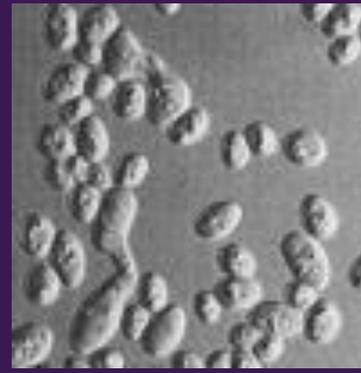
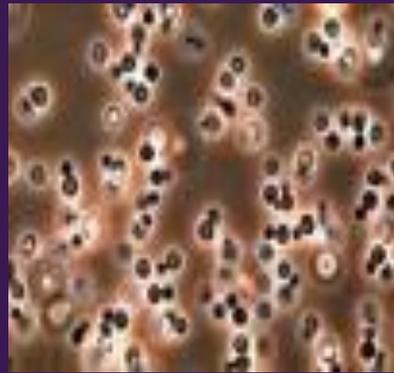


Intérêt des cultures mixtes non *Saccharomyces*-*Saccharomyces cerevisiae* dans les vinifications en blanc sec



IFV Pôle Val de Loire-Centre, Unité de Nantes-Vertou
IFV Pôle Bourgogne- Beaujolais – Savoie-Jura, Unité de Beaune
Технический университет Молдавии, КИШИНЕВ, РЕСПУБЛИКА МОЛДОВА

Les non- *Saccharomyces* en oenologie

Vaste groupe de micro-organismes extrêmement diversifié :

- .Taxonomie
- . Propriétés technologiques

Ecosystème : du raisin au vin, groupe d'espèces plutôt présentes dans les phases pré-fermentaires de l'élaboration des vins

Macération pelliculaire des vins blancs

Macération à froid pré-fermentaire en vinification en rouge

Ecologie

Au vignoble : présence prépondérante sur les baies de raisin

Les genres les plus fréquemment rencontrés en œnologie : *Hanseniaspora*, *Candida*, *Issatchenkia*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Zygoascus*, *Torulaspota*, *Debaryomyces*, *Metschnikowia*, *Zygosaccharomyces*,
.....*et Brettanomyces*

Intérêt des *non-Saccharomyces*

Outil permettant la valorisation de cépages considérés comme peu aromatiques

certaines espèces de levures non *Saccharomyces* contribuent à la complexité aromatique → *Tor. delbrueckii*

Non-Saccharomyces : autres applications

Aptitudes métaboliques originales :

Possibilités d'assimilation ou de dégradation de certains substrats (acides)

Production de molécules intéressantes (glycérol...)

Réduction du taux d'éthanol...

UTILISATION

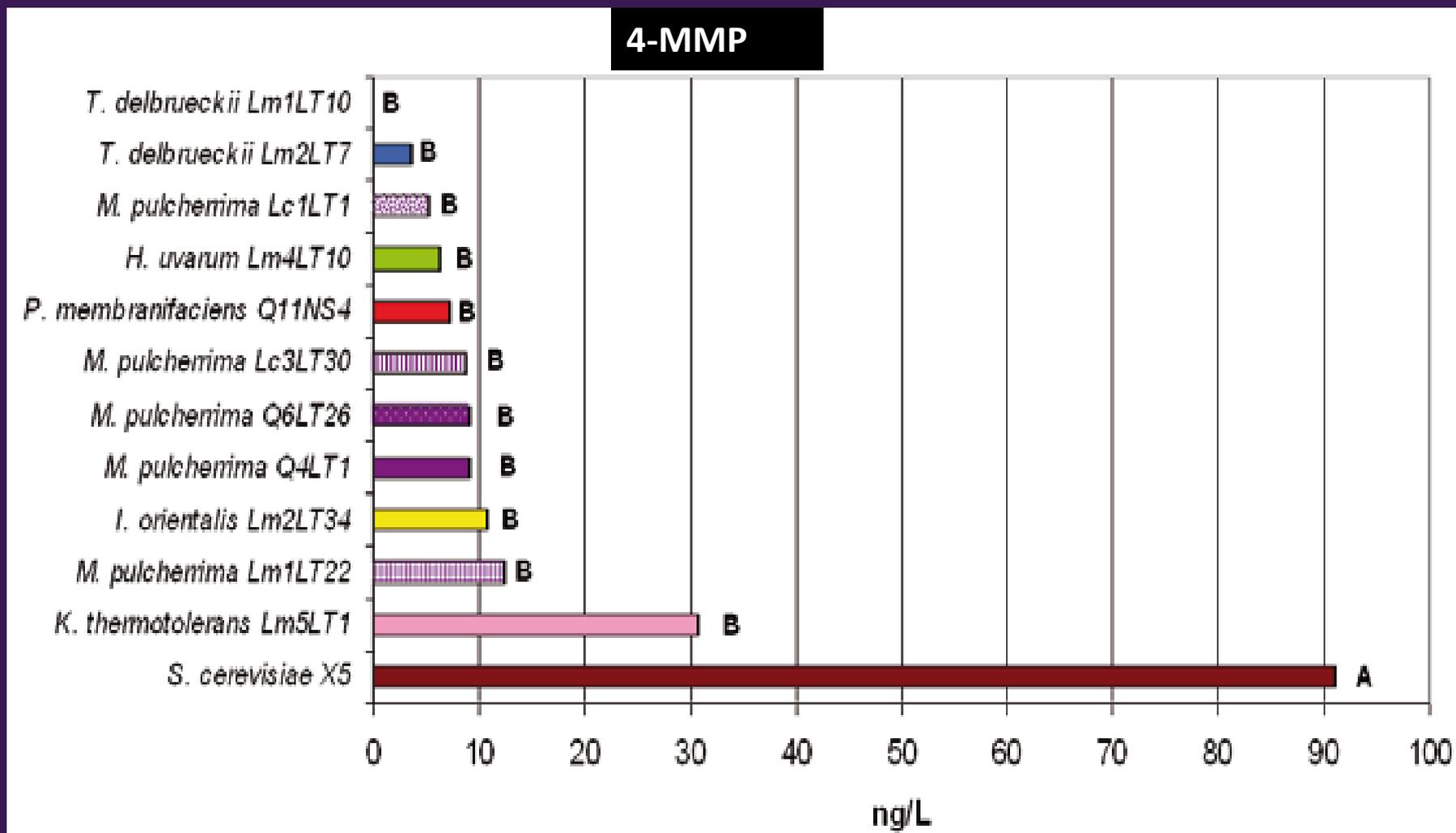


Saccharomyces cerevisiae permet le maintien des exigences technologiques propres au bon déroulement de la FA

Utilisation des cultures mixtes : vers de nouveaux horizons aromatiques (Sauvignon...)

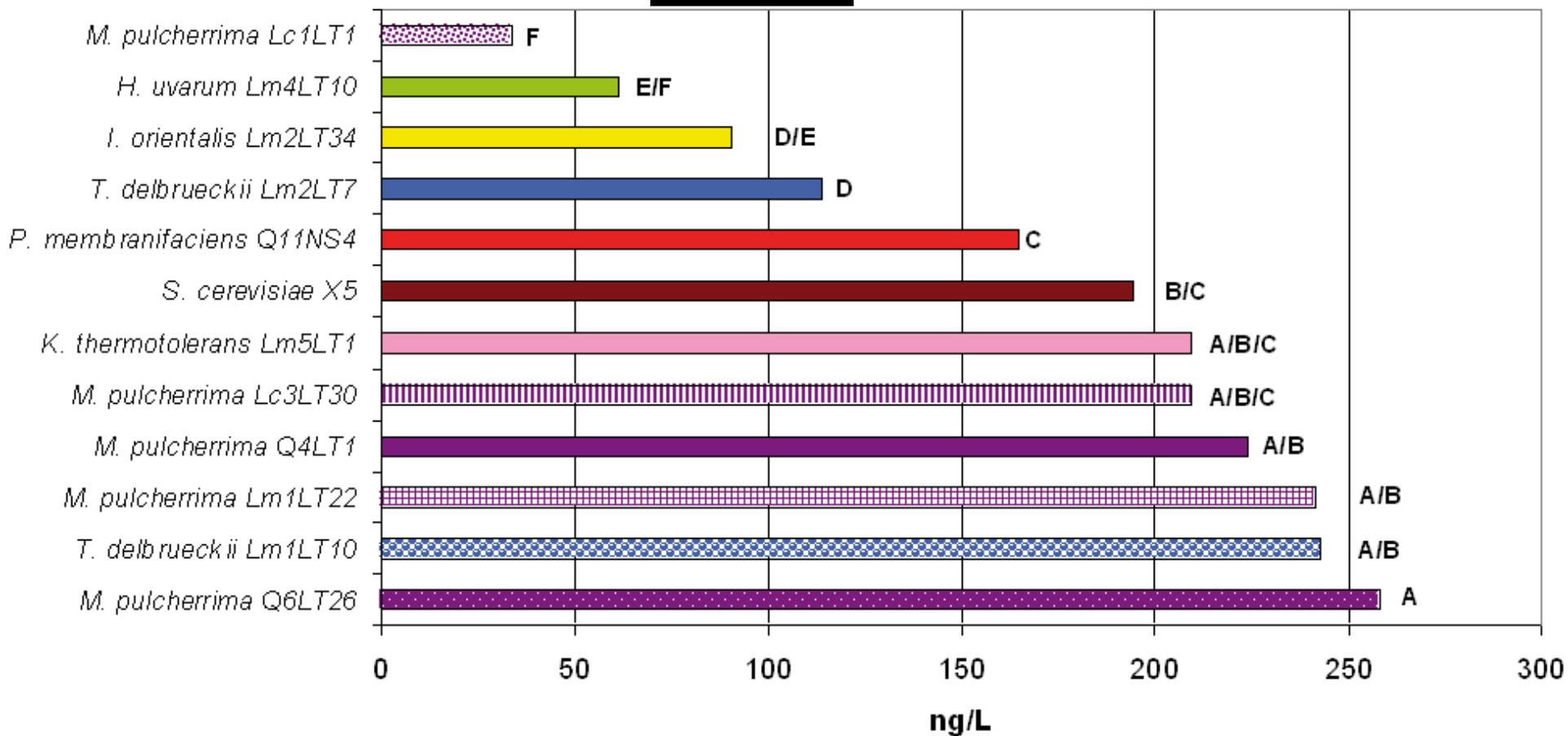
	Odeur	Seuil olfactif (ppt)
4-MMP	Buis,	0,8
3-MH	pamplemousse	60
Ac 3MH	Zeste d'agrumes	4

Production de thiols volatils par les non-Saccharomyces



Production de thiols volatils par les non-Saccharomyces

3 -MH



Impact de levures à caractère oxydatif dominant dans les vinifications en blanc

Collection nationale de levures IFV

Candida intermedia

Candida pyralidae

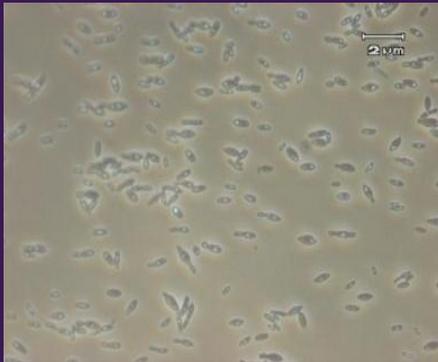
Candida xestobii

Willopsis californica

Témoin *Torulasporea delbrueckii*

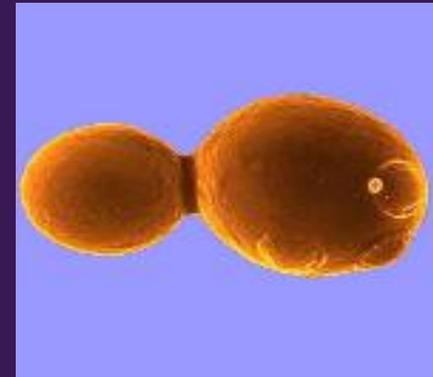
Mise en oeuvre

Levurage séquentiel



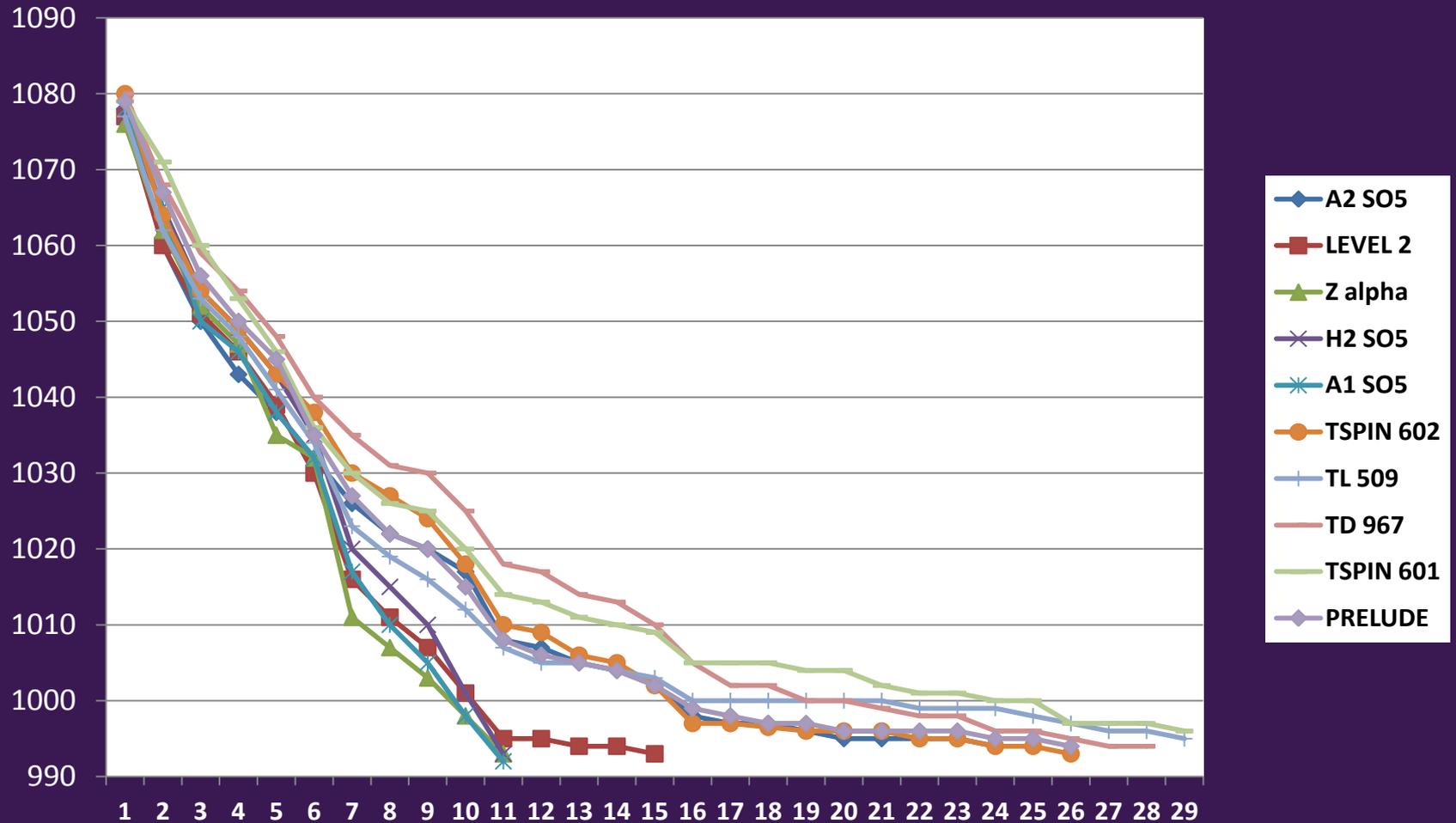
Non-Saccharomyces

J+4

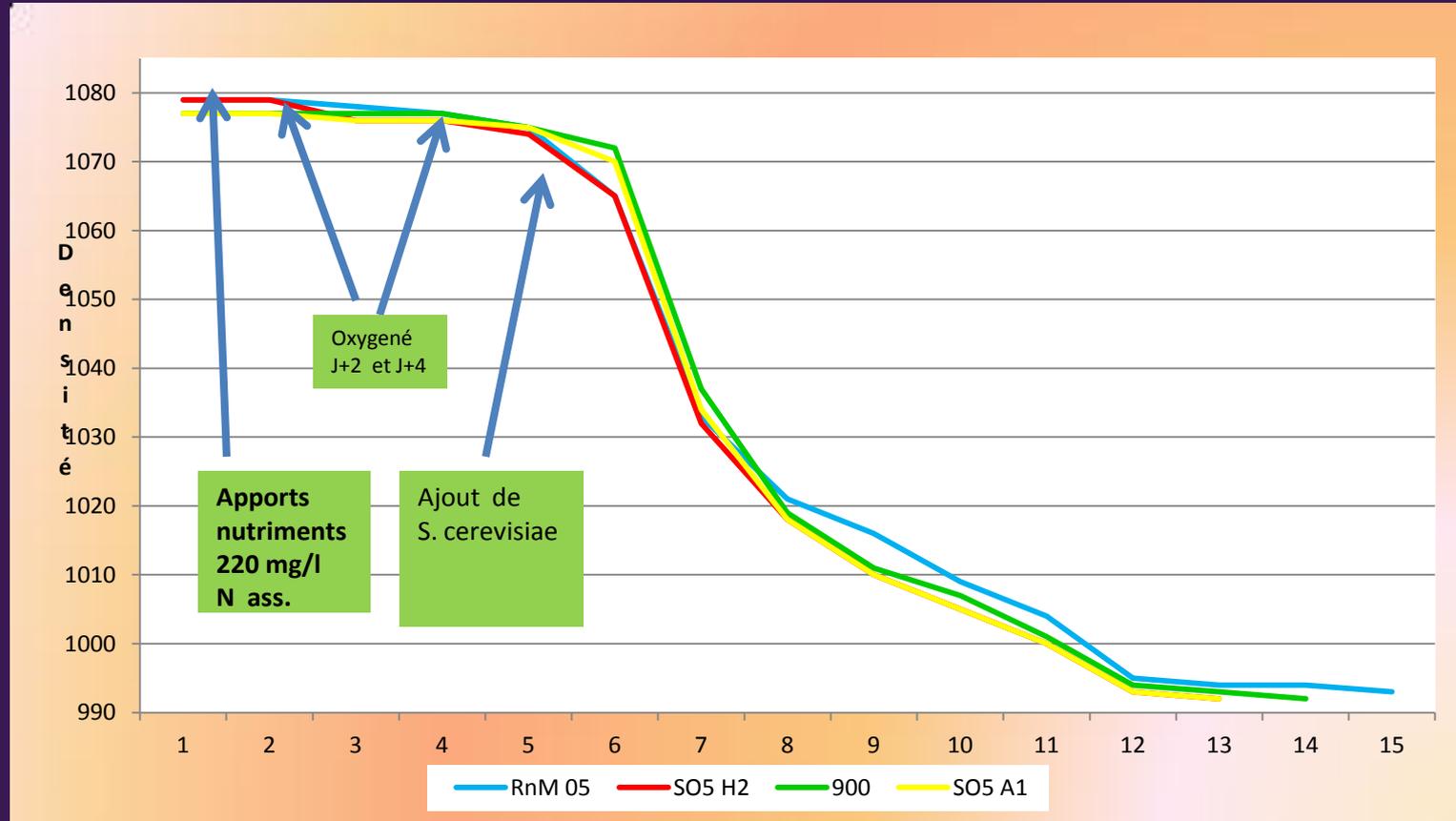


Saccharomyces cerevisiae

Exigences en nutriments variables selon les souches



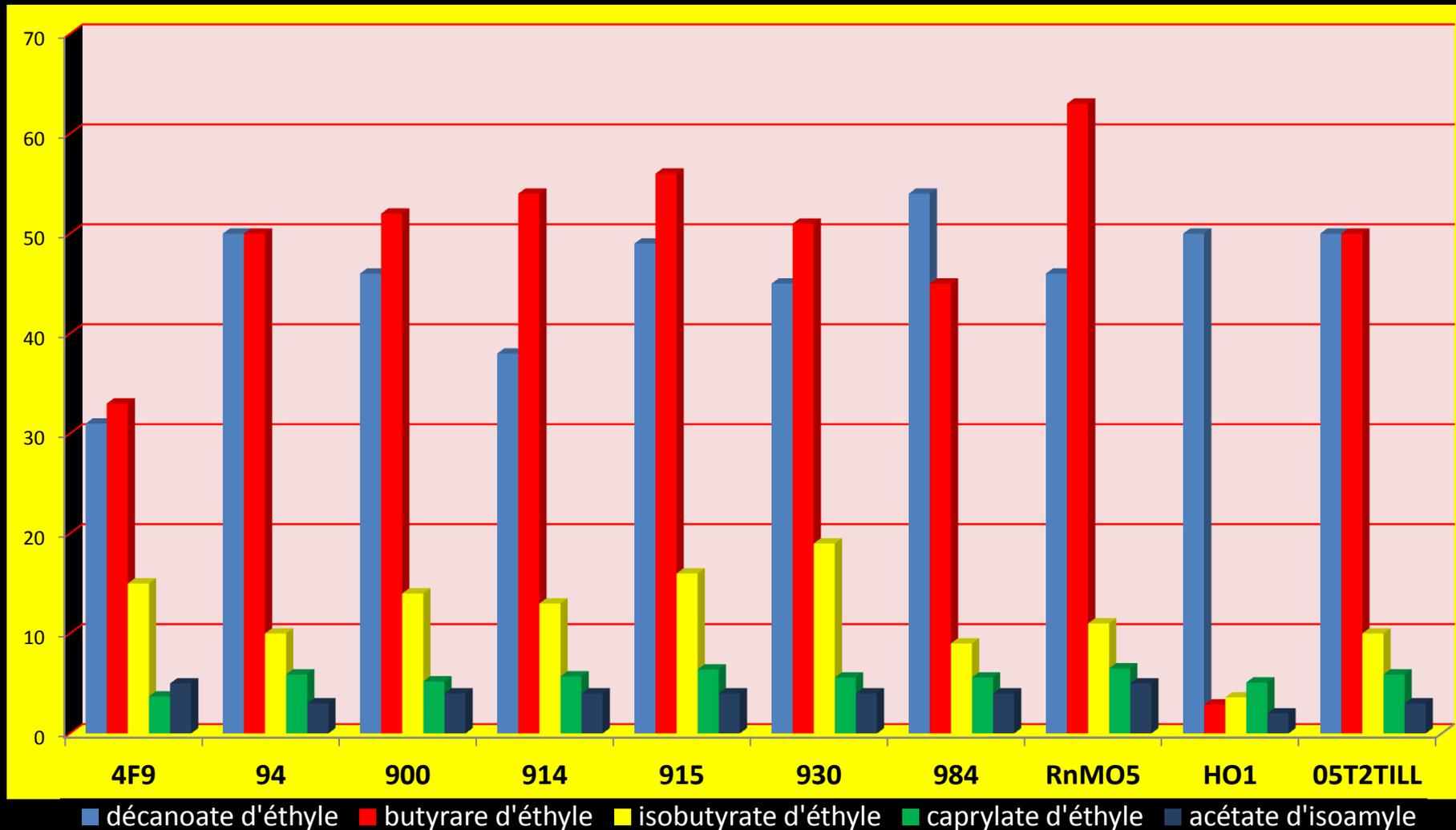
Optimisation de l'implantation des non-Saccharomyces dans les moûts



Impact des non-Saccharomyces sur la composition classique des vins

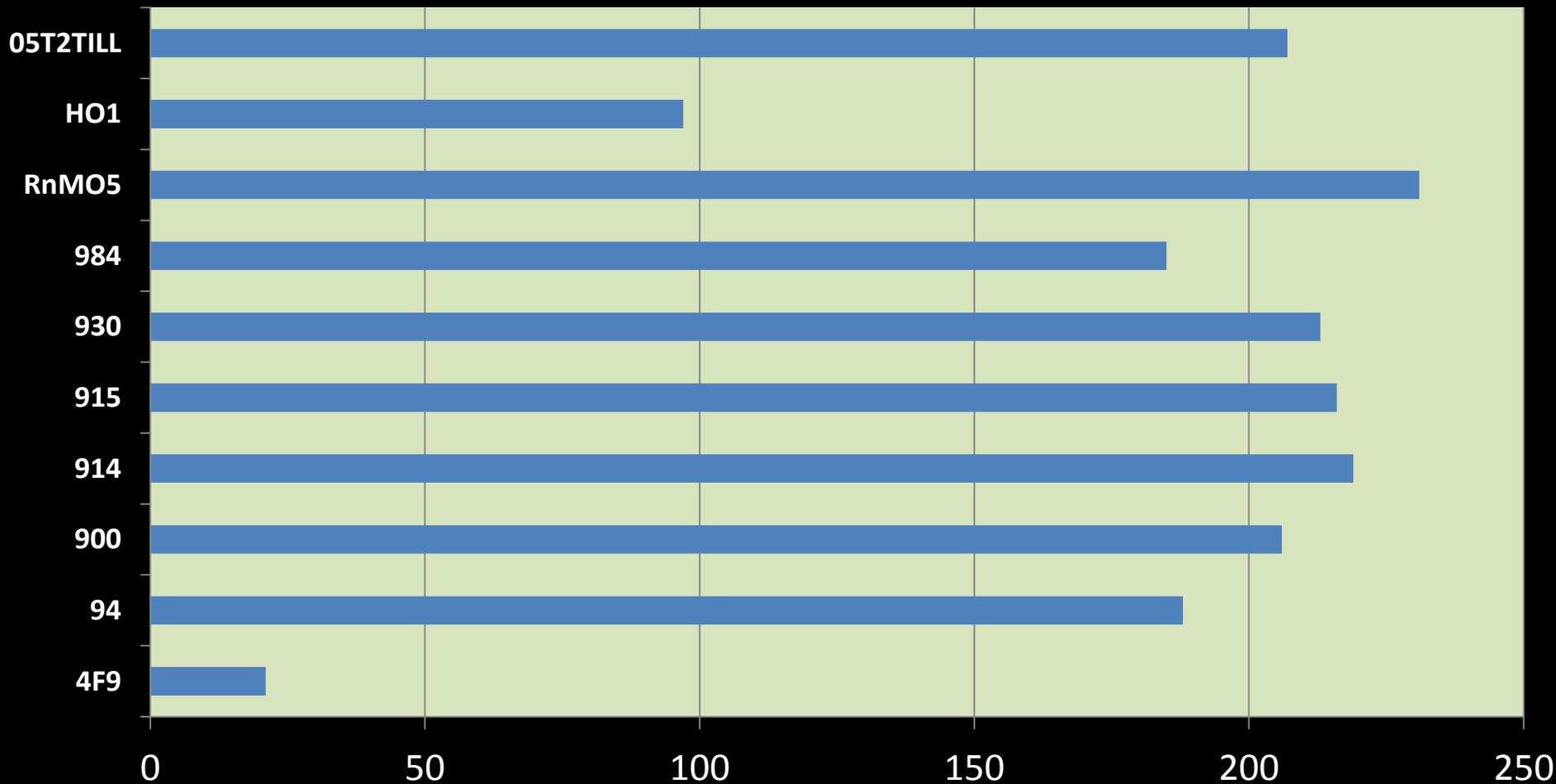
LOT 1	RnM05	SO5H2	900	SO5A1	914
Acide L malique enzymatique séquentiel, (g/L)	3,8	3,6	3,6	3,5	3,7
Acide tartrique Colorimétrie séquentiel (g/L)	4,1	4,1	4,2	4,2	4,1
Titre alcoométrique volumique IRTF, (% vol)	11,75	11,65	11,70	11,90	11,70
Glucose+Fructose Enzymatique séquentiel, (g/L)	1,9	1,7	2,4	0,8	1,6
Acidité totale (en H ₂ SO ₄) IRTF, (g/L)	5,05	5,10	5,08	4,73	5,13
Acidité volatile corrigée(en H ₂ SO ₄) flux, (g/L)	<0,10	< 0,10	<0,10	< 0,10	<0,10
pH IRTF	3,25	3,26	3,28	3,27	3,28

Flores mixtes et composés d'arôme du Melon

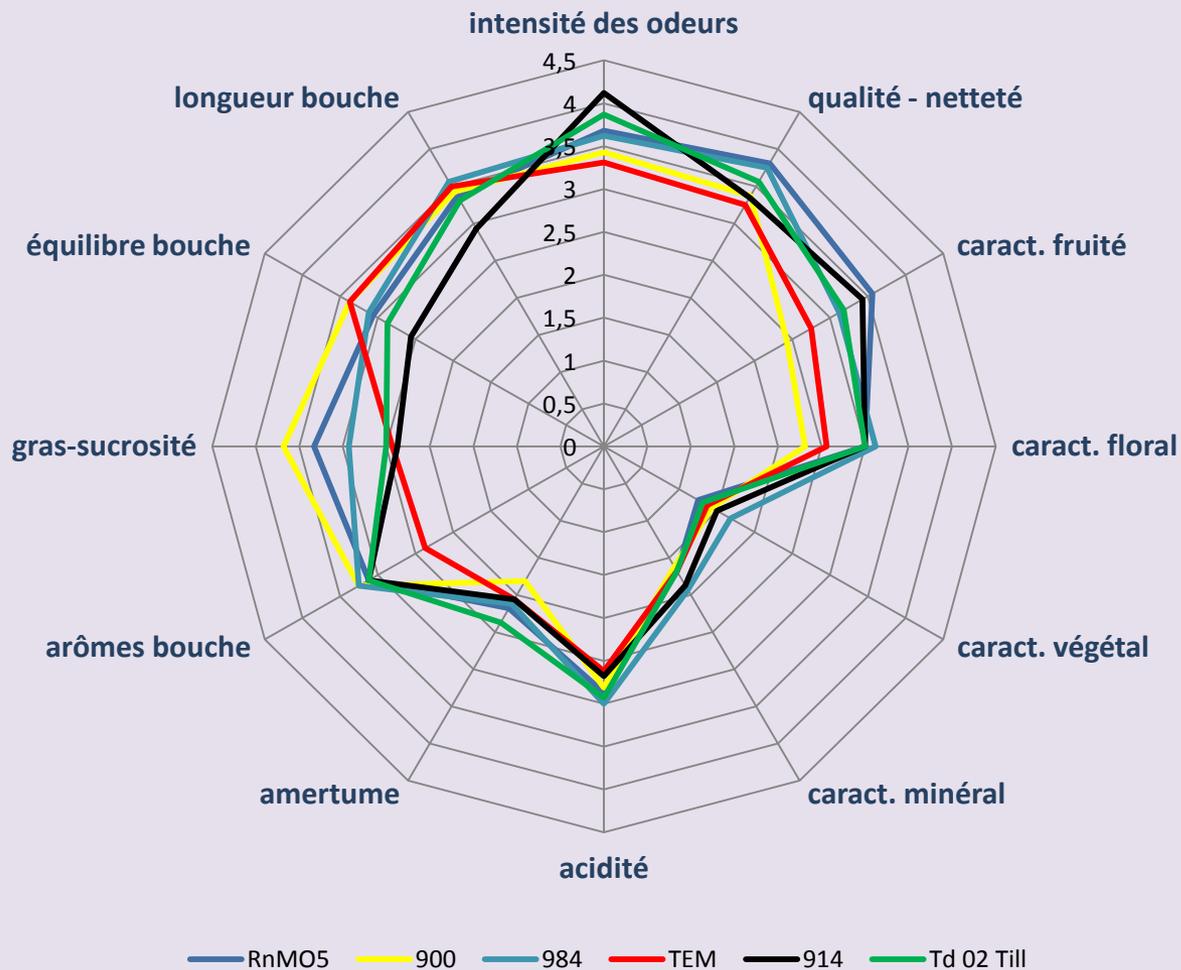


Flores mixtes et composés d'arôme du Melon 2009

hexanoate d'éthyle



Impact organo-leptique des fermentations en levains mixtes



Communication

2009 POULARD A, GAINA B, COARER M, CIBOTARI E , BURUSCIUCK T
Mise en œuvre des *non-Saccharomyces* en levain mixte dans les fermentations œnologiques . Congrès de la Société Française de Microbiologie Marseille.

2009 POULARD A, GAINA B, COARER M, CIBOTARI E , BURUSCIUCK T . Mise en œuvre des *non-Saccharomyces* en levain mixte dans les fermentations œnologiques . Congrès Mondial de la Vigne et du Vin . Tbilissi (Georgie)

2011 POULARD A, GAINA B, BORODINE T, PAIN A, RIOU C Utilisation des levains mixtes *non-Saccharomyces- Saccharomyces cerevisiae* dans les vinifications en blanc sec . IXème Symposium International d'œnologie Workshop, Bordeaux.

2011 MOSCVINTEVA E. Maîtrise des fermentations en flores mixtes . Mémoire de Master Filière francophone Technologies alimentaires UTM. Kichinev (Moldavie)

Utilisation de levures non-Saccharomyces dans la démalication des moûts

acide malique : 0 et 10g/l

Sensation de « verdeur »

Dégradation: partielle par les levures (FA); totale par les bactéries (FML)

Une concentration trop élevée est indésirable : > 6g/L , perte de la valeur marchande

Il faut diminuer les concentrations initiales sans les réduire totalement

Modes de désacidification

CHIMIQUE

La technique des sels doubles tartrate/ malate a un effet pour la réduction des teneurs en acide malique

Coûteuse et délicate de mise en oeuvre

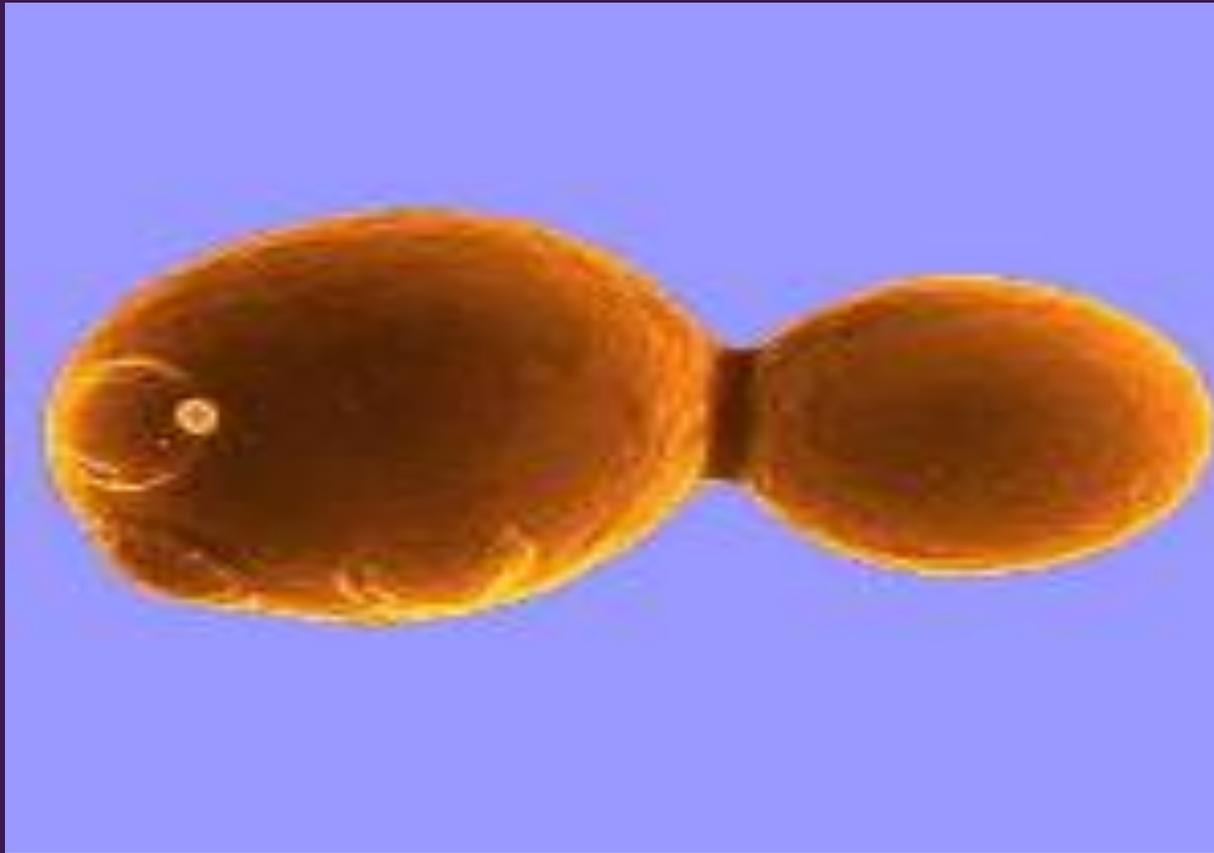
BIOLOGIQUE

L'utilisation des bactéries lactiques est d'une efficacité indiscutable

Perte des arômes fermentaires préjudiciable à la qualité des vins blancs secs

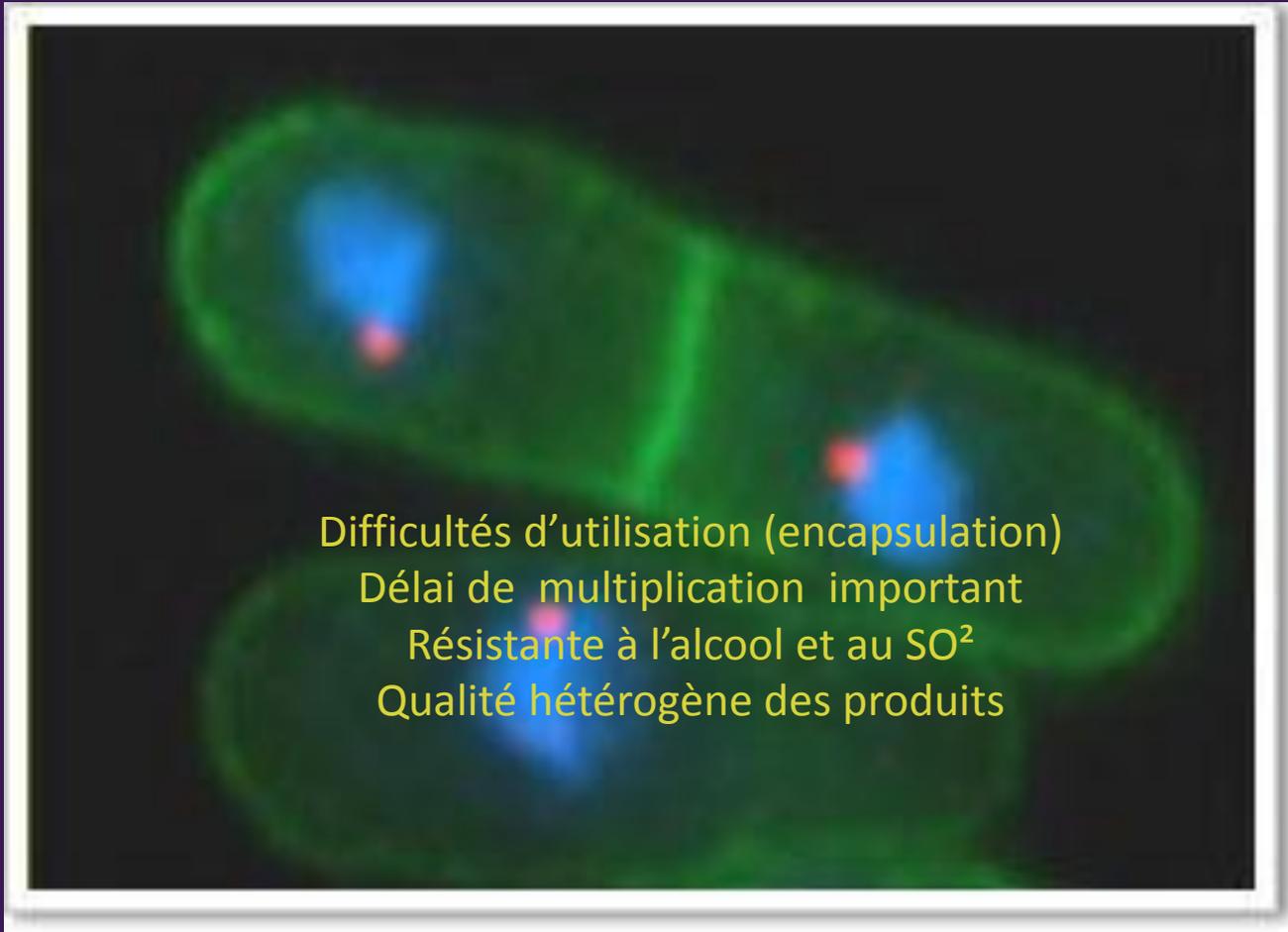
Utilisation des levures

Dégradation de l'acide malique par *Saccharomyces cerevisiae* (LSA)

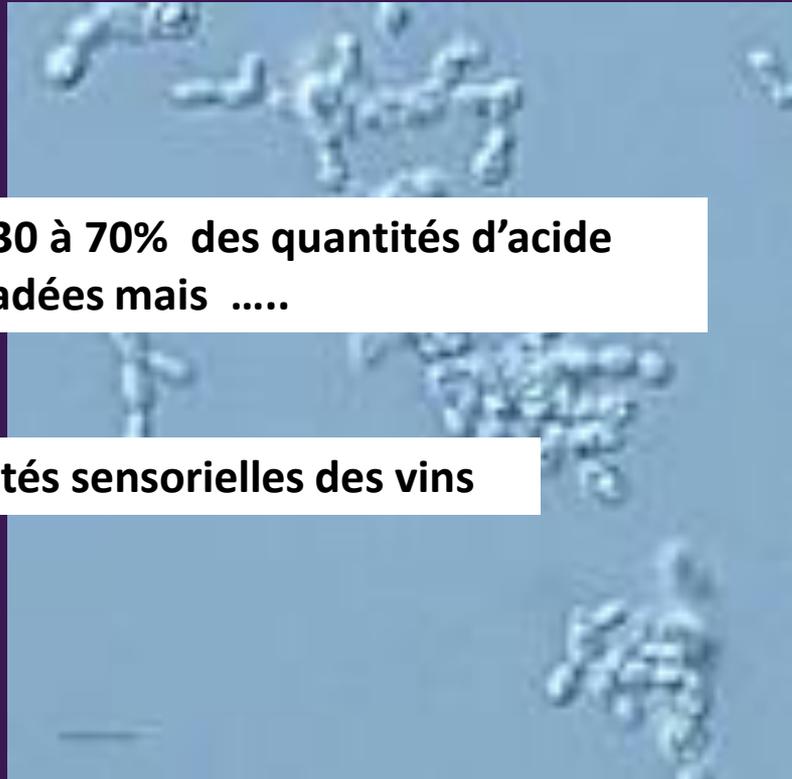
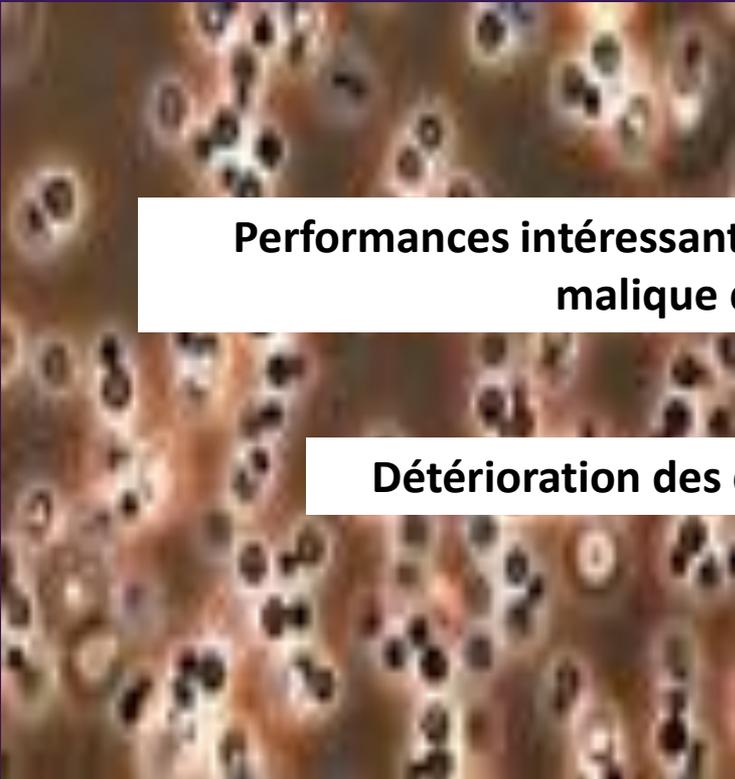


Limitée (5 à 33%) et souvent insuffisante pour les vinificateurs

Utilisation de *Schizosaccharomyces pombe*



Non-Saccharomyces et démalication des moûts



Performances intéressantes : 30 à 70% des quantités d'acide malique dégradées mais

Détérioration des qualités sensorielles des vins

Collection de levures de l'IFV

Panel de 35 souches
pré-sélectionnées
de levures apiculées
appartenant aux genres

Kloeckera et
Hanseniaspora

H'spora guillermondii
H'spora occidentalis
H'spora vinalis

Kloeckera africana
Kloeckera apis

Tri des souches par critères

**Taux de dégradation de l'acide
malique**

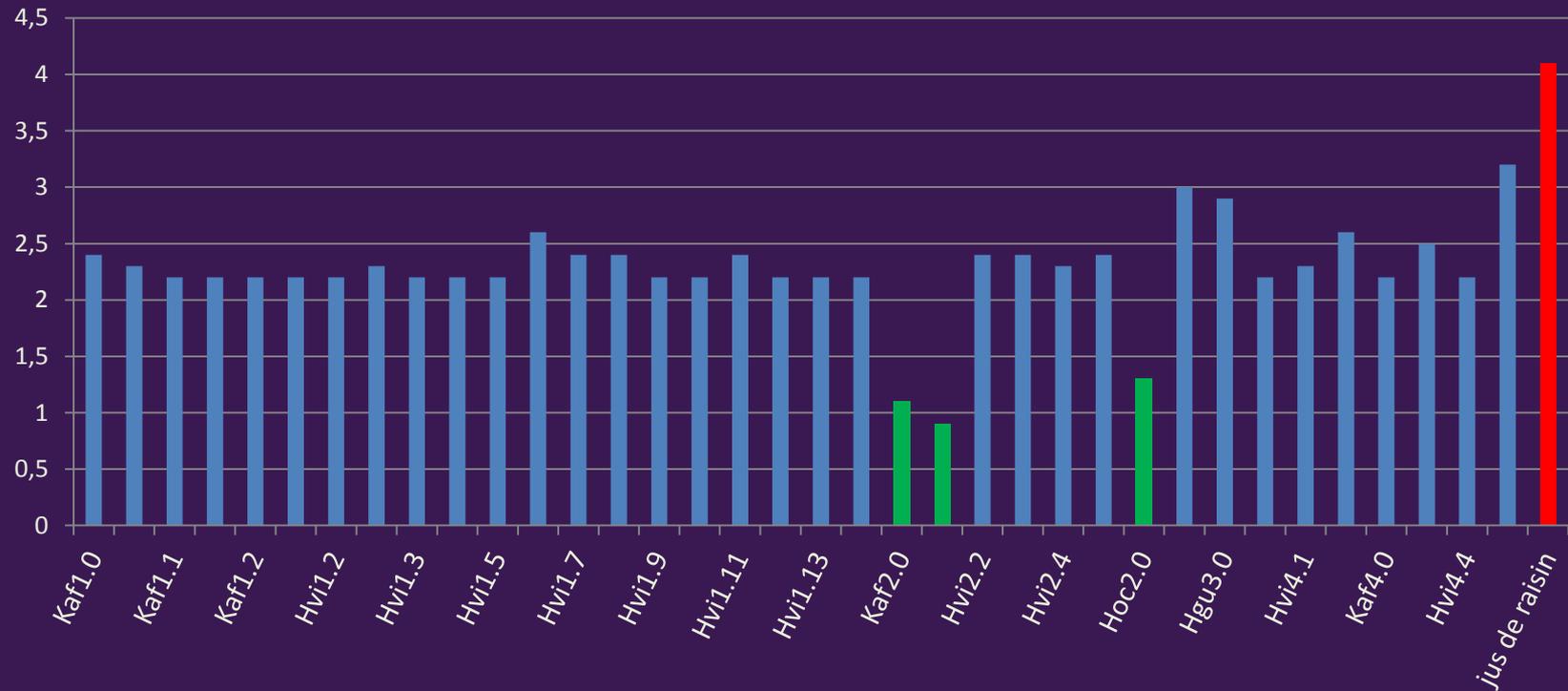
**Caractéristiques de la cinétique
fermentaire**

Production d'éthanol

Formation d'acidité volatile

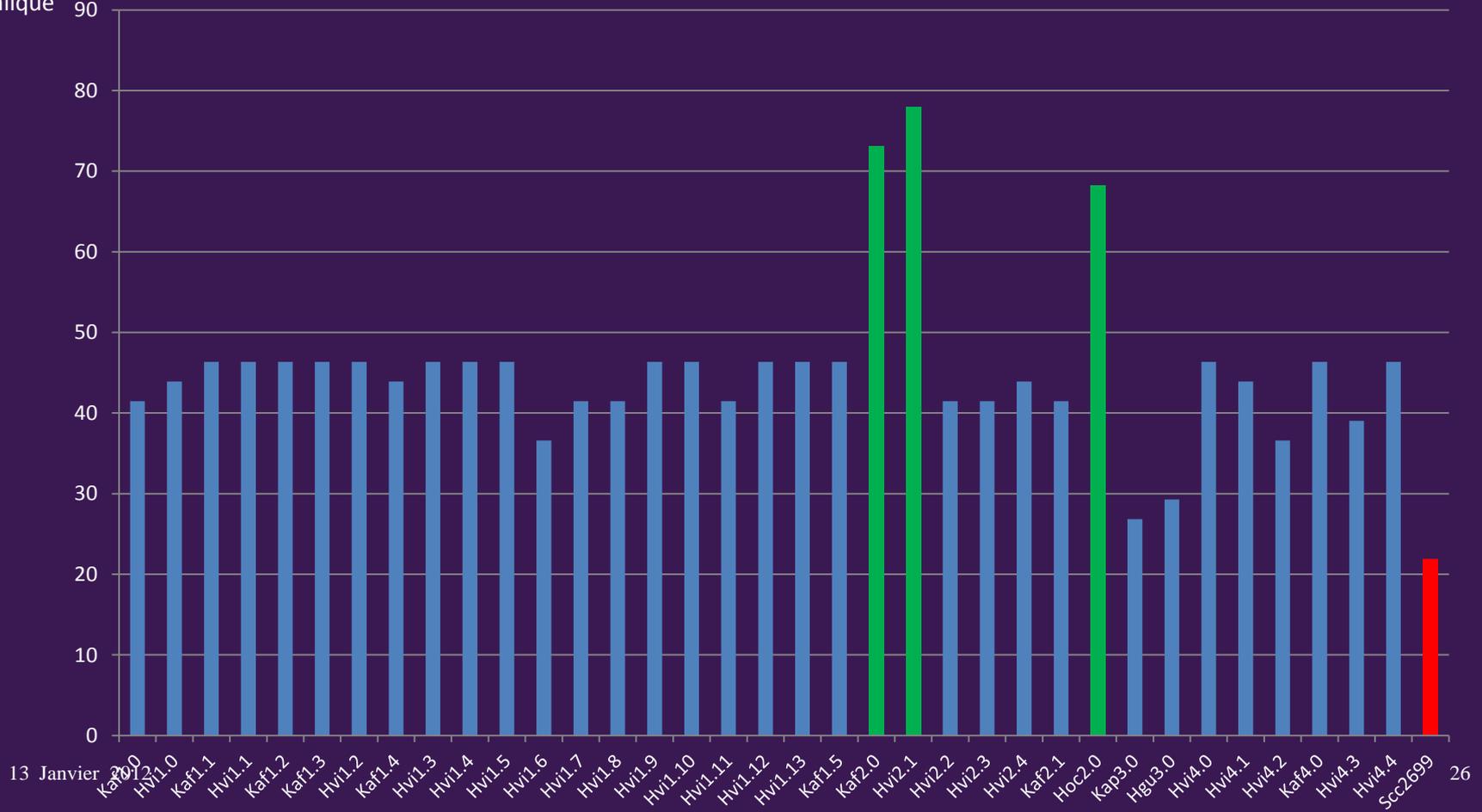
Conversion sucres/éthanol

Caractéristiques œnologiques des levures testées: dégradation de l'acide malique (5g/)



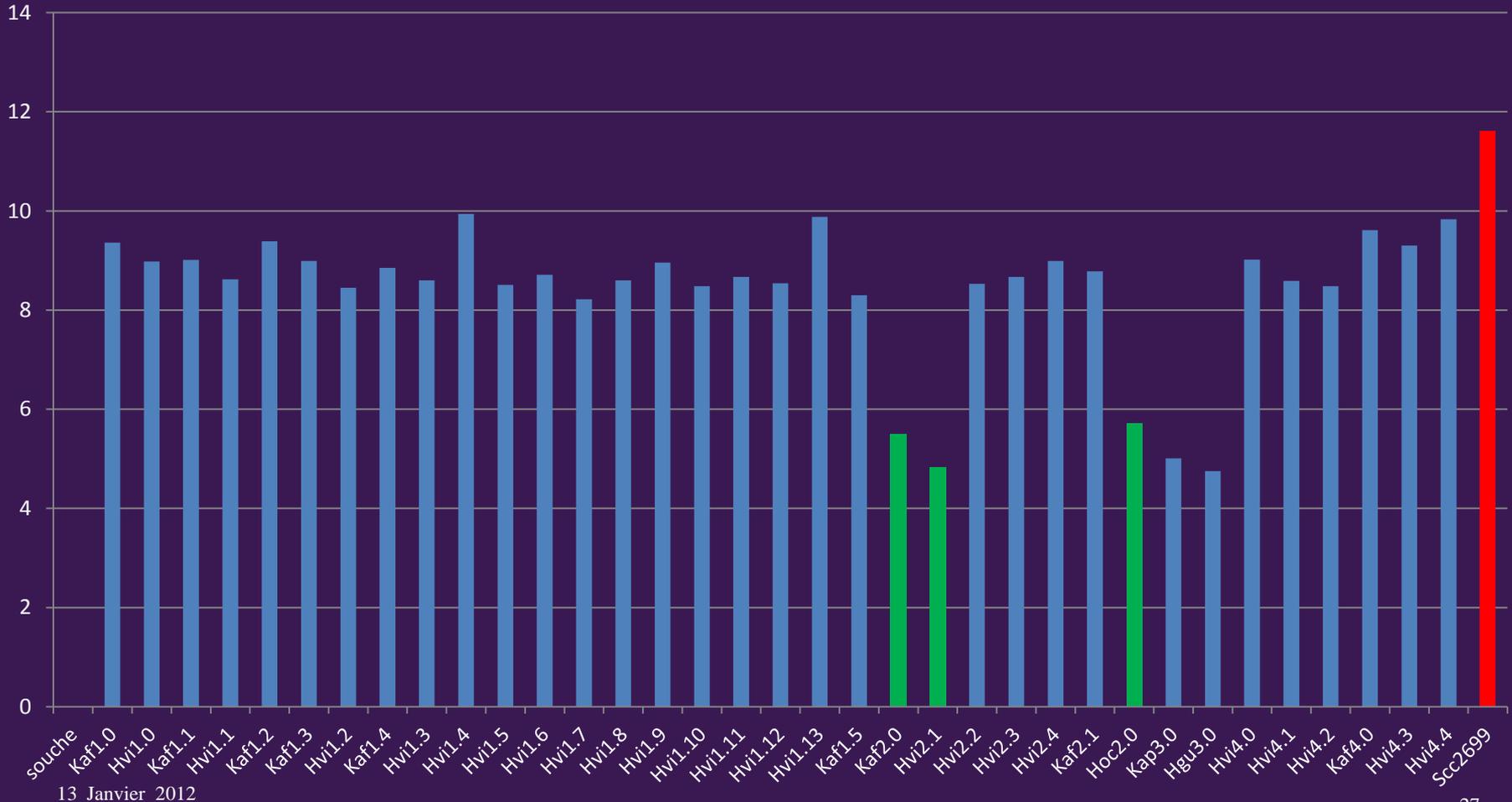
% de dégradation de l'acide malique par *Kloeckera/Hanseniaspora* au cours de la fermentation

% de dégradation
de l'acide
malique

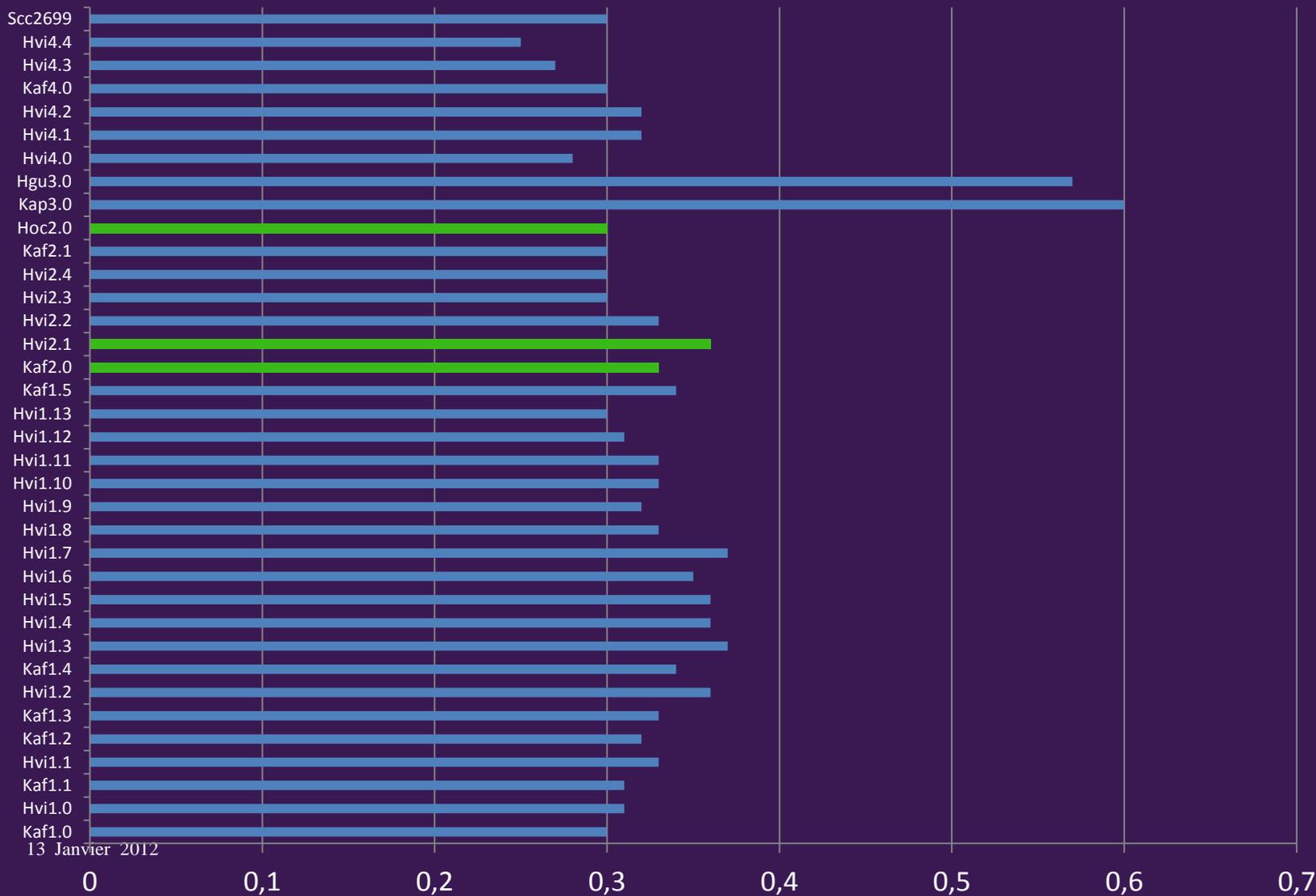


% d'éthanol formé par les souches de *Kloeckera* et *Hanseniaspora* au cours de la fermentation alcoolique

%
éthanol



Formation d'acidité volatile par les différentes souches



Rapports de transformation sucres/ alcool des différentes souches

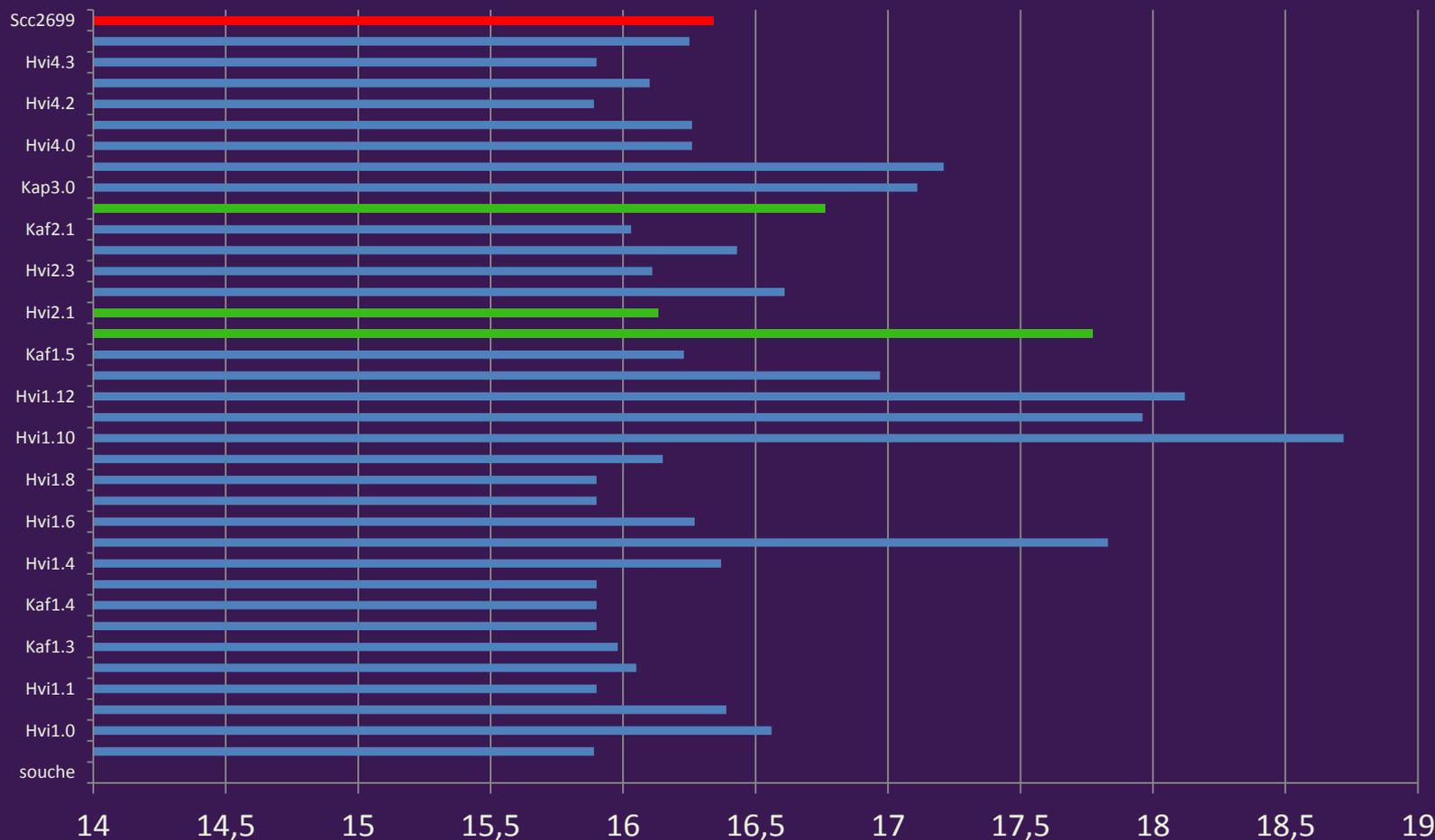


Figure 1 : Pourcentage de dégradation de l'acide malique dans les moûts par *H. occidentalis*, en fonction du mode de préparation de la biomasse et de la quantité de SO₂ apportée dans les moûts en g/hl.

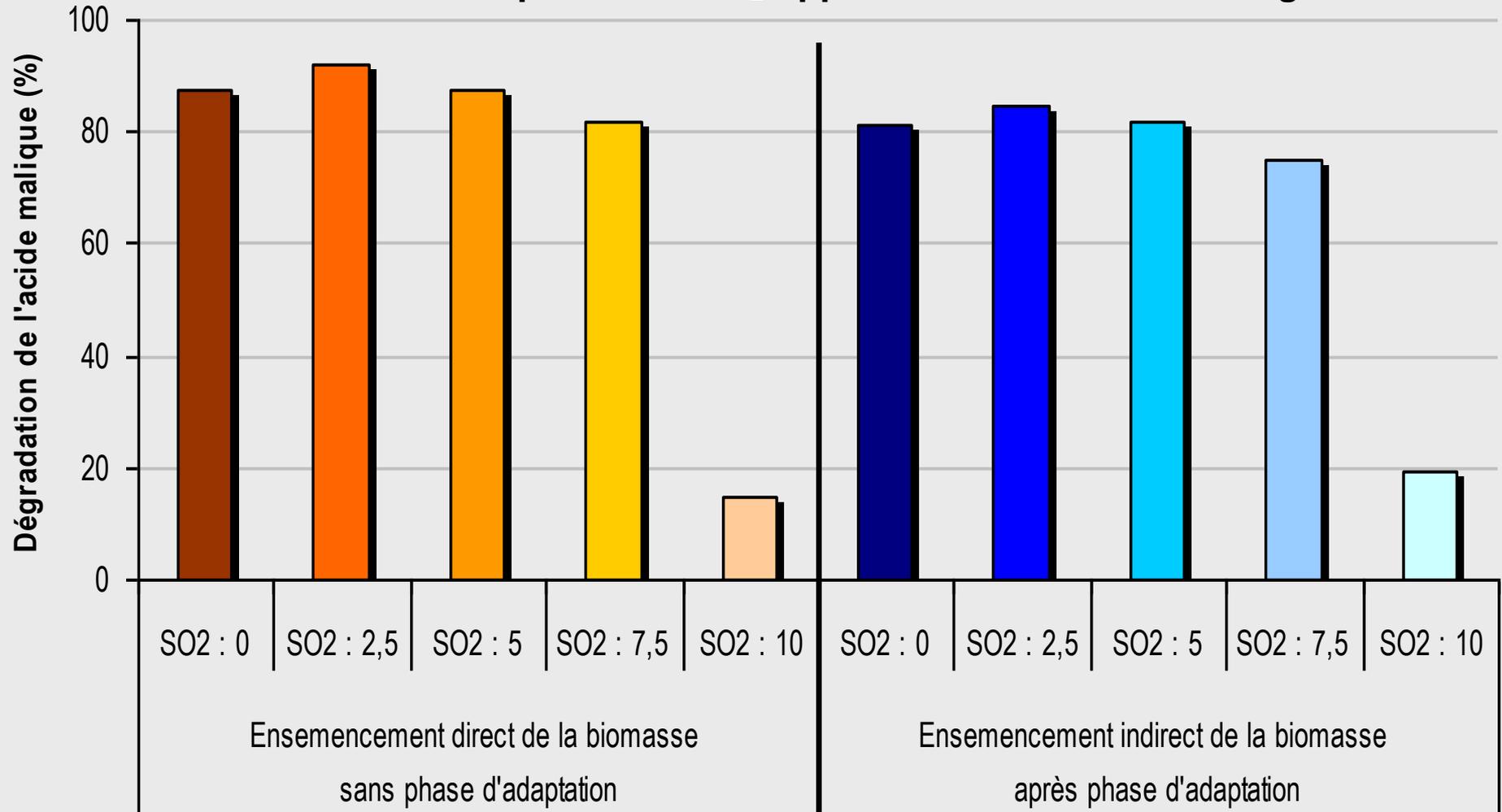
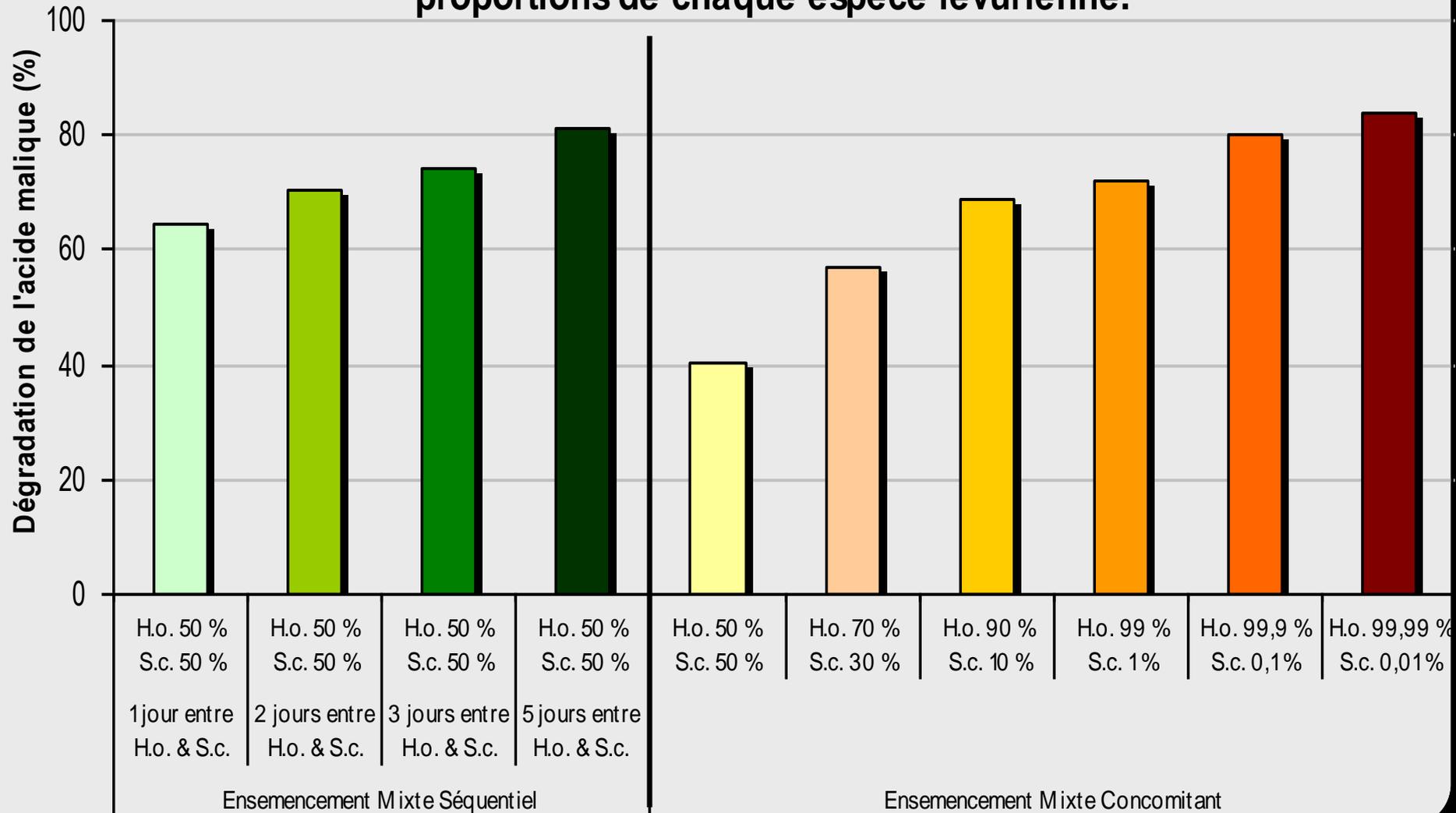


Figure 2 : Pourcentage de dégradation de l'acide malique par *H. occidentalis* en fonction du type d'ensemencement et des proportions de chaque espèce levurienne.



Optimisation de la croissance d'*Hanseniaspora occidentalis*

Facteurs étudiés :

acide malique

Azote

Thiamine

Sucres

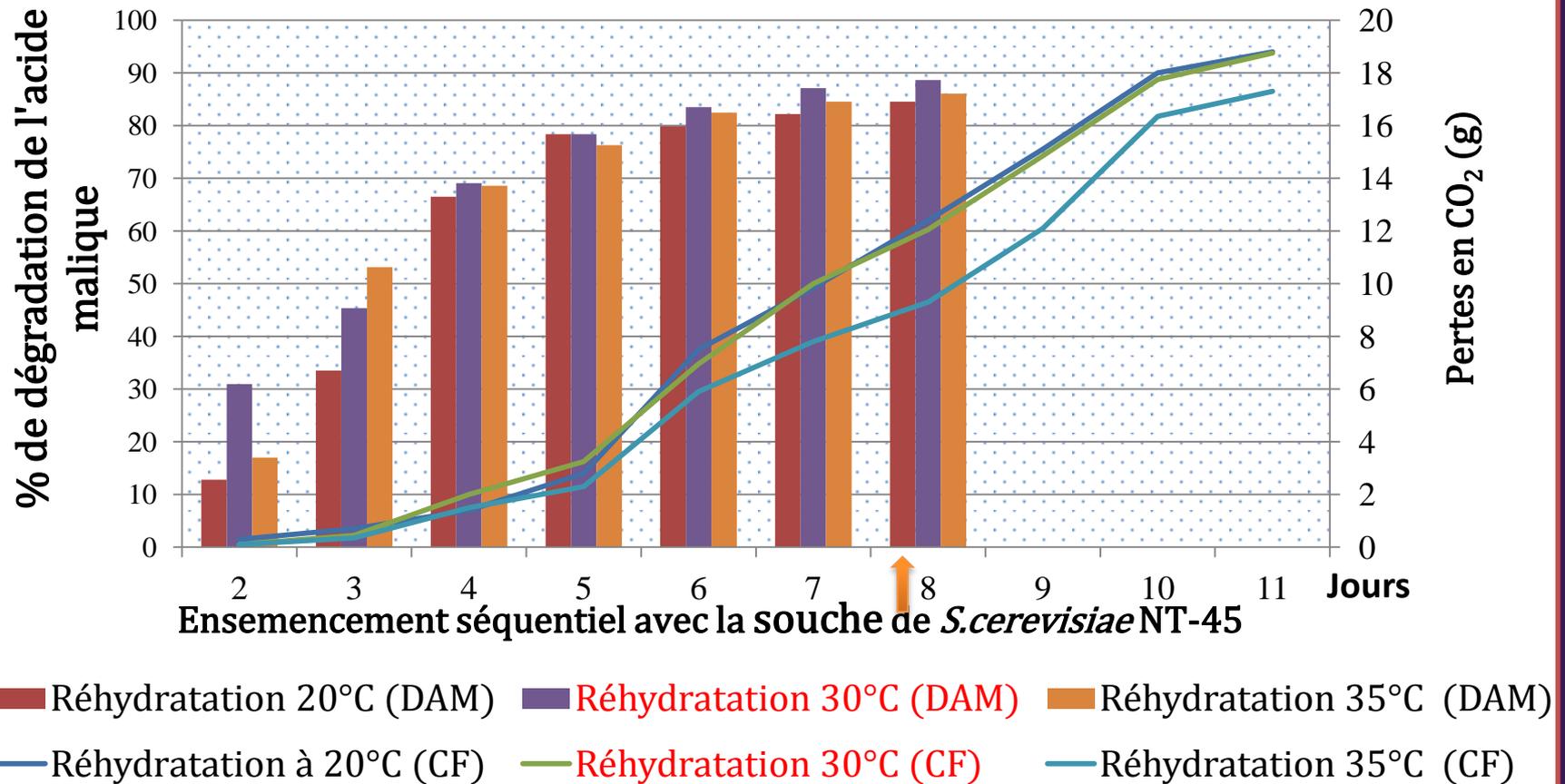
Oxygène

Incidence significative :

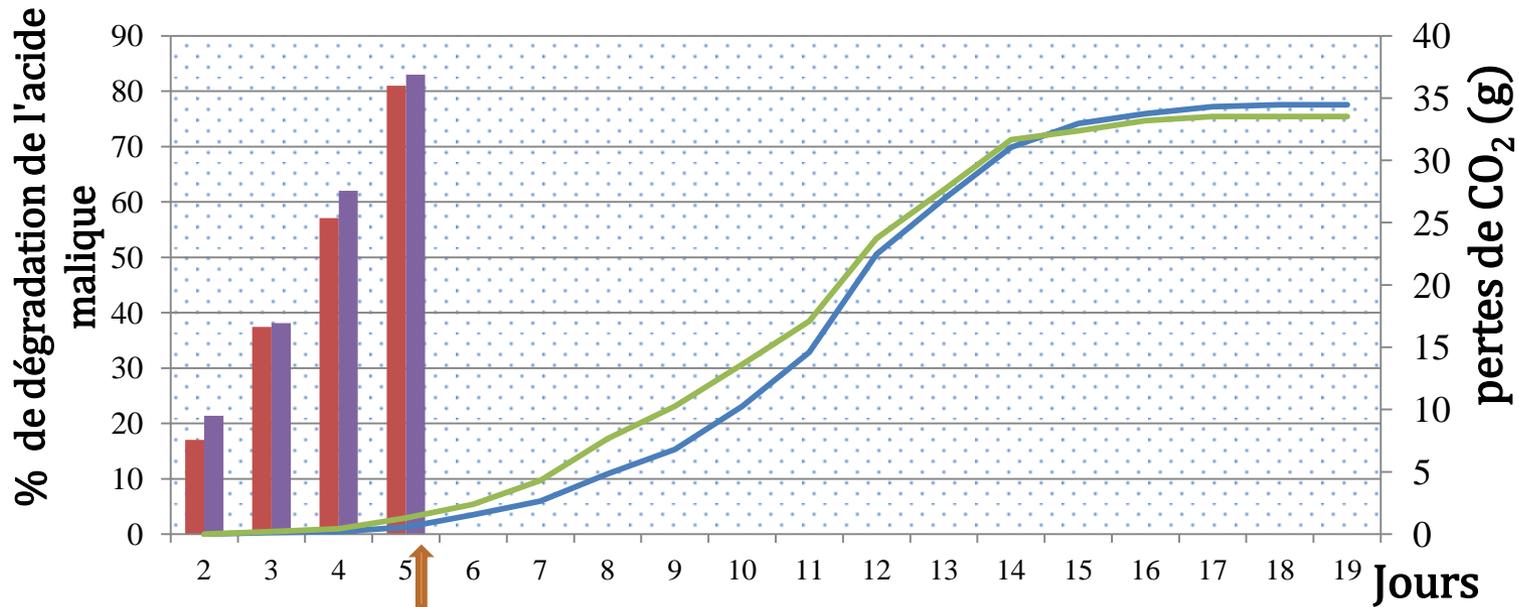
Thiamine + Azote

**Oxygène : 2 apports 8
mg/l**

Température de réhydratation d'*H.occidentalis* et vitesse de démaliquation



Doses d'inoculation d'*H. occidentalis* (LSA) et dégradation de l'acide malique



Ensemencement séquentiel *S.cerevisiae* NT-45

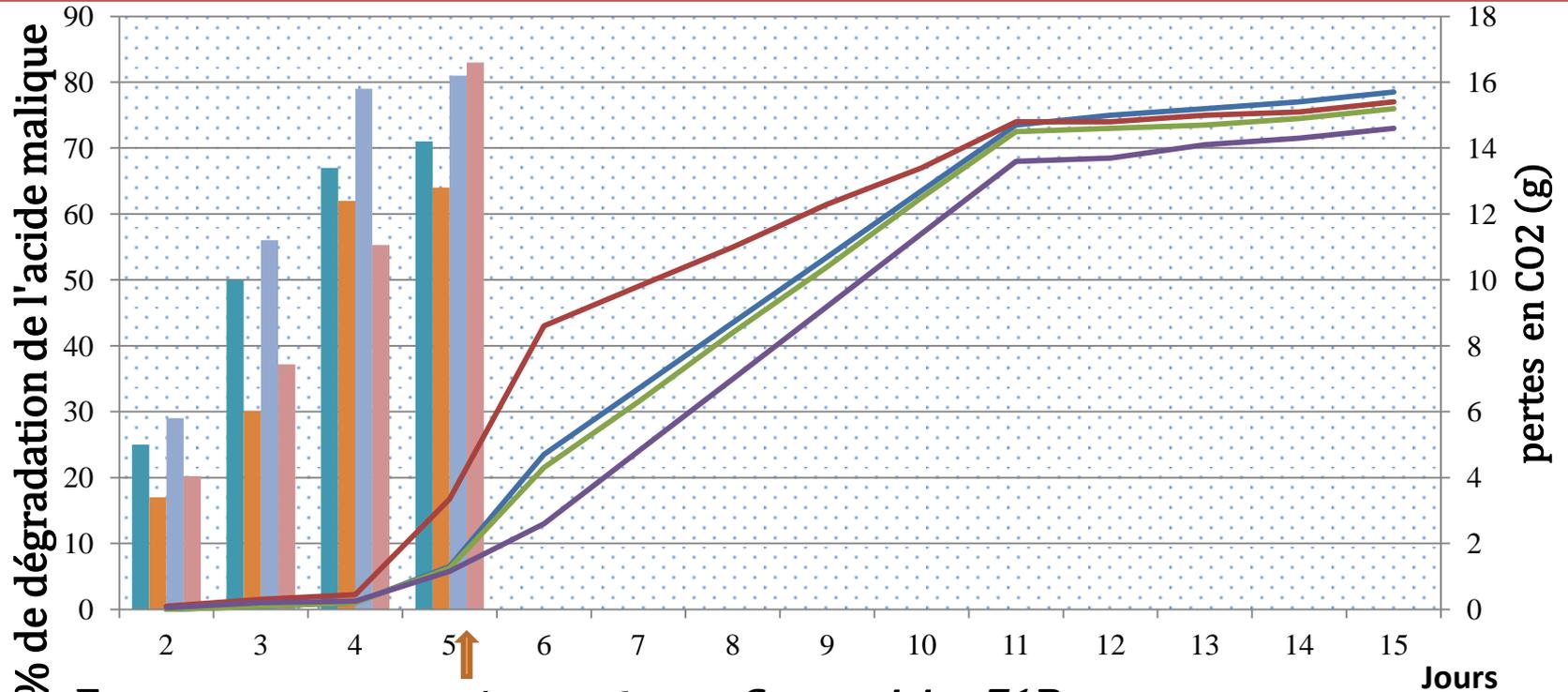
■ 15g/hl (DAM) ■ 30g/hl (DAM) — 15g/hl (CF) — 30g/hl (CF)

Dégradation de l'acide malique (DAM) et cinétique fermentaire (CF) pour des taux d'inoculation de la LSA de 15g/hl et 30g/hl

Composition analytique des vins

ESSAIS	Acide L malique (g/l)	Glucose + Fructose (g/l)	Acidité totale (g/l H ₂ SO ₄)	Acidité volatile (g/l H ₂ SO ₄)	pH
15g/hl	0,7	2,1	5	0,34	2,71
30 g/hl	0,6	2	5	0,34	2,7
15 g/hl (levain 24h)	0,7	2,06	5	0,28	2,69
15 g/hl (levain 48h)	3,2	3,7	7	0,23	2,53

Incidence de la teneur initiale en acide malique



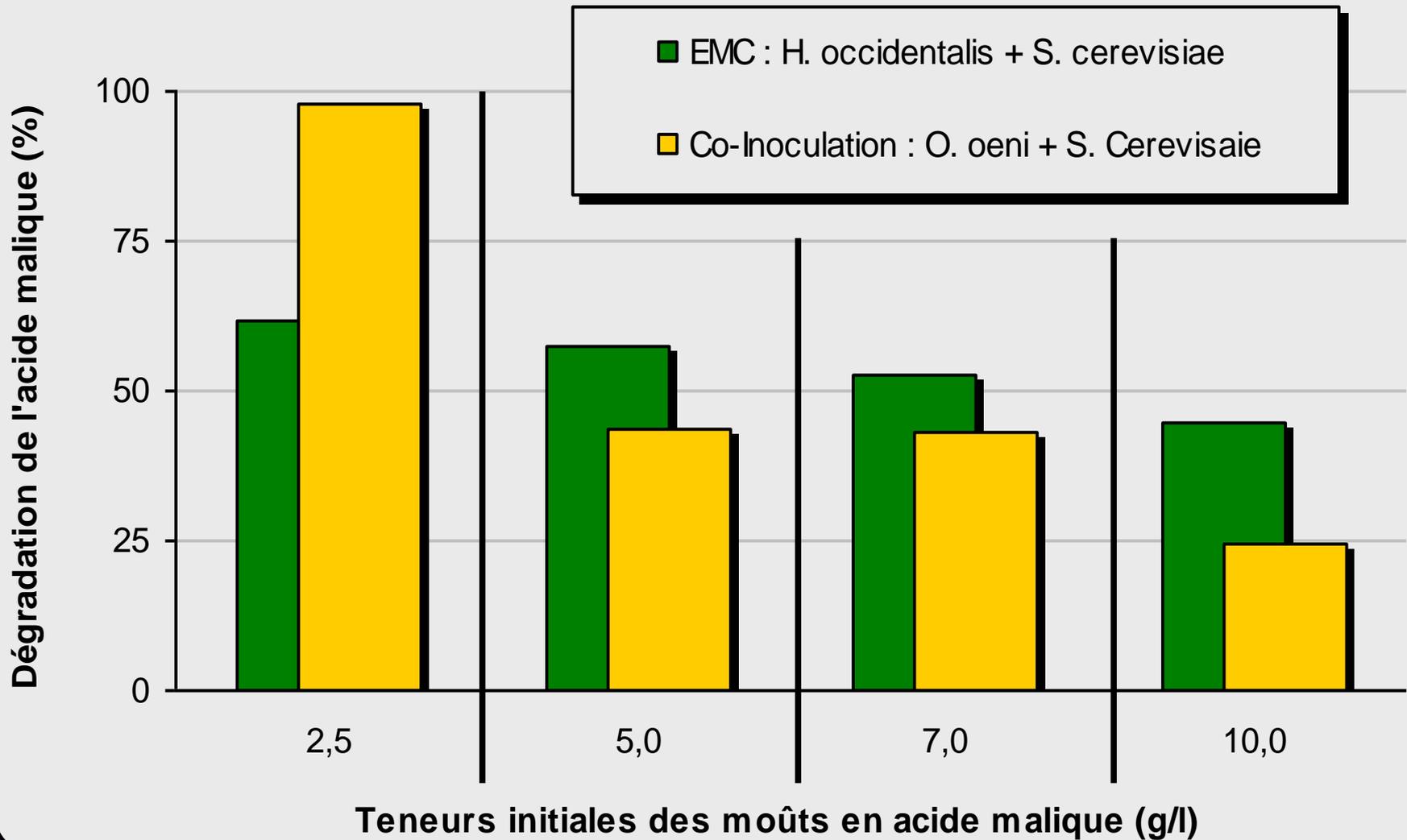
Ensemencement en séquentiel avec *S. cerevisiae* 71B

- Témoin 2,4g/l (DAM)
- 4,2 g /l AM (DAM)
- 6,3 g/l AM (DAM)
- 9,4 g/l AM (DAM)
- Témoin 2,4g/l (CF)
- 4,2 g/l AM (CF)
- 6,3 g/l AM (CF)
- 9,4 g/l AM (CF)

Composition des vins élaborés avec *H. occidentalis* en fonction des quantités initiales en acide malique (AM).

Echantillons	Sucres réducteurs (g/l)	Acide L-malique (g/l)	Acidité volatile (g/l H ₂ SO ₄)	pH	Acidité totale (g/l H ₂ SO ₄)
Témoin 2,4g/l	1	0,7	0,07	3,49	3,9
4,2g/l AM	1	1,4	0,06	3,46	4,2
6,3g/l AM	1	0,7	0,06	3,5	3,8
9,4g/l AM	1	0,5	0,07	3,52	3,7

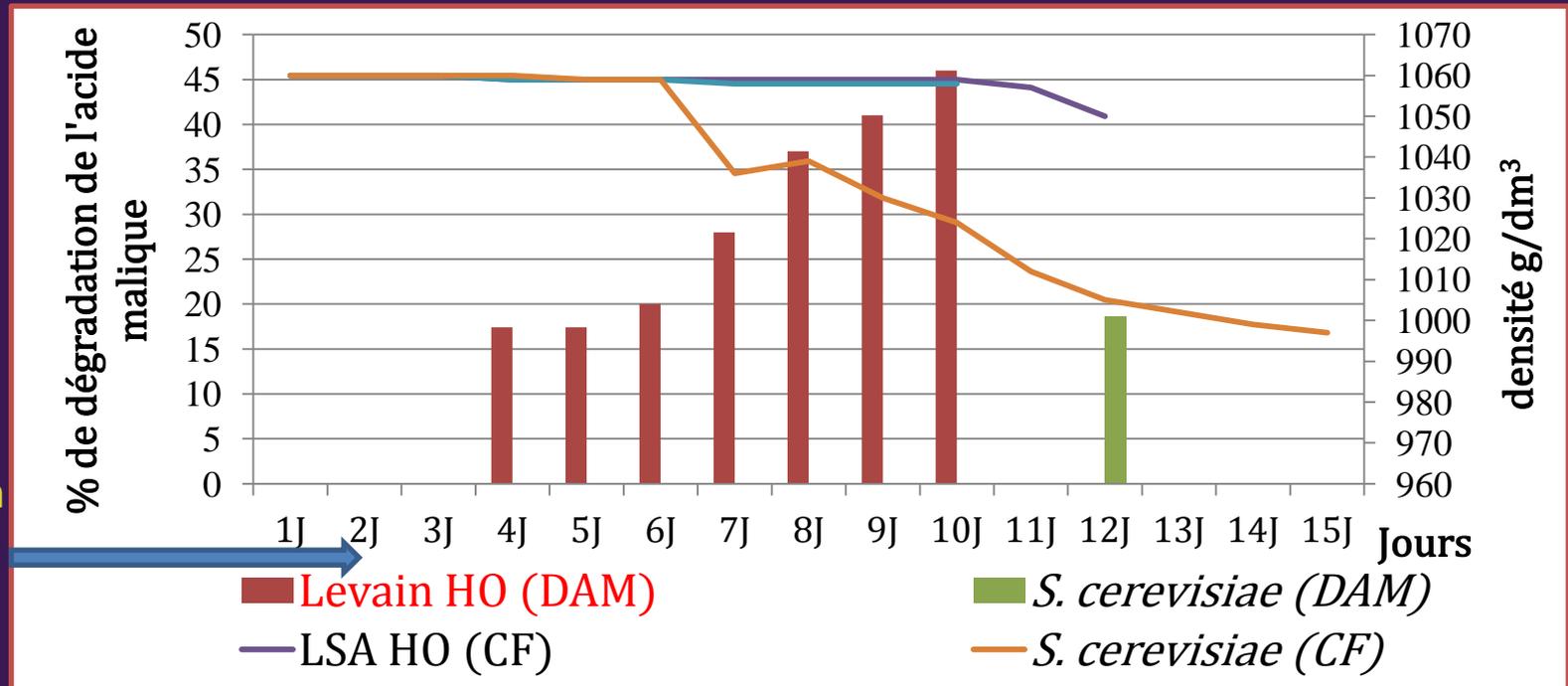
**Figure 3 : Dégradation de l'acide malique (%)
en fonction des espèces mises en oeuvre.**



Essai sur moût de la Folle blanche

Composition chimique du moût (vendange 29 août 2011)

Acide malique (g/l)	Acide tartrique (g/l)	Teneur en sucres (g/l)	Acidité totale (g/l H ₂ SO ₄)	pH	Azote assimilable - séquentiel (mg/l)
7	8,4	129	9,9	2,5	123



Oxygénation
8 mg/l

Hanseniaspora occidentalis

Dégradation importante de l'acide malique(80%)

Production faible d'AV et d'acétate d'éthyle

Disparition rapide dans le milieu
(faible pouvoir alcoogène : 4%)

Combinaison faible du SO²

Préservation des qualités aromatiques des vins
blancs secs

Industrialisation

**Rapprochement avec un industriel producteur
LALLEMAND**

**2009 : production de levures encapsulées par sous-
traitant Proenol (Portugal) 30kg**

**2010 : évaluation des productions (viabilité)
tests sur volumes industrialisés**

2011 : essais production sous forme de LSA (partenariat)

2012 : essais sur volumes industriels

Communication

2007 POULARD A, COARER M, PAIN A, VINCENT B, DUCOURTHIL P, BEJAN V
Démalication des vins blancs secs à l'aide d'*Hanseniaspora occidentalis* VIII
ème Symposium International de Bordeaux

2009 POULARD A, COARER M, PAIN A, BEJAN V, VINCENT B, BERGER JL
Utilisation d'*Hanseniaspora occidentalis* pour la démalication des vins blancs
secs XXXIIème Congrès Mondial de la Vigne et du Vin Zagreb

2010 POULARD A . Utilisation d'*Hanseniaspora occidentalis* pour la démalication
des vins blancs secs. Rond Point Martin Vialatte . Avignon 6 mai 2010

2011 BURUSCIUK T, Désacidification biologique des moûts de raisin blanc par une
préparation de LSA d'*Hanseniaspora occidentalis* Mémoire de Master 2
Université de Bourgogne.