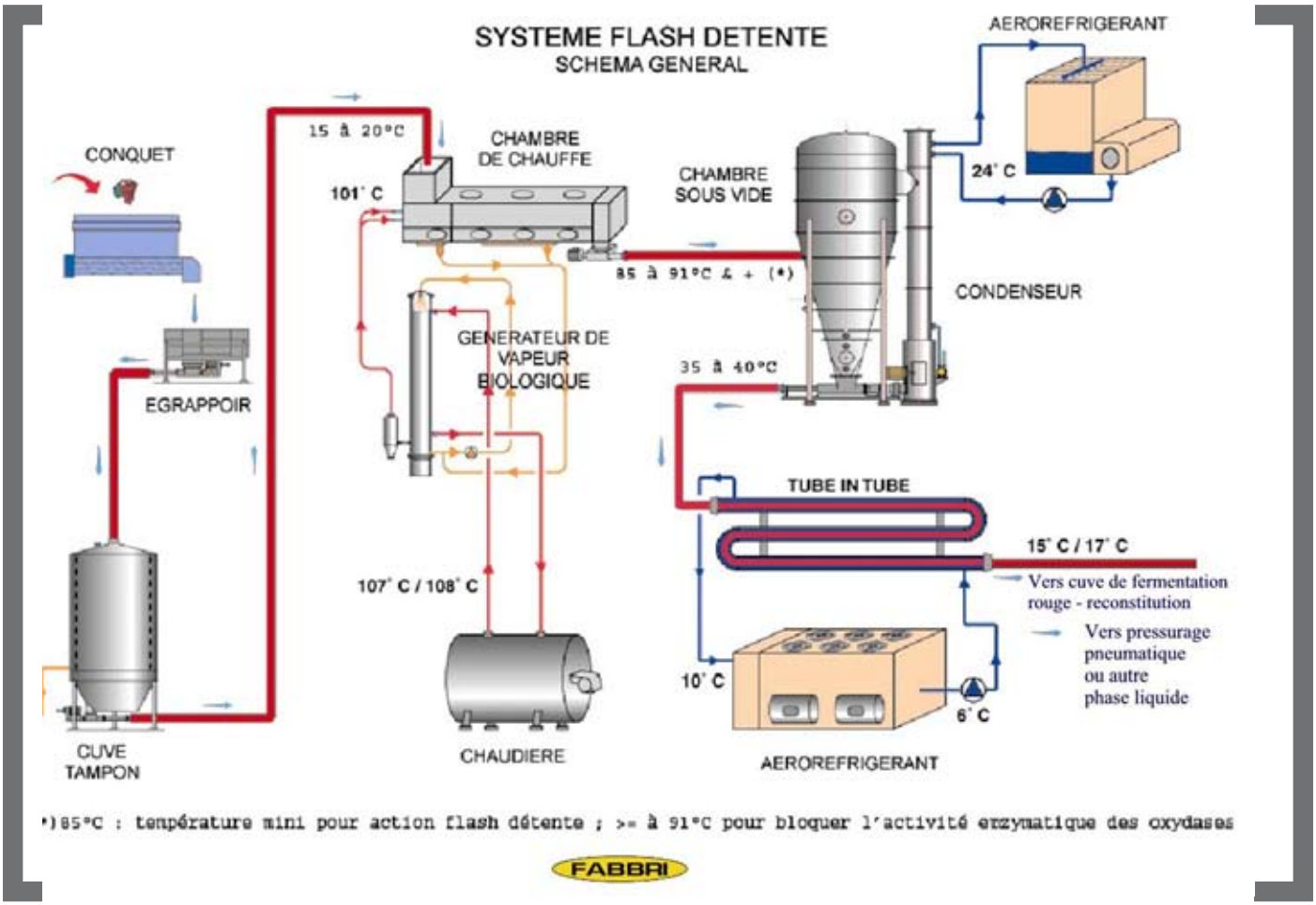


Schéma 7

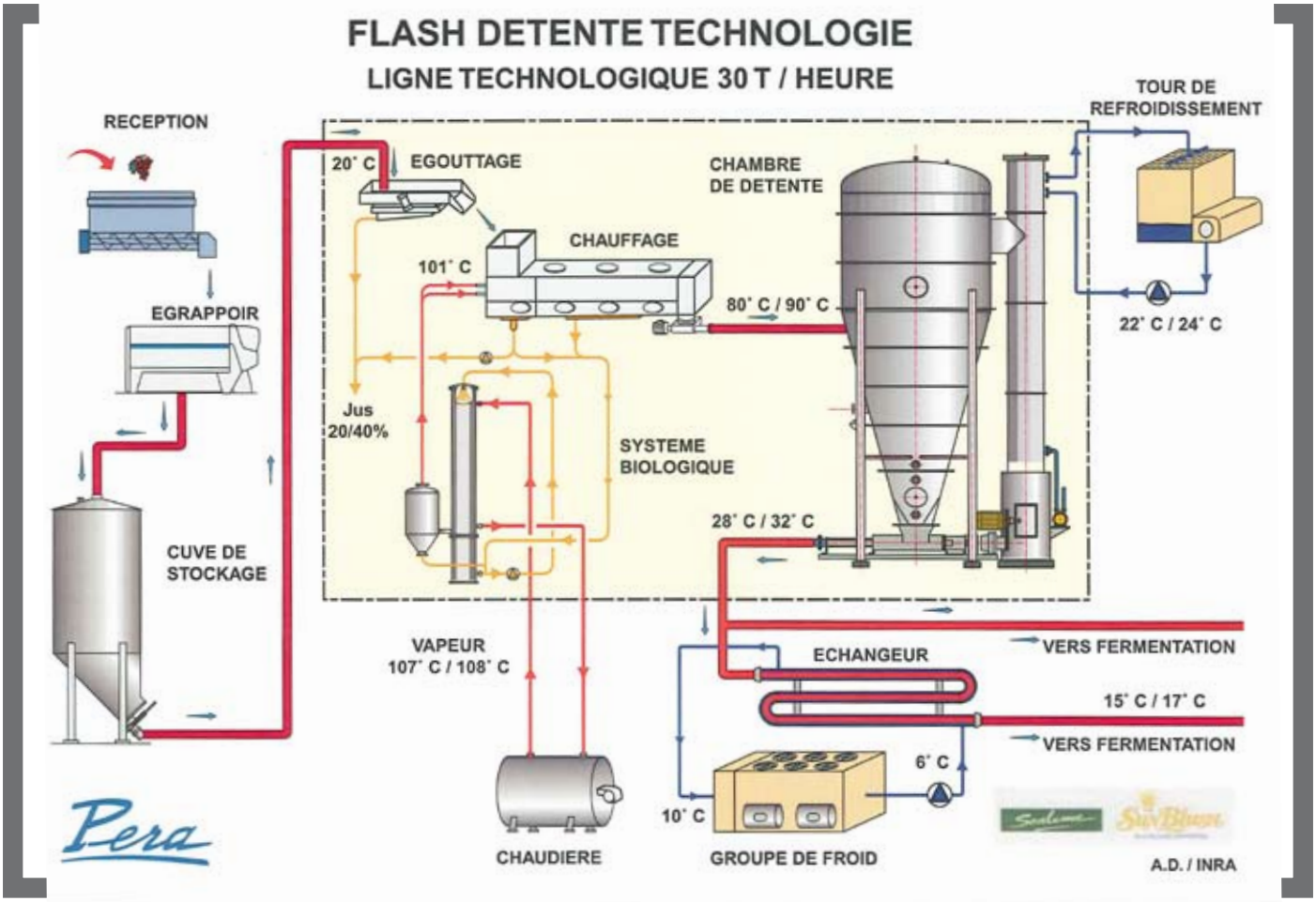

FLASH DETENTE TECHNOLOGIE
LIGNE TECHNOLOGIQUE 30 T / HEURE
RECEPTION
EGRAPPOIR
CUVE DE STOCKAGE
20° C
EGOUTTAGE
CHAUFFAGE
101° C
CHAMBRE DE DETENTE
80° C / 90° C
TOUR DE REFROIDISSEMENT
22° C / 24° C
Jus 20/40%
SYSTEME BIOLOGIQUE
28° C / 32° C
VAPEUR 107° C / 108° C
ECHANGEUR
VERS FERMENTATION
15° C / 17° C
VERS FERMENTATION
6° C
10° C
CHAUDIERE
GROUPE DE FROID
A.D. / INRA

Schéma 8

ASPECTS PRATIQUES DE LA THERMOVINIFICATION ET QUELQUES RÈGLES À SUIVRE

S. YERLE

Vivélys - Domaine du Chapitre - 170 boulevard du Chapitre - 34750 Villeneuve-lès-Maguelone

Thermomacération ‹ Loin de l'image de standardisation qu'évoque la technique de la thermovinification, il est possible, en fonction du type de raisin, de faire des choix dans l'élaboration des produits.

1. Une réponse à certains types de vendange

La thermovinification a été souvent calibrée par rapport au niveau du raisin. Elle a souvent servi à tirer parti de raisin dilué ou à l'état sanitaire dégradé alors qu'aujourd'hui nous faisons appel à la thermo non pas pour résoudre un problème lié au niveau de raisin mais pour valoriser un type de raisin. Il y a dix ans, les premiers vins de thermo avaient des arômes fermentaires, exotiques. Nous avons eu peur quand cette tendance s'est généralisée : on allait vers du primeur pour tous les types de raisin. Cela nous a motivés pour bien travailler par type de raisin et revoir la thermovinification.

Cela notamment à partir des travaux réalisés par ITV France, essentiellement mis en œuvre en Beaujolais. L'offre conseil Vivelys propose une action globale intégrée de la vigne à la bouteille : elle consiste, en partant de la définition du produit, à adopter le procédé le plus cohérent.

Les outils Sféris caractérisent le vignoble, constatent le potentiel sur souche, à partir notamment du suivi de la mesure du volume et de la couleur des baies de raisin, qui indique le stade de chargement en sucre et réalise des typologies de raisins. L'approche Vivelys s'applique particulièrement bien à la problématique des grandes superficies de vignoble, avec un grand nombre de lots et d'unités culturales : « il faut alors être capables de prédire quelle quantité de raisin est à acheminer vers la voie technologique appropriée ».

A partir de la typologie réalisée, pour certains raisins noirs qui correspondent plus à une pratique d'extraction à chaud, on décide de travailler en thermo-macération : c'est le cas lorsque des facteurs limitants, d'ordre climatique ou sanitaire, empêchent le raisin de parvenir à une bonne maturité phénolique. On peut citer l'exemple du Cabernet Sauvignon, qui a besoin de rester au moins 35 à 40 jours sur le plateau de maturité (à partir de l'arrêt du chargement en sucre ; voir le même article) pour atteindre la maturité phénolique ; or, la météo ne permet pas toujours d'attendre.
Dit autrement, si l'on est sur un type de raisins plutôt neutre du point de vue aromatique, entre un potentiel de fruits frais (avec une verdeur de tanins) et un potentiel de fruits mûrs, qui n'a pas encore le potentiel terpénique (de fruit mûr) et qui a des tanins encore verts, on fait appel à la thermo-macération.

Autre exemple de ce profil de raisin, celui d'un Merlot avec un itinéraire cultural plutôt qualitatif, à rendement moyen (donc sans problème de niveau qualitatif), mais de type aromatique plutôt neutre (à maturité phénolique moyenne). La thermo-macération permettra de valoriser au maximum ce potentiel. Nous ne mettons plus en thermo des raisins dont nous ignorons la provenance. Nous travaillons avec des raisins qui ont un certain potentiel, que l'on va valoriser par l'outil de chauffage.

2. Le ratio tanins/anthocyanes

Pendant ce processus, on va jouer sur la température de chauffage, sur le temps de macération et sur la clarification des moûts. En température, on va travailler au-dessus de 55°C. Par rapport à l'activité laccase, on sait qu'il faut aller au moins à 55° sans nécessairement dépasser 75°.

Le temps de contact, après chauffage, entre les raisins et le moût est important : c'est pourquoi on travaille sur vendange entièrement chauffée (jus plus marc). Aujourd'hui, en effet, beaucoup d'outils de chauffage, dans le Midi notamment, travaillent sur saignée pour améliorer le rendement de chauffage (on réinjecte le jus de saignée après chauffage). Or ce jus peut être source de contamination et pendant la macération, il abaisse la température donc limite l'extraction.

Vivelys développe aujourd'hui des marqueurs de l'extraction, l'un d'entre eux est le ratio tanins/anthocyanes. Après une heure de chauffage, on a extrait tout le potentiel d'anthocyanes. Il faut alors mesurer l'évolution des tanins et effectuer un suivi de l'extraction des tanins en fonction de la durée. L'extraction est pilotée en fonction du temps et de la température.

Selon la destination du vin (vin à consommation rapide ou vin plus structuré, à mise en marché tardive), on joue sur le niveau de tanins.
Pendant longtemps, la thermo a été accusée de produire des vins de couleur instable : en effet, s'il n'y a pas assez de tanins, les anthocyanes ne se stabilisent pas. On fait donc en sorte qu'il y ait assez de tanins. Les vins se comportent alors à l'identique d'une macération traditionnelle en termes de consommation d'oxygène, de stabilité dans le temps, d'équilibre en bouche.

3. Clarification : plus de choix

Suite à la phase de macération vient l'écoulage à chaud (par pressurage) de moût qui présente des turbidités très élevées. Les caves qui utilisent la thermo ont pendant longtemps pratiqué une clarification stricte, excessive, en dessous de 50 NTU, en filtrant les moûts chauds sur filtres rotatifs. Cela parce que du fait de niveaux de structure plutôt bas on faisait peu macérer des raisins peu qualitatifs et on avait une perte importante de couleur. On obtenait alors, par la filtration, des vins à la couleur relativement plus stable. Mais avec un potentiel aromatique essentiellement fermentaire (goûts de banane, de bonbon anglais, de fraise Haribo).

Aujourd'hui, l'intérêt avec la thermo-macération c'est d'avoir des ratios tanins/anthocyanes équilibrés qui limitent la perte de couleur pendant la fermentation (c'est le rôle protecteur des tanins) : on va pouvoir alors travailler avec des turbidités plus élevées. C'est là que l'œnologue reprend toute sa dimension : il peut choisir entre les différentes voies de clarification.

Il y a les voies forcées, comme la flottation ; la possibilité d'assembler des moûts filtrés sur filtre rotatif (à turbidité très serrée) avec des moûts issus de flottation ; ou la possibilité de travailler par décantation naturelle du type débourbage en blanc. La troisième voie donne des résultats intéressants sur raisins qualitatifs : on peut procéder à des macérations (ou stabulations) sur bourbes avant débourbage.

La gamme de turbidité est la suivante : avec les vins fermentaires en dessous de 100 NTU ; le plus pratiqué étant de 100 à 400 NTU. La levure va produire d'autant plus d'arômes fermentaires qu'elle travaille dans un milieu carencé, propre. Plus on est turbide, plus il y aura de gras en bouche et plus on va vers le sens du fruit et moins on a d'arômes fermentaires. »

4. La fermentation

Le choix de la température de fermentation et le choix de la souche de levure seront prépondérants. Pour des vins fermentaires on sera autour de 18°C ; pour des vins fruités, on sera à 23-24°. L'augmentation de la température de fermentation augmentera aussi le niveau de gras.

On choisira une souche de levures plus orientée vers le fruit que vers des vins fermentaires. Il y a une nécessité d'apport d'oxygène, surtout, et aussi de nutriments ; car ces milieux très riches demandent un apport

d'oxygène pour bien terminer la fermentation. On a donc un apport d'oxygène ponctuel ou continu afin d'éviter les arrêts de fermentation.

5. Précautions à l'élevage

Vient ensuite la période de l'élevage. Ces vins ont la particularité d'être extrêmement sales , turbides ; la fermentation en phase liquide génère une grande quantité de lies et on travaille, dans la plupart des cas, dans de grosses cuves, de 1 000 à 3 000 hl. Dans ce cas, il faut absolument procéder à une seconde clarification pour éviter la perte de couleur par fixation sur les lies.

Cette lie, si on ne la fait pas descendre en fond de cuve, va consommer tout l'oxygène apporté. La clarification en fin de fermentation alcoolique va permettre d'augmenter la réactivité du tanin à l'oxygène et limiter la perte de couleur par fixation sur les lies. Il y a alors un outil incontournable : la centrifugeuse, pour obtenir des vins propres, aromatiques et réactifs à l'oxygène que l'on va ensuite apporter pour stabiliser la couleur.

L'intérêt de faire baisser la turbidité en fin de fermentation alcoolique est en même temps de pouvoir stabiliser la couleur avec de faibles doses d'oxygène, pour ne pas perdre le fruit. On travaille sur des apports d'oxygène du type micro-oxygénation, à moins de 20 ml/litre/mois. Il est important, à ce moment-là et durant toute la vie de ces vins, de ne jamais accumuler d'oxygène dissous. Les œnologues ont souvent recours à l'aide de l'oxymètre. Cet objectif est un leitmotiv à toutes les étapes, lorsque la malo s'enclenche, pendant l'élevage, lors des pompages, assemblages, chargements de citerne, dans les opérations de traitement des vins et de conditionnement. Ces vins, parce qu'ils sont d'un type aromatique particulier, fruité, nécessitent la plus grande vigilance par rapport à l'oxygène dissous.

6.Le facteur bois

Concernant les interactions entre la thermo-vinification et le bois, il y a un aspect œnologique et un aspect aromatique. Du point de vue œnologique, il faut prendre en compte le rôle des ellagitanins (les tanins du chêne) durant la fermentation alcoolique. Pour protéger le niveau de couleur, on apporte du bois frais en fermentation, avec des granulométries de bois plutôt faibles, d'environ 2 mm, plutôt de bois français (plus riches en ellagitanins). En fin de fermentation, les vins ont un peu plus de couleur et un peu plus de fruit que des vins non traités. Avant ou après la fermentation malolactique, on peut utiliser du bois chauffé, mais la chauffe du bois ira toujours à l'encontre du fruit frais des vins issus de thermo-macération.

Pour ce qui est de la température de stockage, on restera si possible en dessous de 18°C, ce type de vin ne supportant pas l'élévation de température. Et on recherchera l'absence totale d'oxygène dissous.

6. Plusieurs valorisations possibles

Le grand intérêt de la thermo-macération est de pouvoir valoriser un potentiel de raisin plutôt neutre sur le plan aromatique et donc ayant un peu de verdeur en bouche. Mais cette technique présente un autre intérêt, qui est de produire des vins passe-partout aptes à être assemblé soit avec des raisins à potentiel de fruits frais, soit avec des raisins à potentiel de fruits mûrs, c'est la thermo-macération
.
Les vins de thermovinification, avant ces derniers travaux, n'avaient pas cet intérêt : « un vin fermentaire, plutôt creux et maigre, va tout de suite marquer sur l'aspect fermentaire le vin avec lequel il est marié ».
Avec les vins de thermo-macération, on a une base équilibrée, qui amène de la sucrosité en bouche et un fruit qui se conjugue soit avec des vins typés fruits frais soit avec des vins typés fruits mûrs.
Le grand intérêt d'une réflexion globale est de déterminer à la vigne les parcelles ou les lots qui seront vinifiés en macération pré-fermentaire à chaud (type fruits frais), ceux qui seront vinifiés en thermo-macération (vins plutôt neutres en arômes et verts en bouche) et ceux qui seront vinifiés en longue macération (raisins plus mûrs). Donc d'avoir une vinification par type de raisin. Cela implique d'avoir en tête ce que l'on veut faire, d'effectuer un tri en grands lots technologiques à la vigne et de vinifier en fonction.

7. Les matériels utilisés

Il existe à l'heure actuelle trois principaux procédés pour chauffer la vendange :

- Le matériel type bain-marie : ce sont les chaînes thermo-compacts et les égoutteurs tangentiels. La vendange est transportée dans un anneau liquide chauffé à 90°C. C'est le matériel le plus répandu en Languedoc et le système industriel le mieux adapté. Il présente l'avantage de saisir instantanément la masse solide à une température précise ; son seul inconvénient est qu'il génère un peu de trituration. Au bilan, sur des raisins de faible extractibilité et d'état sanitaire moyen, c'est l'outil le plus performant, sur les autres types de raisin également : qui peut le plus peut le moins.

- Le type échangeur rotatif : il y a chauffage de l'intégralité de la vendange convoyée dans un échangeur cylindrique à double enveloppe, la montée en température est plus lente, la température moins précise et l'absence de passages préférentiels à démontrer. D'autre part, ce procédé, générant pas mal de bourbes nécessite une vendange entière non égouttée, ce qui peut être limitant en cas de rendements élevés ou de faible extractibilité.

8. Un système adapté aux caves particulières

La thermo, aujourd'hui, n'est plus limitée aux caves coopératives : en cave particulière existe un système, utilisé en Beaujolais depuis dix ans environ, qui consiste à faire circuler le moût de saignée à travers un échangeur. Il s'adapte à toutes les caves, sur des unités de cuves de 10 à 50 tonnes ; il génère peu de turbidité et peu de bourbes. D'autre part couplé à un évaporateur direct, le refroidissement se fait aisément en ne consommant que 1,5 kW, et en évaporant également quantité de pyrazines.

Son inconvénient : il ne peut pas chauffer assez vite dans le cadre de vendanges très botrytisées.

En Languedoc, une cinquantaine de caves particulières utilisent cette méthode depuis deux ou trois ans avec beaucoup de succès. Il existe en France plusieurs prestataires de services équipés pour ce travail, particulièrement flexible donc adapté en cave particulière.

9. Les mille et unes variantes de la thermo

Ces dernières années, de nouvelles applications sont apparues issues de la volonté de multiplier les schémas techniques en fonction du produit fini souhaité mais aussi des moyens présents en cave.

La première application, répond à la volonté de retrouver un type aromatique variétal à l'issue d'un thermo-traitement car l'aspect aromatique des vins thermo-traités est souvent discriminant. En effet, dans pas mal de cas, la notion de vin fruité correspond à un positionnement prix trop bas, incompatible avec certains contextes technico-économiques (rendements bas, coût d'exploitation). L'idée consiste alors à croiser le plus rapidement possible des raisins ou des moûts provenant de thermo-traitement d'un côté et de vinification traditionnelle de l'autre. Une version de ce que l'on appellera thermo-mix, est l'incorporation de 30 à 40 % de moûts issus de thermo-macération (saignée non reconstituée) dans une cuve de vinification traditionnelle.

Cela peut se pratiquer également à l'encuvage en croisant des lots de raisin, ou bien tout au long de la vinification jusqu'à 1020 en croisant moût et raisin. On gagne alors la sucrosité, la couleur et le fruit de la thermo-vinification tout en ayant le profil aromatique d'une longue macération ainsi que le gras. Généralement, les plus beaux raisins sont élaborés classiquement, les moins sains, verts, stressés ou abîmés sont alors extraits sélectivement en phase aqueuse.

La seconde méthode alternative en thermo-vinification se positionne lors de la clarification et pour un niveau de structure élevé (>75).. L'objectif est toujours la même recherche de gras et de caractère variétal, et nécessite une bonne maîtrise de la fermentation alcoolique ainsi que de l'élevage. La pratique consiste à fermenter sur bourbes totales, à température assez élevée, 23 à 24°C avec batonnage et apport d'oxygène continu. Les vins obtenus sont alors marqués par le volume en bouche et un fruit nettement plus proche d'une vinification traditionnelle. Mais attention, si la vendange n'a pas été suffisamment saignée avant chauffage et donc le niveau de structure insuffisant, alors, la turbidité peut « digérer »la matière colorante instable. Il en est de même sur des raisins pyraziques, la turbidité peut conférer au vin fini un fort caractère végétal. Par contre, cette technique adaptée est adaptée en cave coopérative en fin de journée, lorsque les ateliers de filtration sont engorgés, car elle ne nécessité ni intrants ni matériel de clarification.

La dernière méthode innovante permise par la thermo-vinification réside dans la valorisation de raisins issus de saignée statique : généralement, ces marcs séchés, après avoir produits de beaux rosés, sont pressés et donnent des vins déséquilibrés. Ici, sur quatre à cinq cuves saignées, deux sont pressées afin de ré-équilibrer les phases des cuves restantes avant chauffage par recirculation au travers d'un échangeur tubulaire. Au final, ces raisins verts sont doublement valorisés, en rosé comme en rouge.

Voilà donc comment d'une simple technique de chauffage des raisins, basique voire standardisante, une décennie de recherche et d'expérimentation, a permis la mise en place de voies alternatives adaptées, innovantes et valorisantes, au service d'une œnologie raisonnée.

CONDITIONS DE FERMENTATION ET EXPRESSION DES THIOLS VOLATILS DANS LES VINS

T. DUFOURCQ[1], O. GEFFROY[2]

(1) IFV MIDI-PYRÉNÉES - CHÂTEAU DE MONS 32100 CAUSSENS
(2) IFV MIDI-PYRÉNÉES - V'INNOPÔLE - BP 22 - 81 310 LISLE SUR TARN
EMAIL : THIERRY.DUFOURCQ@VIGNEVIN.COM

Les thiols variétaux sont des composés odorants que l'on retrouve dans les vins. Leur origine est variétale et la vinification de très nombreux cépages peut en produire. Au premier rang, le Sauvignon est mondialement connu pour exprimer dans ces vins des aromes décrits dans leur dimension fruitée comme évoquant les agrumes (pamplemousse), les fruits exotiques (mangue, goyave) et dans leur dimension végétale en évoquant le buis, la feuille de cassis, la rhubarbe (1). A forte concentration, les vins sentent l'urine de chat, la sueur parfois le pain grillé. On entend par thiols variétaux les composés suivants : 3MH (3-mercaptohexanol), Ac3MH (acétate de 3-mercapto-hexyle) et 4MMP (4-mercapto-méthyl-pentanone) que l'on va retrouver dans le vin et qui contribuent à leur expression aromatique.

Dans les vignobles du Sud-Ouest de la France, au climat favorable, la présence de 3MH et d'Ac3MH dans les vins de Colombard de Gascogne est un facteur de typicité maintenant établi (2). Le Gros Manseng et le Petit Manseng peuvent aussi prétendre à en exprimer des quantités importantes (3). Récemment, nous en avons mis en évidence dans les vins de Négrette, rosés et rouges (4).

Ces composés, lorsqu'ils sont présents, entrainent généralement un intérêt pour le dégustateur qu'il soit spécialiste ou amateur. Actuellement, on peut considérer que les thiols variétaux peuvent être classés parmi les composés odorants des vins recherchés sur « le marché », par son acheteur bien sûr.

Depuis quelques années, les connaissances ont progressé grâce aux avancées de la recherche dans la mise au point des dosages de ces molécules : avancées dans la caractérisation sensorielle mais aussi, dans les applications, à la fois au vignoble et à la cave, pour les favoriser dans les vins.

Il est important de considérer que ces composés sont présents dans les vins à des concentrations de l'ordre du microgramme par litre (µg/l) dans le meilleur des cas. Ils sont aussi, de par leur composition chimique, extrêmement sensibles et réactifs aux conditions du milieu. En conséquence, ils se dégradent rapidement au cours du temps dans les deux années qui suivent la récolte. Ainsi, de leur origine variétale, sous forme de précurseurs dans les raisins, jusqu'à leur expression dans le bouquet du vin à la table du consommateur, de très nombreux facteurs interagissent dans toute la chaine de production en positif comme en négatif. Cela en fait des composés qui demandent connaissances, savoir-faire et technologie.

Parmi ces multiples facteurs qui interviennent pour la production de thiols variétaux dans les vins, les conditions de fermentation sont un point clé : c'est la levure qui produit l'arôme.

On entend par conditions de fermentation : la composition physico-chimique du moût ; l'emploi de différentes souches de levures ; les interventions au cours de la fermentation alcoolique et notamment l'ajout d'auxiliaires technologiques ; la maitrise des conditions physiques : température de fermentation, concentration en oxygène dissous.

1. Incidence de la composition du moût

Tout d'abord, il existe des réactions négatives à la production de ces composés soufrés variétaux. Ce sont les phénomènes d'oxydations avant et après la fermentation. Ces réactions sont favorisées par les oxydases du raisin sain et/ou altéré, par la présence de catalyseurs d'oxydation (Cu, Fe), par la présence de composés phénoliques. Ces réactions sont sous la dépendance de la température et de la quantité d'oxygène dissous. Si la nature des phénomènes est établie pour l'oxydation des thiols, des incertitudes subsistent quant aux réactions pénalisant le devenir des précurseurs d'aromes au cours de la phase pré-fermentaire.

Les composés azotés et soufrés des raisins sont au cœur de la production de thiols variétaux par la levure. Les travaux en Midi-Pyrénées sur les effets de la pulvérisation sur vigne d'azote et de soufre en foliaire à véraison le démontrent clairement (figure1). De plus, lorsqu'on analyse de manière globale les facteurs qui expliquent la présence du 3MH et de son acétate dans les vins de Colombard, l'azote du moût est identifié comme une variable majeure (2) (5). De récents travaux sur Sauvignon montrent comment la composition azotée du moût en relation avec la capacité des souches de levures à assimiler ou non ces différentes fractions (ammoniacales, aminées) apparait comme un point critique de la transformation du précurseur en arome (6). Comme l'azote est un nutriment pour la levure, il va donc aussi influer sur sa multiplication et sur sa capacité à consommer le sucre du moût. De ce fait, la vitesse de fermentation, et principalement dans sa première phase, ressort aussi comme variable influente (5). Pour ce qui concerne les composés soufrés dans les moûts, ils ont plutôt été étudiés sous l'angle des effets indésirables associés aux gouts de réduit des vins. Il apparait cependant que les acides aminés et peptides soufrés jouent un rôle protecteur dans le moût et aussi précurseur de l'arome.

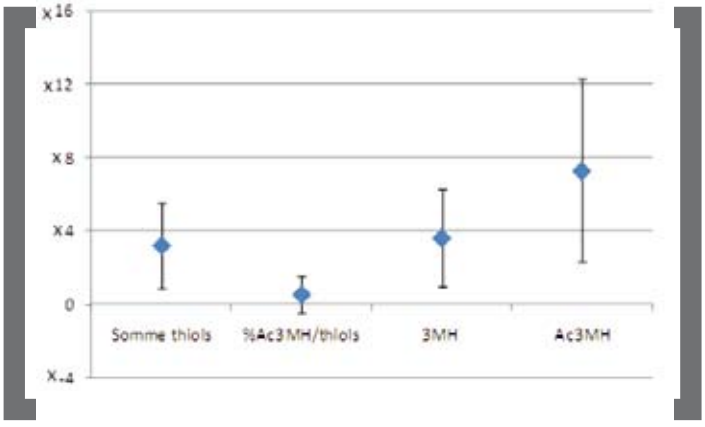


Figure 1 : Gain moyen en thiols variétaux (3MH et Ac3MH) obtenu dans 9 vins de Midi-Pyrénées (cépages Colombard, Gros Manseng, Négrette et Sauvignon) après pulvérisation sur vigne d'azote et soufre à véraison par rapport au vin témoin non traité

2. Incidence de la souche de levure

La levure au cours de la fermentation alcoolique assimile le précurseur et produit une enzyme (ß-lyase) qui libère l'arôme. Le rendement de conversion est particulièrement faible. C'est actuellement un point sur lequel se focalise la recherche avec toutes les interrogations associées à la création de micro-organismes génétiquement modifiés.

De très nombreuses souches sont commercialisées et proposées pour révéler de manière optimale ces thiols variétaux. De plus, de nouvelles souches apparaissent tous les ans sur le marché. Nous avons comparé pendant plusieurs années sur du Colombard, le potentiel de quelques levures (figure2).

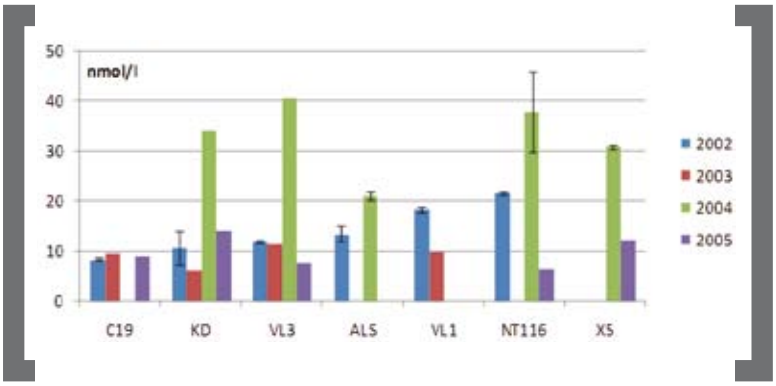


Figure 2 : quantités de thiols variétaux (3MH + Ac3MH) retrouvées dans des vins de Colombard de Gascogne en fonction des souches de levure utilisées

Dans chaque cas, le moût d'essai (répété ou non) est mis dans des conditions constantes de température. Au final, on observe une photographie instantanée de l'aptitude des souches à révéler dans une matrice particulière une quantité d'arômes. Un seul facteur est étudié dans ce cas. Ces résultats sont donc partiels. Il apparait comme essentiel de pouvoir optimiser le potentiel de chaque souche sur plusieurs critères simultanément (température de fermentation, azote, oxygène…).

Il est important de considérer que cette production de thiols variétaux ne doit pas être observée seulement du point de vue analytique mais aussi sensoriel car les souches de levure produisent de très nombreux composés au cours de la fermentation et des déviations organoleptiques peuvent être perçues.

3. Incidence d'ajout d'auxiliaires technologiques dans le moût

En premier lieu, les ajouts concernent la fraction azotée. Les principales sources d'azote utilisées en vinification se présentent sous forme ammoniacales. Leur efficacité a été largement démontrée pour assurer des fermentations franches et complètes. Pour la production de 3MH et d'Ac3MH, ces formes d'azotes ne sont pas optimales (figure 3). Il existe une relation entre les phénomènes d'activation des voies préférentielles d'assimilation de l'azote (ion ammonium) et la répression de l'assimilation des précurseurs d'aromes et des acides aminés en général (6).

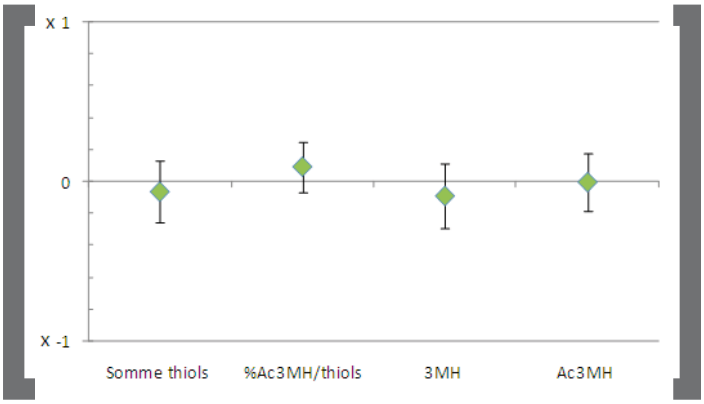


Figure 3 : variation moyenne en thiols variétaux (3MH et Ac3MH) obtenue dans 6 vins de Midi-Pyrénées (cépages Colombard, Négrette) après ajout d'azote ammoniacal au chai par rapport au vin témoin non traité.

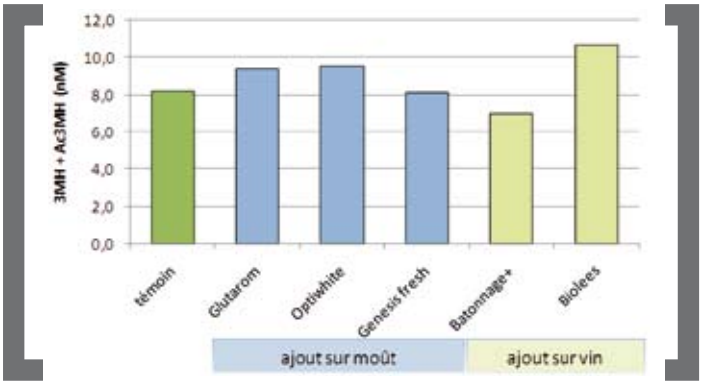


Figure 4 : Variation de la quantité de thiols variétaux (3MH + Ac3MH) dans un vin de Colombard après ajout de compléments d'origine levurienne ; millésime 2007.

La tendance actuelle est à enrichir les moûts aussi avec des compléments à base d'acides aminés ou de peptides (comme le glutathion) d'origine levurienne (figure 4). Leur action sur la révélation des thiols variétaux n'est pas démontrée à ce jour bien que le rôle biochimique du glutathion (tri-peptide soufré) soit avéré dans la protection des phénomènes d'oxydation (7) (8).

4. Incidence de la température de fermentation

Nous avons observé des effets de la durée de fermentation (à température constante) sur la perception des thiols variétaux dans des vins de Colombard vinifiés en conditions équivalentes, (tableau 1).

La vitesse de fermentation est fonction de la quantité de biomasse, de la mise à disposition de nutriments (source d'azote) et de la température qui permet de contrôler les processus biochimiques. Dans cette optique nous avons cherché à forcer le processus de fermentation en favorisant la vitesse au début par une température de moût de 18°C pendant les 5 premiers jours puis à la ralentir pour la fin de fermentation avec une température de 14°C. Il s'agit dans la première partie de favoriser la révélation de thiols variétaux (3MH), et dans la seconde de favoriser la production d'acétate fermentaire (composés amyliques) mais aussi d'acétate de 3MH (Ac3MH). Ces premiers essais, sur Colombard, mettent en évidence des différences de profils aromatiques des vins (figures 5 et 6). Nous avons cherché à confirmer ces premières observations au cours du millésime 2008.

Tableau 1 : Relation entre la perception sensorielle des thiols variétaux par un jury d'experts et la durée de fermentation alcoolique des vins ; n = 65 vins ; cépage Colombard ; millésime 2006.

Intensité de la perception des thiols variétaux dans des vins de Colombard 2006	Nombre de vins dégustés	Durée de fermentation (jours)	Groupes homogènes
Très moyenne	12	21,3	B
Moyenne	19	16,2	B
Elevée	13	15,5	B
Très élevée	21	13,8	A

La vitesse de fermentation est fonction de la quantité de biomasse, de la mise à disposition de nutriments (source d'azote) et de la température qui permet de contrôler les processus biochimiques. Dans cette optique nous avons cherché à forcer le processus de fermentation en favorisant la vitesse au début par une température de moût de 18°C pendant les 5 premiers jours puis à la ralentir pour la fin de fermentation avec une température de 14°C. Il s'agit dans la première partie de favoriser la révélation de thiols variétaux (3MH), et dans la seconde de favoriser la production d'acétate fermentaire (composés amyliques) mais aussi d'acétate de 3MH (Ac3MH). Ces premiers essais, sur Colombard, mettent en évidence des différences de profils aromatiques des vins (figures 5 et 6). Nous avons cherché à confirmer ces premières observations au cours du millésime 2008.

Conclusion

Les conditions de fermentation sont primordiales pour une expression optimale des composés soufrés variétaux dans les vins.

Parmi les composantes du moût, la fraction azotée doit être considérée avec plus d'attention par le vinificateur s'il veut optimiser le profil thiols variétaux de ces vins. En conséquence, une meilleure connaissance non seulement de la quantité mais aussi de la répartition des fractions ammoniacales et aminées doit s'envisager.

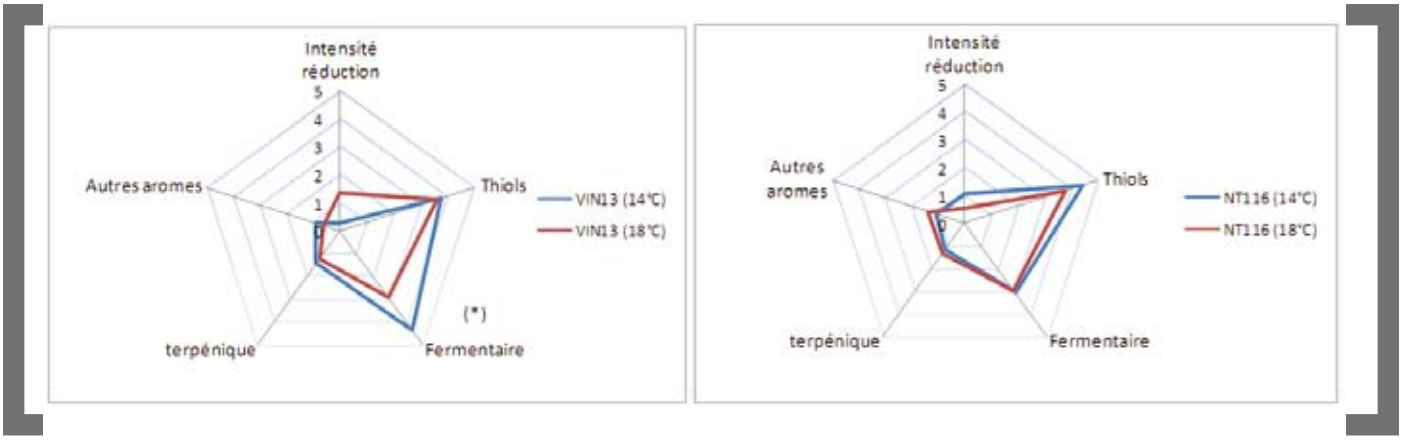


Figure 5 : Description aromatique de vins de Colombard vinifiés suivant deux profils de température et avec 2 souches de levure ; profil 18°C = température constante ; profil 14°C = début de fermentation (5 jours) à 18°C puis 14°C jusqu'à la fin ; millésime 2007

La vitesse de la fermentation alcoolique, à température constante, influence l'intensité de la perception de ces composés soufrés variétaux dans les vins. L'évolution de la température au cours de la fermentation peut permettre aussi d'orienter le profil aromatique des vins.

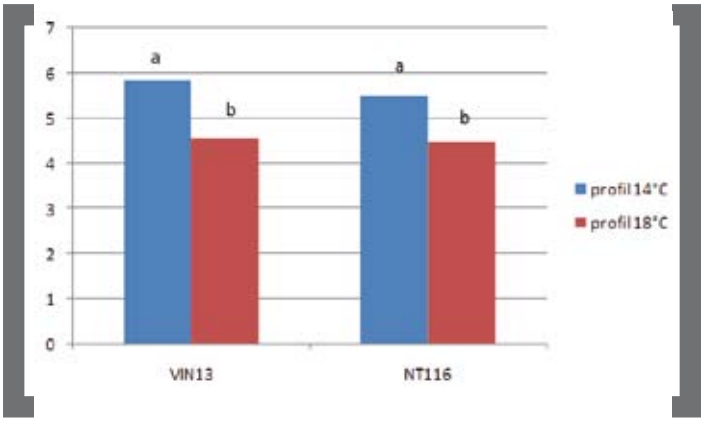


Figure 6 : Note (de 1 à 10) de la qualité aromatique globale d'un vin de Colombard vinifiés suivant deux profils de température ; profil 18°C = température constante ; profil 14°C = début de fermentation (5 jours) à 18°C puis 14°C jusqu'à la fin ; millésime 2007

Les progrès actuels qui se dessinent pour la production des thiols variétaux dans les vins, que ce soit au vignoble ou à la cave, ouvrent des perspectives aux vinificateurs (de petits ou de grands volumes) pour mieux piloter leur matière première et ainsi maitriser à souhait l'expression aromatique de leur vin.

Bibliographie

(1)TOMINAGA T., 1998. Recherche sur l'arôme variétal des vins de Vitis vinifera cv. Sauvignon blanc et sa génèse à partir des précurseurs inodores du raisin. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II, 218p. Université Victor Ségalen Bordeaux 2.

(2)DUFOURCQ T., SCHNEIDER R., RENARD R., SERRANO E., 2006. Incidences du climat, du sol, de la date de récolte sur le potentiel aromatique du cépage Colombard en Gascogne. VIe Congrès International des terroirs viticoles , Bordeaux (France) p391-395

(3)DAGAN L., 2006. Potentiel aromatique des raisins de Vitis vinifera L. cv. Petit Manseng et Gros Manseng. Contribution à l'arome des vins de pays des Côtes de Gascogne. Thèse de Doctorat de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier, 225p.

(4)DUFOURCQ T., GONTIER L., SACCHARIN P., DIAS F., BARTHELEMY B., MICHEZ A., SERRANO E., 2008. Influence d'apport d'azote par voie foliaire sur la qualité aromatique des vins de Midi-Pyrénées, compte rendu d'expérimentation, 18p.

(5)DUFOURCQ T., BONNEAU F.,DESPRATS A., SERRANO E., 2008. Contribution des facteurs viticoles et œnologiques au potentiel aromatique des vins blancs de Colombard en Gascogne. VIIe Congrès International des terroirs viticoles, Changins (Suisse) p530-535.

(6) SUBILEAU M., 2008. Parameters influencing varietal thiol release by strains of Saccharomyces cerevisiae : from a controlled synthetic medium to the complexity of Sauvignon blanc must. Thèse de Doctorat de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier, 154p.

(7) CHEYNIER V., SOUQUET JM., MOUTOUNET M., 1989. Glutathione content and glutathione to hydroxycinnamic acid ratio in Vitis vinifera grapes and musts. Am. J. Enol. Vitic., 40, p320-324.

(8)DUBOURDIEU D., LAVIGNE-CRUEGE V., 2003. Rôle du glutathion sur l'évolution aromatique défectueuse des vins blancs secs. VIIème Symposium International d'œnologie, Arcachon (France) p331-347

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE DE CONSERVATION SUR LA QUALITÉ AROMATIQUE DES VINS

F. DAVAUX(1), T. DUFOURCQ(2), M. VINCENT(3)

(1) IFV MIDI-PYRÉNÉES - V'INNOPÔLE - BP 22 - 81 310 LISLE SUR TARN
(2) IFV MIDI-PYRÉNÉES - CHÂTEAU DE MONS 32100 CAUSSENS
(3) VIGNERONS INDÉPENDANTS DE GASCOGNE - 37 AVENUE DES PYRÉNÉES - 32 800 EAUZE

Introduction

Les Vins de Pays des Côtes de Gascogne sont principalement issus de Colombard, Gros Manseng et Ugni Blanc. Ces vins sont caractérisés par leur puissance aromatique, grâce principalement à la présence de thiols variétaux.

Les Vins de Pays des Côtes de Gascogne blancs, sont, pour une grande part, destinés aux marchés d'exportation. Pour satisfaire ces clients, les vignerons se doivent de proposer des produits homogènes et réguliers. De plus, les vins enlevés doivent correspondre aux échantillons dégustés, malgré le décalage dans le temps entre la sélection du vin et son retrait effectif du chai.

Or, les vignerons ont remarqué que le potentiel aromatique des vins blancs diminuait fortement dans les mois qui suivent leur élaboration, alors que c'est à ce moment là, que le vin est présenté aux distributeurs.

Afin de contrôler et diminuer cette évolution, les vignerons conservent leurs cuves à basse température. Les pratiques viticoles font apparaître une grande diversité dans la température de conservation des vins (de 0°C à température ambiante).

En collaboration avec la Fédération des Vignerons Indépendants de Gascogne, l'IFV Midi-Pyrénées a mis en place une étude afin de déterminer une plage optimale de température de conservation.

1. Objectifs

L'objectif de ces essais, est de déterminer l'incidence réelle de la température lors de la conservation des principaux cépages de Gascogne, comme le Colombard, le Gros Manseng et l'Ugni Blanc, sur leurs qualités aromatiques.

2. Mise en place de l'essai

L'essai est mis en place a chai expérimental de l'IFV Midi-Pyrénées dans des chambres climatisées aux températures déterminées.

Un suivi mensuel de la température, de l'oxygène dissous, du SO_2 et de la couleur des vins, est réalisé tout au long de l'essai. Parallèlement au contrôle physico-chimique, un suivi organoleptique permet de suivre l'évolution des vins tout au long de leur conservation.

3. Résultats

Malgré toutes les précautions mises en œuvre pour limiter la dissolution d'oxygène au cours du transfert et de la mise en place de l'essai, on retrouve entre ¼ et ½ de saturation du vin au point zéro. L'évolution de la consommation d'oxygène dissous est fonction de la température du vin, mais aussi du cépage mis en œuvre.

Le Gros Manseng et l'Ugni-Blanc conservés à 0°C ont consommé leur oxygène en mai (figure 1), alors qu'il faut attendre décembre pour le Colombard conservé à la même température. D'après les connaissances actuelles, cet effet matrice peut être associé à une plus faible quantité d'éléments oxydables dans les vins. Dans tous les cas, les vins à 16°C consomment leur oxygène dans le premier mois.

Plus les vins de Colombard sont conservés au froid, et plus ils conservent leurs caractères de départ. En début de conservation (5 premiers mois), les vins ne présentent pas de différence. Le décrochage se fait pendant la période estivale (T + 7 mois), où les vins conservés à 16°C et à la température du chai (<20°C) perdent leurs caractères « thiols ».

Le dosage des composés « thiolés » 3MH et A-3MH après 12 mois de conservation aux différentes températures, montre une forte diminution de la perception des notes de buis, fruits exotiques apportées par l'acé-

Tableau 1 : Description de l'essai « Conservation » - Essais IFV Midi-Pyrénées 2008

Facteur	Niveau	Description	
Cépage	3	Colombard, Gros Manseng, Ugni Blanc	
Température de conservation	4	**2005** Conservation à 0°C Conservation à 8°C Conservation à 16°C Température du chai (<20°C)	**2006** Conservation à 0°C Conservation à 4°C Conservation température du chai 12°C (juillet/août) Conservation température du chai 4°C (juillet/août)
Durée de conservation	1	12 mois (janvier à janvier)	
Volume mis en œuvre	1	2.5 hl/modalité	
Millésime	1	2005 – 2006	
Type de produit	1	VDP Côte de Gascogne	

tate de 3-Mercaptohexanol composé, qui est 15 fois plus odorant que le 3MH (figure 2).

Des 3 cépages étudiés, les vins de Gros Manseng sont les plus aptes à évoluer favorablement, en développant des notes aromatiques complexes, où pourraient s'exprimer à la fois les composés aromatiques fruités de la jeunesse (thiols variétaux, esters), et des notes plus complexes apportées par des composés de types C13-Norisoprénoïdes, et plus particulièrement la β domacénones ou le diméthyl-sulfure (DMS).

A la dégustation, les vins conservés à 8°C et 0°C présentent des profils semblables. A 8°C, les notes florales et de fruits séchés (abricot, figue) s'expriment plus favorablement. A 0°C, ce sont les notes primeurs et végétales qui sont supérieures.

Les vins conservés à la température du chai (<20°C) et à 16°C sont perçus après 12 mois de conservation, comme plus oxydés ; notes qui n'améliorent pas la complexité des vins, d'après le jury de dégustateurs (figure 3).

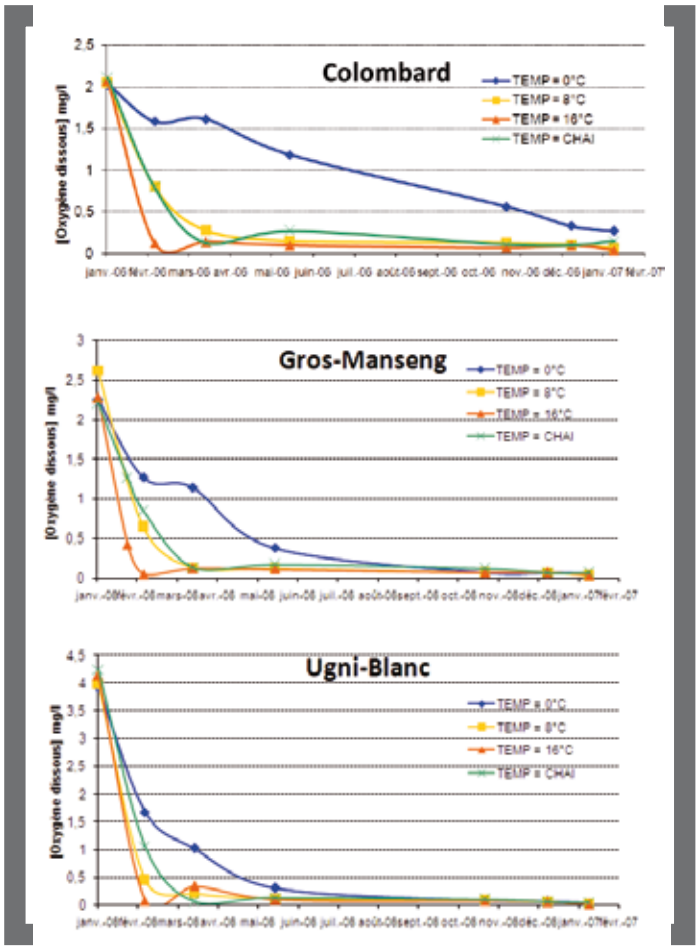


Figure 1 : Evolution de l'oxygène dissous au cours des 12 mois de conservation dans les vins de Colombard, Gros Manseng et Ugni Blanc – Essais IFV Midi-Pyrénées 2008

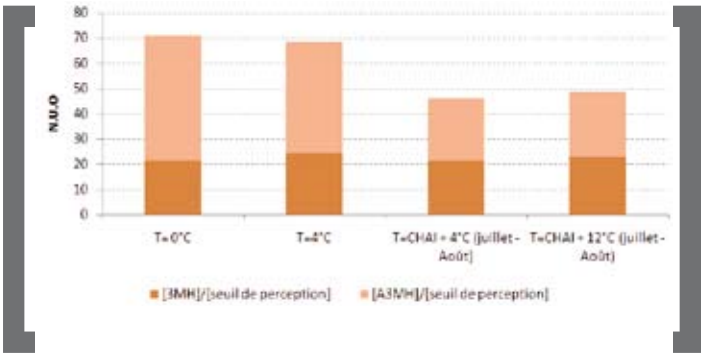


Figure 2 : Influence de la température de conservation sur la composition des vins en 3 MH et A-3MH – Essais IFV Midi-Pyrénées 2008

Les vins d'Ugni Blanc se caractérisent essentiellement par leur caractère fruité de type primeur. Le vin conservé à 0°C est la seule modalité qui conserve un caractère primeur sans note d'évolution marquée après 12 mois d'élevage (figure 4).

A partir d'une température de conservation de 8°C, les vins présentent après 12 mois d'élevage un caractère primeur très amoindri, avec des notes d'oxydation particulièrement marquées.

Suite à ces résultats, l'étude réalisée sur le millésime 2006, montre que cette perte aromatique est peut être limitée avec une température de conservation du vin à 4°C. Au delà, la perte en ester et surtout en acétate (figure 5), et plus particulièrement l'acétate d'éthyle, entraîne une forte diminution des caractéristiques primeurs des vins.

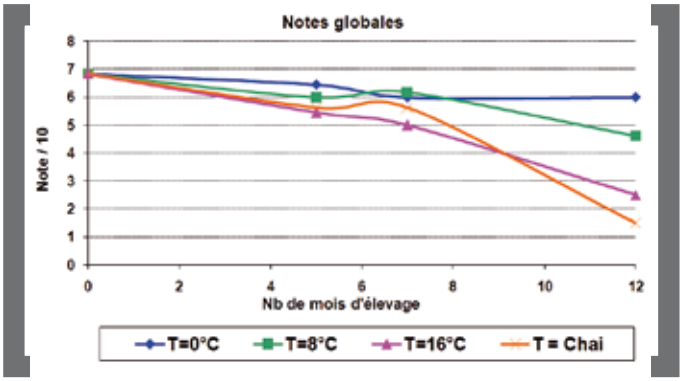


Figure 3 : Caractéristiques organoleptiques des vins de Gros Manseng au cours des 12 mois de leurs conservations a différentes températures – Essais IFV Midi-Pyrénées 2008

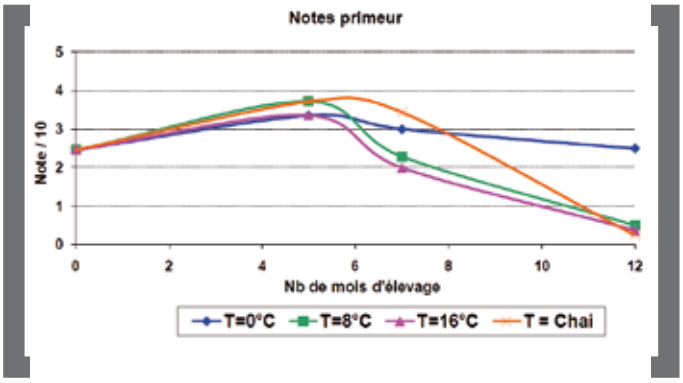


Figure 4 : Evolution des caractéristiques de type « primeur » des vins d'Ugni Blanc au cours des 12 mois de conservation a différentes températures – Essais IFV Midi-Pyrénées 2007

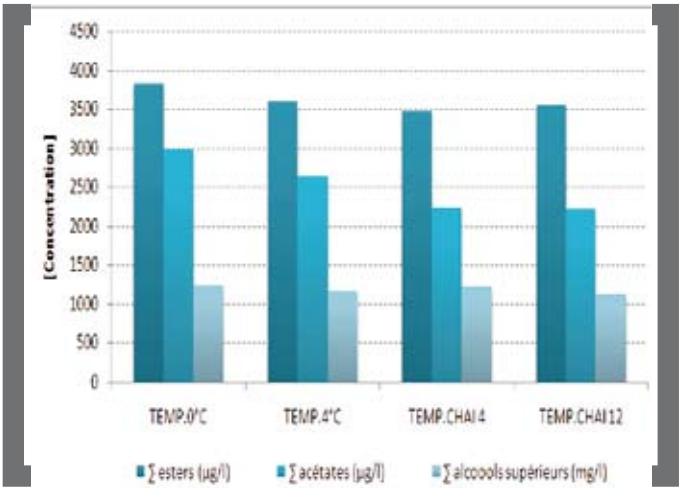


Figure 5 : Composition des vins en esters, acétates et alcools supérieurs après 12 mois de conservation à différentes températures – Essais IFV Midi-Pyrénées 2008

4. Conclusions

Les résultats obtenus au cours de ces essais sont riches d'enseignement.

Les trois cépages n'évoluent pas de la même façon. Cette évolution peut être rapprochée des composés d'arômes, qui forment la typicité des vins. Les esters et acétates qui forment l'essentiel de la caractéristique aromatique de l'Ugni Blanc, ne se conservent de façon optimale qu'entre 0° et 4°C. Dès 8°C, les vins évoluent négativement à partir de l'été suivant.

La perception des « thiols variétaux » dans le Colombard et surtout dans le Gros Manseng, résiste mieux à l'élevage des températures ≤ à 8°C, et de façon optimale à 0°C.

Dans tous les cas, la conservation des vins étudiés à 16°C, ou à température du chai, entraîne une évolution très nette des vins sur le caractère oxydation, par rapport à une conservation à température plus fraîche (< 10°C).

Optimisation de la cuverie et des dépenses frigorifiques grâce à un simulateur de la fermentation alcoolique

J.M. Sablayrolles

UMR 1083 Sciences pour l'œnologie, INRA, 34060 Montpellier
email : sablayro@supagro.inra.fr

Au niveau d'une cave, l'amélioration de la gestion de la cuverie et la baisse des dépenses frigorifiques peuvent représenter des enjeux majeurs. Si des progrès importants ont déjà été réalisés, des améliorations sont encore possibles, notamment en ce qui concerne les fermentations alcooliques. Une perspective intéressante consiste à développer des outils de prédiction de ces fermentations afin de mieux raisonner-anticiper leur déroulement et donc leur gestion. Une première étape en ce sens consiste à simuler cette fermentation et ainsi estimer son déroulement, à partir de données sur la composition initiale du moût. C'est précisément ce qui est présenté, avec l'élaboration :

- d'un modèle de la fermentation alcoolique suffisamment précis pour estimer l'évolution de la vitesse instantanée de fermentation, qui est directement proportionnelle à la production de chaleur. A noter que pour traduire cette information en terme de besoins en énergie frigorifique nécessaire pour la régulation de température, il faut en outre utiliser un modèle thermique estimant les pertes thermiques (1)

- d'un logiciel , basé sur ce modèle et prenant en compte non seulement une cuve de fermentation mais aussi l'ensemble d'une cuverie.

1. Modélisation de la fermentation alcoolique

Le modèle élaboré (2) prend en compte les principaux mécanismes physiologiques qui limitent la capacité fermentaire des levures. Comme indiqué sur la figure 1, il intègre :

- l'entrée des composés dans la cellule, principalement le transport des sucres et celui des composés azotés (acides aminés et sels d'ammonium),

- le rôle inhibiteur de l'éthanol,

- l'impact de la température, y compris lorsque celle ci évolue en cours de fermentation

Le modèle a été testé sur une centaine de moûts synthétiques et naturels, principalement à l'échelle laboratoire (1 litre) mais aussi aux échelles pilote (100 litres) et industrielle (10 000 litres) et ce dans des conditions très différentes : quantités d'azote assimilable de 70 à 570 mg/l, ajouts d'azote (figure 2) suivant différentes modalités, conditions isothermes (18 à 30°C) ou non-isothermes (18 à 28°C) (figure 3). A l'exception de quelques moûts particuliers (principalement ceux conduisant à des arrêts de fermentation), le logiciel permet de décrire la cinétique au cours de la fermentation avec une bonne précision et de prévoir la durée de fermentation avec une erreur moyenne d'environ 10% (3).

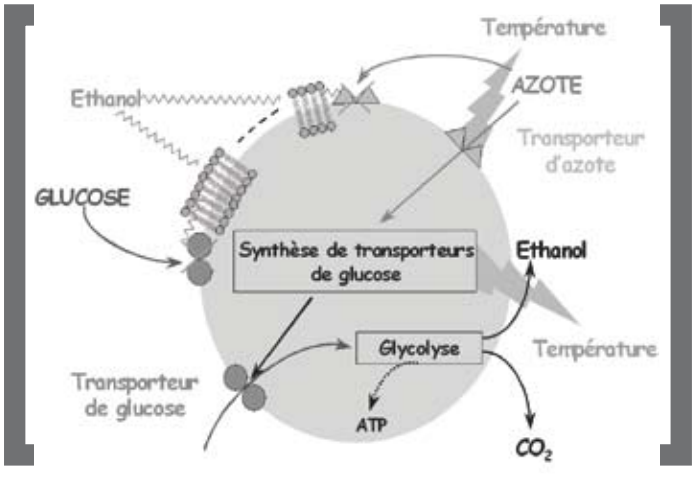


Figure 1 : Modélisation de la fermentation alcoolique

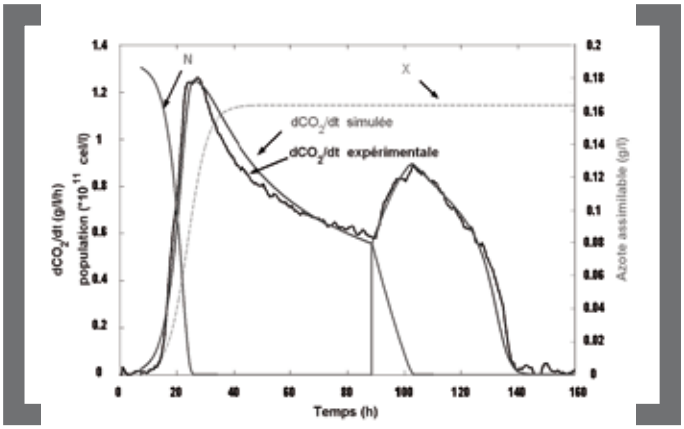


Figure 2 : Validation du modèle :
estimation de l'évolution de la vitesse de fermentation.
Cas d'un ajout d'azote (300 mg/l de diammonium phosphate).

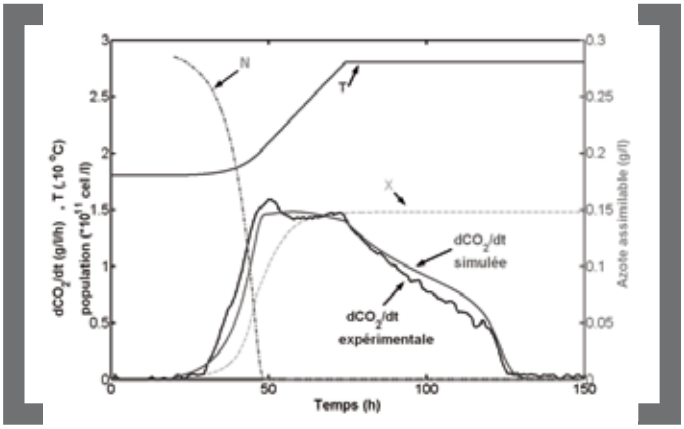


Figure 3 : Validation du modèle :
Validation du modèle. Conditions non isothermes.

2. Logiciel de simulation

Un logiciel basé sur ce modèle a été développé. Il permet de simuler la cinétique fermentaire à partir des données suivantes : teneur initiale du mout en sucre et en azote assimilable, régime de température, ajouts de nutriments (azote ammoniacal). A noter l'importance de la concentration en azote assimilable qui est essentielle pour estimer la vitesse de fermentation (notamment la vitesse maximale).

Ce simulateur prend en compte l'ensemble d'une cave (possibilité de plusieurs dizaines de cuves). Il peut donc permettre d'estimer (a) les durées d'occupation de toutes les cuves (visualisées par des barres sur la figure 4) mais aussi (b) la quantité de frigories nécessaire pour réguler la température dans chacune des cuves et donc, par addition, sur l'ensemble de la cuverie (courbe en haut de l'écran sur la figure 4).

Au delà de cette fonction de simulation, cet outil possède un module d'aide à la décision pour rationaliser la gestion de la cuverie et des ressources frigorifiques. Pour cela, et en utilisant des approches relevant de la logique floue, il propose des solutions, dans lesquelles il modifie le moment de lancement de la fermentation, le régime de température et l'ajout de nutriments.

Ce logiciel est donc un outil pédagogique et d'aide à la décision. A noter cependant qu'il n'est pas utilisable pour estimer les risques d'arrêt de fermentation, dont le déterminisme est complexe et quasi-impossible à formaliser dans le cadre d'un modèle .

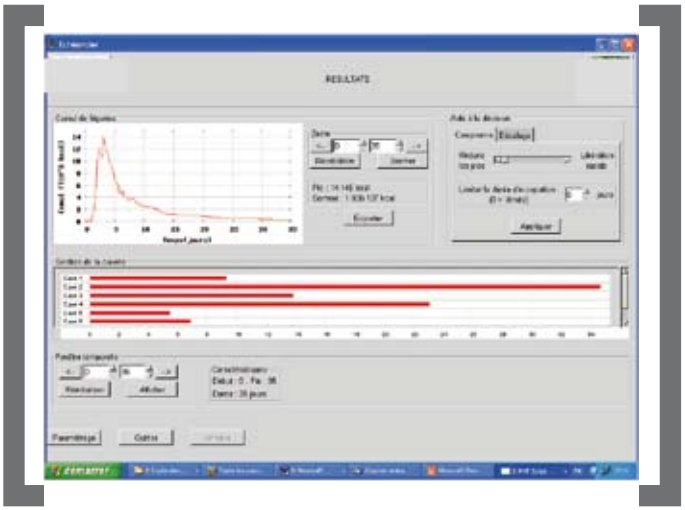


Figure 4 : Simulateur.
Exemple de simulation, à l'échelle d'une cave.

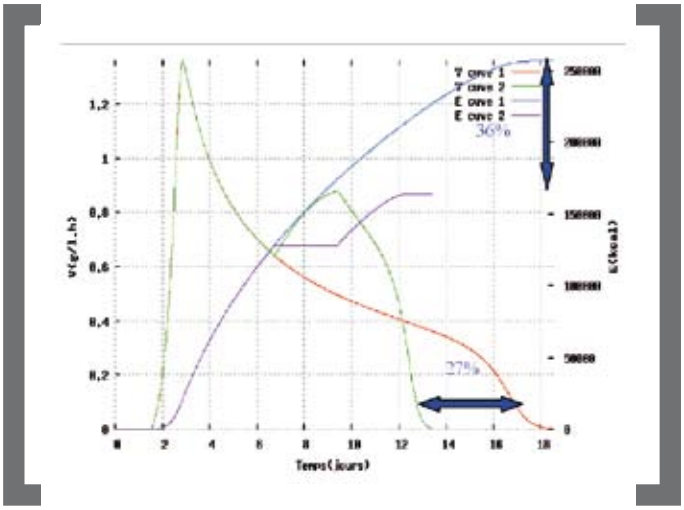


Figure 5 : Effet du régime de température

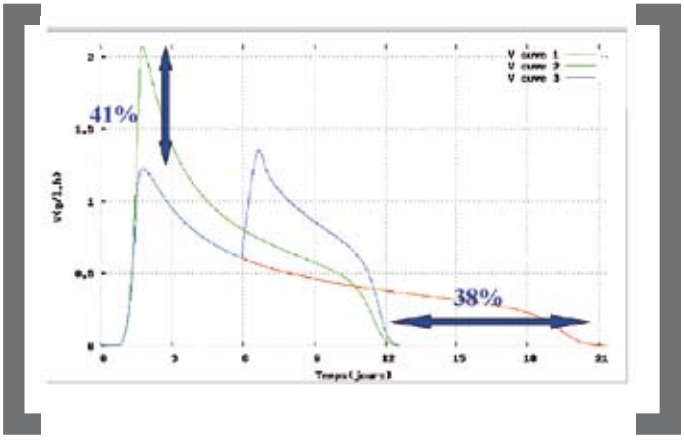


Figure 6 : Effet d'un ajout d'azote assimilable

3. Exemples

Voici quelques exemples illustrant l'intérêt du simulateur pour quantifier l'impact d'opérations technologiques.

Exemple1 : Quelles conséquences d'une augmentation de température en cours de fermentation ?

Il s'agit de quantifier l'impact d'une pratique relativement courante consistant, en conditions de vinification en blanc, à laisser augmenter la température en fin de fermentation. Si l'on compare d'une part un régime isotherme à 16°C et d'autre part, un régime thermique avec une température initiale à 16°C et une augmentation de température - pendant la deuxième partie de la fermentation - jusqu'à 22°C, le simulateur calcule que l'augmentation de température raccourcit la fermentation de 27% et diminue les besoins en frigories de 36% (figure 5).

L'estimation de l'économie en dépenses énergétiques est à moduler en fonction de la température extérieure et du volume de la cuve mais cette estimation constitue un très bon ordre de grandeur.

Exemple2 : Quelles conséquences d'un ajout d'azote ammoniacal ?

Si l'on rajoute 400 mg/l de di-ammonium phosphate dans un mout contenant initialement 100 mg/l d'azote assimilable, l'augmentation de vitesse de fermentation (et donc de la puissance frigorifique nécessaire pour réguler la température de fermentation) est estimée à 41 % et la diminution de la durée de fermentation à 38% (figure 6). Ce résultat illustre clairement le très fort impact d'un ajout d'azote.

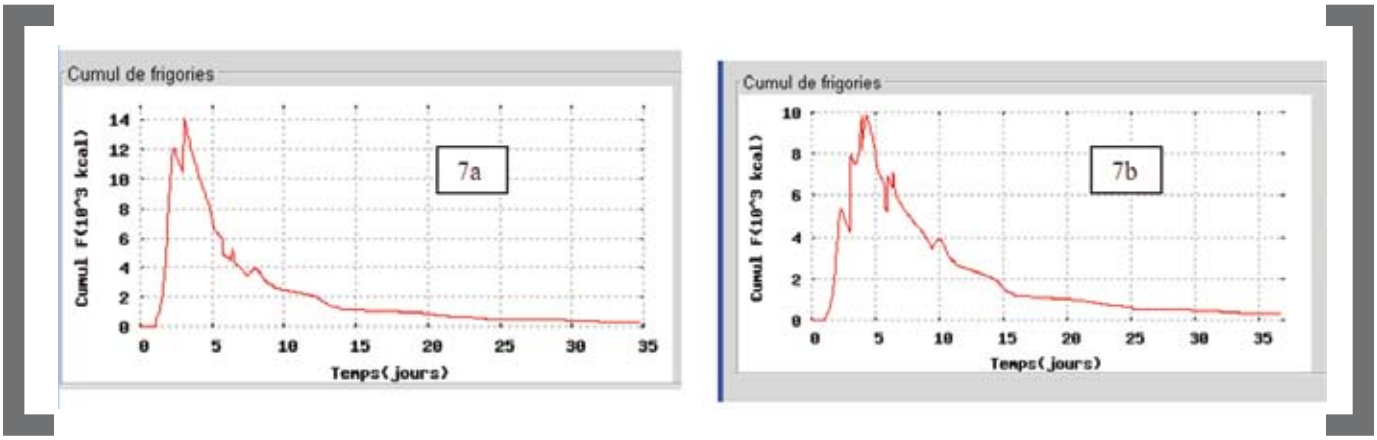


Figure 7 : Module d'aide à la décision . Intérêt d'un décalage des lancements de fermentation. 7a : lancements simultanés, 7b : décalage (de 24 ou 48 h) de certaines cuves pour abaisser la demande maximale en frigories.

Exemple3 : A l'échelle d'une cave, quel intérêt d'un décalage des lancements de fermentation ?

Les dates de lancement de fermentation sont souvent imposés mais, lorsque c'est possible, il peut y avoir un fort intérêt à échelonner ces lancements. Sur l'exemple choisi (figure 7), le module d'aide à la décision du simulateur propose certains lancements différés (jusqu'à 48 h) de telle sorte que la demande cumulée maximale en énergie frigorifique (qui doit être inférieure à la puissance du groupe frigorifique) devient inférieure de 31% à celle estimée dans le cas où toutes les fermentations démarreraient en même temps.

4. Perspectives

Après avoir utilisé le modèle pour faire de la simulation et de l'aide à la décision, il est possible d'envisager son utilisation pour un contrôle prédictif et optimisé. Dans ce cas, les interventions sur chacune des cuves (choix du régime thermique, ajouts de nutriments) seraient ajustées cuve par cuve en tenant compte à la fois de l'état d'avancement de la réaction et des prévisions du modèle . Pour que ce contrôle soit fonctionnel, il faudrait le coupler avec un suivi en ligne de la fermentation (mesure du débit de CO_2, par exemple). Ceci permettrait en outre (a) d'une part d'affiner au cours du temps les prévisions du modèle à l'aide des mesures expérimentales et (b) d'autre part de supprimer les dosages d'azote assimilable dans les moûts (estimation à partir de la vitesse de fermentation).

Une autre perspective concerne la prise en compte dans la modélisation non seulement de la réaction principale (sucre-alcool-CO_2) mais aussi d'autres voies métaboliques conduisant à des 'molécules-marqueurs' de la qualité du produit. Il s'agit là d'une approche long terme mais qui a d'ores et déjà démarré et devrait donner lieu à des premiers résultats exploitables dans les prochaines années.

Remerciements

Ce travail a donné lieu à de nombreuses collaborations. Un merci particulier à :
- A. Goelzer, V. Fromion, S. Colombié, B. Charnomordic qui ont participé activement à l'élaboration du modèle et du similateur,
- C Gerland, dont la société (www.intellioeno.com) assure la commercialisation de ce simulateur.

Références bibliographiques

(1) Colombié S., Malherbe S., Sablayrolles J.M., 2007. Food control, 18, 953-960
(2) Malherbe S., Fromion V., Hilgert N., Sablayrolles J.M., 2004. Biotech. Bioeng., 86, 261-272.
(3) Colombié S., Malherbe S., Sablayrolles J.M., 2005. Am. J. Enol. Vitic., 56, 238-245

NOTES