

SACCHAROMYCES ET ARÔMES :

LE POINT SUR LA QUESTION

R. SCHNEIDER¹ ET M. SUBILEAU²

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 Flanzky, 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 aminés¹ 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 controverse : 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 majoritaire 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-phényléthyle (odeur de rose fanée).

¹ Les acides aminés précurseurs d'arômes fermentaires, ont pour la plupart une chaîne 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 Bayanove (1974), les précurseurs glycosidiques sont constitués d'une partie sucre liée par une liaison osi-

dique 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 (Bayanove, 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 ; Hernandez-Orte et 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 géranol 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.

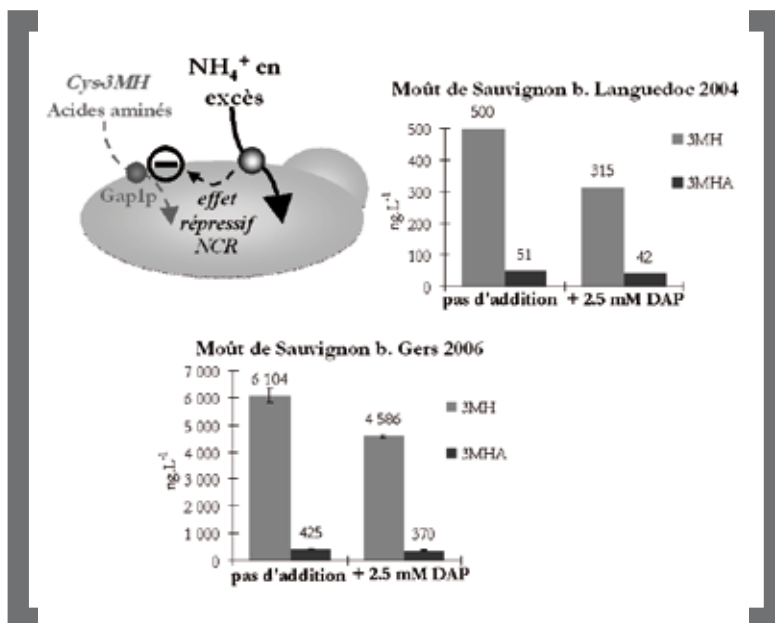


Figure 1 : Effet d'un excès d'ammonium en début de fermentation sur la révélation du 3-mercaptohexanol.