

# Utilisation de levains mixtes non-Saccharomyces / *S. cerevisiae* dans les fermentations en blanc sec

Alain Poulard

IFV Pôle Val de Loire-Centre

Château de la Frémoire 44120 Vertou  
Alain.Poulard@vignevin.com

## En quelques mots

Les levures appartenant à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* sont aujourd'hui largement utilisées pour fiabiliser la conduite des fermentations et améliorer la qualité des vins. Toutefois, le risque de déboucher vers une standardisation des produits est sou-

vent pointé comme un inconvénient majeur. Or les micro-organismes non conventionnels comme les levures non-Saccharomyces sont susceptibles de révéler des arômes variétaux et d'améliorer l'intensité et la complexité des vins. Leur intérêt semble donc une voie prometteuse ouverte à un large

champ de possibilités pour évoluer vers de nouveaux horizons aromatiques. Par ailleurs, la mise au point des conditions de démalication d'*H'spora occidentalis* ouvre de larges perspectives dans le domaine de la gestion de l'acidité des vins, blancs et rosés.

## Objectifs de l'étude

Les essais industriels en filière vin ont été réalisés avec 2 objectifs :

- Typé le produit sur le plan aromatique
- Diminuer l'acidité des vins par démalication

## Résultats

### Fermentations en flores mixtes avec un objectif aromatique

Pour les essais au stade préindustriel réalisés de 2009 à 2011, outre les 3 souches issues de la pré-sélection menée sur 2007-2009 (*Candida pyralidae* (souche RnM05), *Hanseniaspora occidentalis* (souche HOC) et *Torulosporea delbrueckii* (souche 05T2TILL)), 6 souches appartenant à 3 espèces

de levures non-Saccharomyces ont fait l'objet de tests de vinification sur des volumes expérimentaux (50 l) : *Candida intermedia* (souches 914, 915, 930), *Candida xestobii* (souches 900 et 984) et *Williopsis californica* (souche 94). L'ensemencement est séquentiel avec ajout des souches de non-Sac-

charomyces incorporées en levain liquide, puis de *Sacch. cerevisiae* au bout de 5 jours. Pour ce travail, 3 lots de raisins de cépage Melon issus de terroirs différents ont été vendangés à différentes étapes de maturité.

### Cinétiques fermentaires

En 2009, le témoin présente une cinétique franche et très rapide (12 jours) alors que les fermentations en flores mixtes demandent en moyenne une dizaine de jours supplémentaires pour achever la F.A.

En 2010, 5 souches de non-Saccharomyces : *Candida intermedia* 914, *C. pyralidae* RnM05, *C. xestobii* 900 et *Torulosporea delbrueckii* A1S05 et

H2S05 sont couplées à *S. cerevisiae* (4F9) en cultures mixtes-séquentielles dans 3 moûts de Melon. Des difficultés fermentaires sont observées pour la majorité des essais par rapport au témoin. Ce phénomène de concurrence entre souches amène à préciser la demande initiale d'N assimilable dans les jus. Ainsi, 3 nouveaux moûts de Melon sont réajustés à 210 mg/l. avant

ensemencement des couples de souches dans les mêmes conditions que précédemment. L'optimisation des teneurs en N du moût assure des cinétiques fermentaires rapides et complètes avec un gain de 5 à 10 jours pour les non-Saccharomyces, à l'exception de *C. pyralidae* RnM05.

### Caractéristiques physico-chimiques et aromatiques des vins

Les vins issus des fermentations en levains mixtes présentent une composition analytique très voisine de ceux élaborés classiquement. Ils sont remarquables par leur teneur peu élevée en acidité volatile (<0,15 g/l) ainsi que leur faible pouvoir de combinaison du SO<sub>2</sub> équivalent à celui des produits vi-

nifiés avec Saccharomyces cerevisiae seule.

Les analyses d'arômes révèlent une grande complexité des vins issus de levains mixtes. Ainsi, Candida intermedia et C.pyralidae forment d'importantes quantités d'isobutyrate et de 2-méthylbutyrate d'éthyle exhaus-

sant significativement la composante fruitée des vins. Les esters éthyliques d'acides gras à longue chaîne (C6-C8-C10) sont également relevés en proportions très significatives. L'impact de ces souches sur la production de thiols (3-MH, acétate de 3-MH) semble cependant peu significatif.

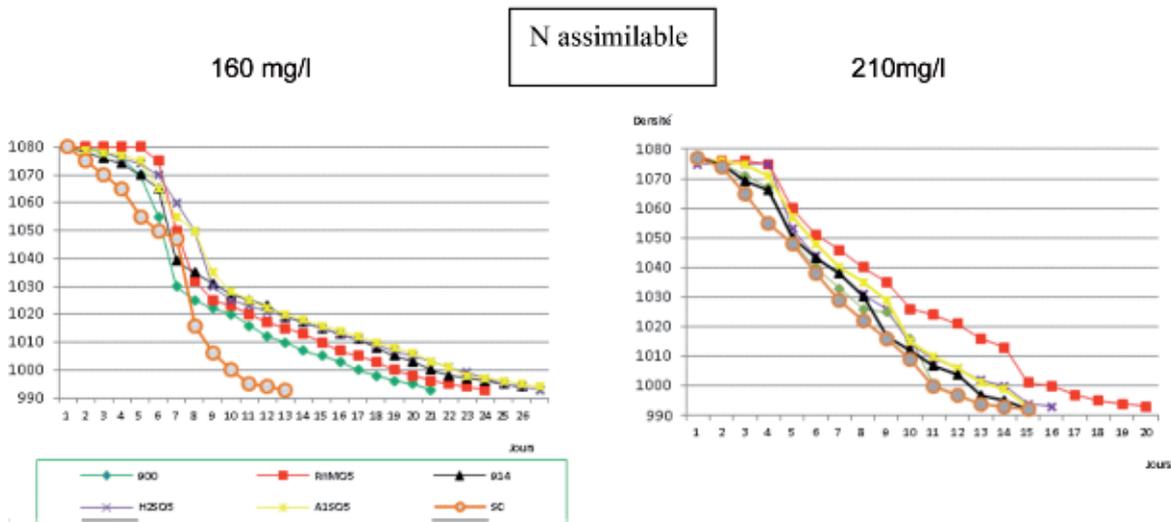


Figure 1 : Incidence de la teneur en N assimilable sur les cinétiques fermentaires en flores mixtes

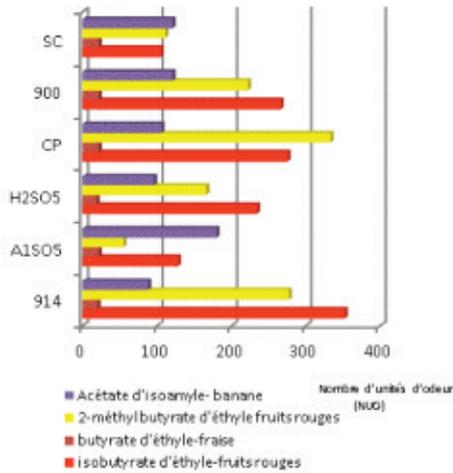


Figure 2 : Production d'esters à caractère fruité

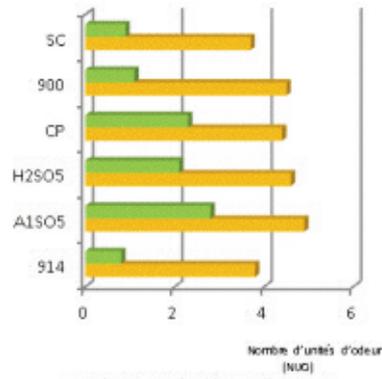


Figure 3 : Production de composés thiolés

### Caractéristiques sensorielles des vins

Les dégustations effectuées à plusieurs stades de l'élaboration des vins montrent que les vins résultants de fermentations en flores mixtes sont appréciés en général pour leur com-

plexité aromatique et leurs caractéristiques gustatives

A l'issue de ces examens sensoriels, 3 souches se détachent sur quelques descripteurs jugés significativement

meilleurs : caractère fruités ou floraux, gras sucrosité équilibre et longueur en bouche : Candida xestobii 900, Candida intermedia 930 ainsi que Candida pyralidae (RnM05).

## Fermentations séquentielles en flores mixtes avec un objectif de démalication.

Le travail réalisé porte sur les conditions de mise en œuvre de la souche déjà sélectionnée d'*Hanseniaspora occidentalis* Hoc 2.0 au cours de la vinification en blanc sec. Les conditions de croissance ont été optimisées vis à vis d'un apport en thiamine et de

l'oxygénation. En vue de l'utilisation de cette souche, d'autres paramètres font l'objet d'investigations : la réalisation d'un ensemencement avec phase ou sans phase d'adaptation et le niveau de résistance à l'anhydride sulfureux. Enfin, l'ensemencement

des moûts d'*Hanseniaspora occidentalis* Hoc 2.0 en couplage avec une souche de LSA (*Sacch. cerevisiae*) est enfin envisagé sous deux formes : mixte concomitant et mixte séquentiel.

### Incidence du mode d'adaptation et de la tolérance au SO<sub>2</sub>

Les biomasses d'*H'spora occidentalis* nécessaires à l'ensemencement des moûts sont obtenues pour obtenir un ensemencement de 106 UFC/ml. Deux modes de préparation des levures sont comparés :

ensemencement direct de la biomasse sans phase d'adaptation

ensemencement indirect de la biomasse après phase d'adaptation

Dans des conditions classiques de sulfitage des moûts (sulfitage < à 7.5 g/hl), *H'spora occidentalis* supporte aisément l'ensemencement direct à partir du milieu d'enrichissement

(dégradation de 80 % de l'acide malique 7 jours après ensemencement) sans nécessité une phase d'adaptation supplémentaire. Ce point est important pour envisager par la suite un développement œnologique de ces levures.

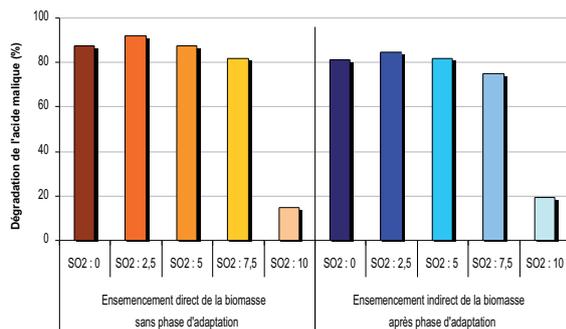


Figure 4 : Pourcentage de dégradation de l'acide malique dans les moûts par *H. occidentalis*, en fonction du mode de préparation de la biomasse et de la quantité de SO<sub>2</sub> apportée dans les moûts en g/hl.

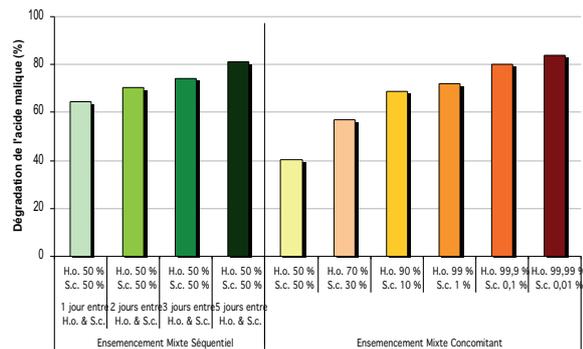


Figure 5 : Pourcentage de dégradation de l'acide malique par *H. occidentalis* en fonction du type d'ensemencement et des proportions de chaque espèce levurienne.

### Comparaison entre l'ensemencement mixte et l'ensemencement séquentiel

L'ensemencement des moûts d'*H'spora occidentalis* Hoc 2.0 en couplage avec une souche de LSA (*Saccharomyces cerevisiae*) peut-être envisagé de deux façons :

ensemencement mixte concomitant (EMC)

un ensemencement mixte séquentiel (EMS)

L'EMS favorise l'implantation d'*H'spora. occidentalis*, avant la colonisation du milieu par *Sacch. cerevisiae*

et la réalisation de la fermentation alcoolique : la dégradation de l'acide malique est très efficace (58 à 78%). Cependant, cette méthodologie est techniquement et pratiquement peu satisfaisante.

Les paramètres de l'EMC sont adaptés pour obtenir une efficacité satisfaisante pour la dégradation de l'acide malique équivalente à celle obtenue par EMS). La mise en œuvre des levures *H'spora. occidentalis* pour la démalication des

moûts consiste en un ensemencement mixte concomitant de *H'spora. occidentalis* et *Sacch. cerevisiae*, dans des proportions respectives de population de 99.99 et 0.01 % ; les cinétiques fermentaires ne sont pas très différentes des cinétiques témoins avec 100 % de *S. cerevisiae*. La proportion d'acide malique dégradée (38 à 79%) est proportionnelle à l'importance de l'apport d'*H'spora. occidentalis* (50 à 99,99%) dans le cadre de l'EMS.

### Comparaison de l'efficacité de la démalication par FML et avec *H'spora. occidentalis*

Des travaux ont été engagés sur cépage Chardonnay (IFV Beaune) pour comparer l'efficacité de la démalication par FML avec co-inoculation d'*Oenococcus oeni* et de *Saccharomyces cerevisiae* et un EMC avec la succession

d'*H'spora. occidentalis* et de *Sacch. cerevisiae* avec des quantités d'acide malique initiales comprises entre 2,5 g et 10 g/l. Si pour les faibles teneurs en acide malique (2,5 g/l) les biomasses bactériennes restent compétitives, leur

efficacité décroît particulièrement vite en fonction de l'augmentation du niveau d'acidité. A cet égard l'EMC présente une grande régularité de démalication comprise entre 45 et 60% pour la fourchette testée.

## Efficacité de différents procédés d'inoculation en vinifications industrielles

La propagation de la souche d'*H. sporula occidentalis* restant délicate dans des conditions classiques, des vinifications expérimentales ont été menées de 2007 à 2011. Les essais ont concerné dans un premier temps les vins blancs secs

issus de cépages Melon, Folle Blanche et Chardonnay ; le Pays Nantais et la Bourgogne ont été principalement sollicités, mais une extension à d'autres régions viticoles est programmée pour la campagne 2012.

Le tableau 1 donne un exemple des caractéristiques analytiques des vins désacidifiés avec les différentes techniques d'ensemencement (EMS, EMC) sur vins blanc de cépage Melon (2009).

	Témoin S. cerevisiae	EMS	EMC
<b>Acide malique (g/l)</b>	5,9	3	2,9
<b>Acide tartrique (g/l)</b>	2,5	2,4	2,4
<b>Acidité totale (g/l)</b>	6	3,9	3,9
<b>Acidité volatile (g/l)</b>	0,24	0,17	0,15
<b>pH</b>	2,99	3,17	3,15
<b>Ethanol (%)</b>	11,80	11,75	11,75
<b>Acétate d'éthyle (mg/l)</b>	37	38	38

Tableau 1 : Caractéristiques analytiques des vins issus des vinifications industrielles

L'efficacité de la démalication est bien avérée ainsi que son impact sur l'acidité totale des vins. Cette souche n'a aucun impact négatif sur la production d'acidité volatile ainsi que sur celle d'acétate d'éthyle, souvent décriée pour les espèces classiques *H. sporula uvarum* et *Kloeckera apiculata*. Enfin la faible combinaison du SO<sub>2</sub> dans les vins équivalente à celle de *Sacch. cerevisiae*

est un atout supplémentaire pour son utilisation dans le domaine industriel de l'œnologie.

Les caractéristiques sensorielles des vins élaborés avec *H. occidentalis* montrent que la démalication a impacté positivement la qualité des vins : acidité moindre, mais aussi amélioration du potentiel aromatique (intensité des odeurs, caractère fruité principalement,

gras-sucrosité). On retrouve les mêmes profils mais accentués lors de comparaisons effectuées avec des vins ayant subi la FML, cette dernière ayant tendance à gommer les caractères floraux-fruités des vins au bénéfice de notes lactiques beaucoup plus lourdes.

## Perspectives

Le levurage séquentiel de certaines souches de levures non-Saccharomyces associées à *Sacch. cerevisiae* dans des conditions de fermentations optimisées permet d'obtenir des vins dont le profil aromatique se distingue significativement des vins élaborés en mono-souche. C'est le

cas de 3 souches de *Candida* dont une (*C. pyralidae*) va être testée pour des essais en volumes industriels en 2012. Parallèlement, l'intérêt d'*H. sporula occidentalis* pour la gestion de l'acide malique dans les moûts a été validé sur 4 campagnes. Cette souche est susceptible d'en dégrader jusqu'à 80 % des quantités initiales les premiers

jours de la FA sans modification du potentiel aromatique des vins. Produite sans succès sous forme encapsulée en 2010, elle subit actuellement des tests de séchage chez un industriel du secteur pour une commercialisation prochaine sous forme de LSA.

A.Poulard, M.Coarer, A.Pain, V.Bejan, B.Vincent, J.L. Berger 2009 Utilisation d'*Hanseniaspora occidentalis* pour la démalication des vins blancs secs Congrès Mondial du Vin OIV Zagreb.  
 A.Poulard, B.Gaina, M.Coarer, E.Cibotari, T.Burusiuk 2010 Mise en œuvre de levures non-Saccharomyces en levains mixtes dans les fermentations œnologiques. Congrès Mondial du Vin OIV Tbilissi.  
 A.Poulard, B. Gaina, T.Borodine, A. Pain, C. Riou 2011 Utilisation de levains mixtes non-Saccharomyces/S. cerevisiae dans les fermentations en blanc sec. Workshop, Symposium international de Bordeaux.  
 C.de Nadaillac.2011 Les non-Saccharomyces enrichissent le profil aromatique des blancs. IFV Pôle Val de Loire. Réussir Vigne, 179, p. 34.