

LAFFORT®

*Recherche et Innovations
depuis 1895*

EDITION
2016




LAFFORT
l'œnologie par nature



BIOLAFFORT®

Filiale R&D du groupe LAFFORT®

Depuis 1991, un partenaire de la recherche institutionnelle

- > Des collaborations avec des centres de recherche reconnus dans le monde entier.
- > Des projets de R&D internes soutenus par une équipe pluridisciplinaire.
- > Deux centres de vinification expérimentaux pour tester les résultats de la recherche dans des conditions pratiques rigoureuses.

Une expertise unique en œnologie

- > Une approche intégrée de la biodiversité microbienne.
- > Des approches originales de sélection de microorganismes : détermination de QTLs, croisement intra et interspécifique, sélection massale dirigée sur des critères innovants.
- > Des outils innovants pour développer des produits dérivés de la levure et leur application en œnologie.
- > L'identification moléculaire des arômes responsables de la typicité des vins et des macromolécules, tanins, protéines, polysaccharides impactant leur qualité.

L'exploitation et la valorisation des résultats de la recherche

- > Plus de 25 salariés en R&D dont 10 permanents.
- > Plus de 20 thèses financées de par le monde, plus d'une centaine de publications.
- > 18 brevets valorisant le savoir-faire issu de ces travaux.
- > Des produits innovants tournés vers une œnologie raisonnée.

“ Valoriser l'innovation et la créativité pour une œnologie responsable basée sur le savoir ”

Actualités de la recherche BIOLAFFORT®

■ **Résumés des 3 dernières thèses de doctorat financées par BIOLAFFORT®**
(Soutenues à l'Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Université de Bordeaux, France)

Recherches sur les précurseurs du 3-Sulfanylhexanol des vins de Sauvignon Blanc.

Caroline Böcker, sous la direction du Pr. Denis Dubourdieu et du Dr. Cécile Thibon

La mise au point de techniques de fractionnement des moûts de Sauvignon blanc par chromatographie de partage centrifuge et chromatographie Flash a permis de mettre en évidence la présence de deux « nouvelles » formes de précurseurs du 3SH, le S-3-(hexan-1-ol)-glutathion et l'acide S-3 glutathionyl-hydroxyhexanesulfonique. L'ensemble de ces résultats confirme la contribution majeure des S-conjugués au potentiel en 3SH des moûts. Le S-3(hexan-1-ol)-L-cystéine, le S-3(hexan-1-ol)-L-glutathion ainsi que les deux nouvelles formes identifiées, permettent d'expliquer près de 65% du 3SH libéré dans les vins. Par ailleurs, nous avons montré que l'ensemble des formes précurseurs appartenait à la même voie d'assimilation de la levure et que le S-3(hexan-1-ol)-L-cystéine est un intermédiaire indispensable à la biotransformation des différents S-conjugués au glutathion, précurseurs du 3-sulfanylhexanol. De plus, le pourcentage de biotransformation des différents S-conjugués en 3SH semble directement lié à leur position dans le flux métabolique.

Approches sensorielle et analytique de l'arôme fruité des vins rouges. Influence relative des levures et des bactéries lactiques.

Marine Gammacurta, sous la direction du Pr. Gilles de Revel

Les fermentations alcooliques (FA) et malolactiques (FML) sont deux étapes importantes de la vinification en rouge dans l'établissement de l'arôme fruité des vins. Afin d'étudier l'importance relative des microorganismes fermentaires, nous étudions l'influence de six couples levures/bactéries lactiques (BL) - trois souches de levures, deux de BL - sur la modulation des notes fruitées de différents vins rouges de Bordeaux.

Une première approche analytique montre l'influence prédominante de la souche de levure sur la concentration de plus de 70 marqueurs potentiels de la note fruitée. L'étude particulière des esters montre que l'effet levure observé dès la fin de la FA persiste au cours du temps malgré la FML et les modifications engendrées par le vieillissement du vin.

L'étude sensorielle conforte l'influence majeure des levures sur la modulation de l'arôme fruité des vins rouges à différents temps d'élevage. Néanmoins, les résultats obtenus suggèrent l'implication d'autres composés aromatiques dans la modulation de la note fruitée des vins, non quantifiés dans la première partie de cette étude.

Un travail de fractionnement d'extraits de vin par HPLC permet par la suite l'identification d'une fraction d'intérêt impliquée dans des variations aromatiques liées à la souche de levure. L'analyse de cette fraction par chromatographie en phase gazeuse n'a pas permis d'identifier le ou les composés impliqués. Nous avons néanmoins mis en évidence une thiophénone qui pourrait agir en tant que masque de l'arôme fruité, ainsi qu'un ester hydroxylé qui pourrait s'avérer être un marqueur intéressant de l'activité bactérienne et dont l'effet exhausteur de notes fruitées est également envisagé comme perspectives.

Interactions entre levures *Saccharomyces cerevisiae* et non-*Saccharomyces* en vinification : incidence des facteurs de l'environnement.

Laura Chasseriaud, sous la direction du Dr. Marina Bely

Les levures non-*Saccharomyces*, naturellement présentes dans les moûts, peuvent impacter positivement ou négativement la qualité des vins. Depuis quelques années, l'utilisation de cultures mixtes comme starters, associant une souche de *Saccharomyces cerevisiae* et une souche d'une autre espèce est proposée aux œnologues. C'est le cas du couple *S. cerevisiae*/*Torulaspora delbrueckii*. L'étude des interactions entre la souche *T. delbrueckii*, ZYMAFLORE® ALPHA et *S. cerevisiae*, ZYMAFLORE® X5 de la société LAFFORT® a été réalisée. Les fermentations alcooliques ont été effectuées dans un réacteur à double compartiment permettant la séparation physique des levures tout en conservant l'homogénéité du milieu de culture. Les résultats ont mis en évidence que la séparation impacte la croissance des deux souches, suggérant l'existence d'interactions de type cell-cell contact entre ces deux souches. Si une grande majorité de praticiens utilise désormais les levures sélectionnées, certains ont fait le choix de favoriser les populations autochtones de levures *S. cerevisiae* et de levures non-*Saccharomyces*. L'incidence de deux facteurs de l'environnement a été étudié sur un mélange de cinq espèces de non-*Saccharomyces* (*T. delbrueckii*, *Metschnikowia spp.*, *Candida zemplinina*, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia kluyveri*) et de deux souches de *S. cerevisiae* (une à phase de latence courte, une à phase de latence longue) en cultures pures et en mélange. L'inoculation de la souche de *S. cerevisiae* à phase de latence longue dans un moût saturé en CO₂ permet de stimuler les levures non-*Saccharomyces* d'intérêt (*T. delbrueckii*/*P. kluyveri*) tout en inhibant les espèces indésirables (*H. uvarum*, *C. zemplinina*).

■ Articles scientifiques parus en 2015 :

Fermentative conditions modulating sweetness in dry wines: genetics and environmental factors influencing the expression level of the HSP12 gene.

Marchal A., Marullo P., Durand C., Moine V. & Dubourdieu D. 2015

Journal Agricultural Food Chemistry. 63 (1) : 304-311.

A new method for monitoring the extracellular proteolytic activity of wine yeasts during alcoholic fermentation of grape must.

Chasseriaud L., Miot-Sertier C., Coulon J., Iturmendi N., Moine V., Albertin W. & Bely M. 2015

Journal of Microbiological Methods. 119 : 176-179.

A systems approach to elucidate heterosis of protein abundances in yeast.

Blein-Nicolas M., Albertin W., da Silva T., Valot B., Balliau T., Masneuf Pomarède I., Bely M., Marullo P., Sicard D., Dillmann C., De Vienne D. & Zivry M. 2015.

Molecular & Cellular Proteomics. 14 (8) : 2056-2071.

Hybridization within *Saccharomyces* genus results in homoestasis and phenotypic novelty in winemaking conditions.

Da Silva T., Albertin W., Dillmann C., Bely M., La Guerche S., Giraud C., Huet S., Sicard D., Masneuf-Pomarède I., De Vienne D. & Marullo P. 2015.

Plos One. 10(5) e0123834.

Phylogenomic Analysis of *Oenococcus oeni* Reveals Specific Domestication of Strains to Cider and Wines.

Campbell-Sills H., El Khoury M., Favier M., Romano A., Biasioli F., Spano G., Sherman D.J., Bouchez O., Coton E., Coton M., Okada S., Tanaka N., Dols-Lafargue M. & Lucas P.M. 2015

Genome Biology and Evolution. 7(8) : 1506-1518.

Articles professionnels parus en 2015 :

Incidence de la date de récolte sur la stabilité microbiologique et l'arôme des moûts et des vins. Exemple du Cabernet Sauvignon.

Pons A., Allamy L., Mansour C., Louazil P., Moine V., Dubourdieu D. & Coulon J.

Revue des Œnologues. N°155 - Avril 2015.

Acquisitions récentes sur les paramètres fermentaires influençant la saveur sucrée des vins secs.

Marchal A., Marullo P., Moine V. & Dubourdieu D.

Revue des Œnologues. N°156 - Juillet 2015.

Approches sensorielle et analytique de l'arôme fruité des vins rouges. Influence majeure de la souche de levure.

Gammacurta M., Marchand S., Moine V. & De Revel G.

Revue des Œnologues. N°157 - Octobre 2015.

Effet préventif et curatif de préparations à base de chitosane sur le développement de *Brettanomyces bruxellensis*. Observations macroscopiques et microscopiques.

Nazaris B., Gontier E., Geay L., Mansour C., Moine V. & Coulon J.

Revue des Œnologues. N° 158. Janvier 2016.

Quels outils pour limiter les doses de SO₂ dans les vins rouges tout en assurant leur stabilité ?

Coulon J., Moine V. & Nazaris B.

Rhône en VO. N° 9. 2015.



Sommaire

Comment diminuer l'utilisation du SO ₂ à l'aide des biotechnologies	6
Impact des pratiques préfermentaires sur la biodiversité levurienne. Conséquences sur l'expression aromatique des vins	10
Influence de <i>Torulaspora delbrueckii</i> sur le profil aromatique des vins	14
Origine de la sucrosité des vins secs.....	18
Modélisation de l'indice d'astringence.....	22
Caractérisation chimique des précipités de matière colorante.	26

œnologie
ricerca
innovación
research
i n n o v a t i o n
nature

Comment diminuer l'utilisation de SO₂ à l'aide des biotechnologies.

Joana Coulon, Bastien Nazaris sous la Direction de Virginie Moine.
LAFFORT®, BIOLAFFORT®.



Le marché du vin, à l'écoute des demandes des consommateurs, tend à diminuer les intrants et offrir des produits les plus pauvres possibles en composés allergènes dont le SO₂ fait partie. D'un autre côté, les vinificateurs sont de plus en plus attirés par la réduction de l'utilisation des sulfites, que ce soit sur des critères organoleptiques (les praticiens notent souvent de façon empirique une augmentation du fruité et volume des vins), chromatiques (recherche d'une intensité colorante la plus élevée possible) ou simplement éthiques (diminution d'un intrant à connotation chimique). Cependant la volonté de proposer des vins moins ou même non sulfités ne doit pas pénaliser la qualité finale des produits.

Produire un vin sans sulfites ajoutés tout au long de son élaboration reste difficile, mais il est possible de limiter leur utilisation en s'appuyant sur des itinéraires visant à limiter la présence de molécules combinant le SO₂, de façon à potentialiser son activité.

Le levurage : un outil pour la maîtrise microbiologique du moût : cas de vendanges sulfitées à dose réduite ou non sulfitées.

Lors de vinifications de cépages rouges, un des rôles essentiels du sulfitage de la vendange est la maîtrise microbiologique du moût. La biodiversité, si elle peut être recherchée, doit être maîtrisée afin d'assurer le bon déroulement des fermentations et éviter la synthèse de composés indésirables. L'utilisation de levures sélectionnées permet de limiter, sans l'en empêcher totalement, le développement de levures indigènes, essentiellement composées de levures non-*Saccharomyces* en début de vinification. Ces ensemencements sont bien souvent des outils plus efficaces que le simple sulfitage lorsque celui-ci est envisagé à des doses modérées (figure 1) et permettent de maîtriser efficacement la population indigène sur des vendanges non sulfitées (tableau 1).

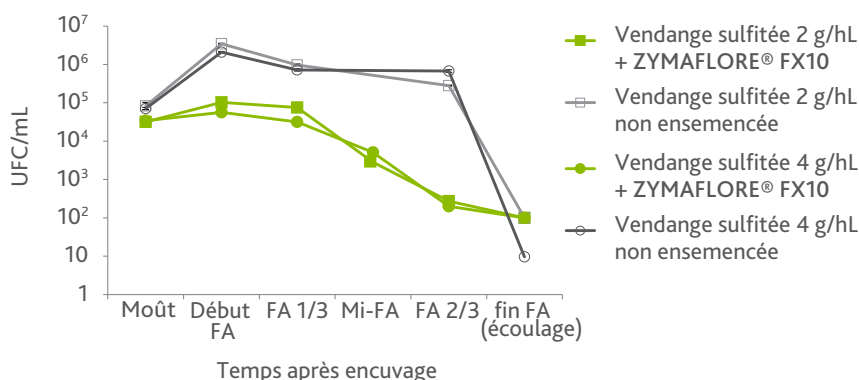


Figure 1. Dynamiques de levures non-*Saccharomyces* (cas de moûts sulfités). Deux niveaux de sulfitage de la vendange ont été pratiqués, accompagnés ou non d'un levurage précoce dès l'encuvage. Essais sur volumes de 4 hL, millésime 2012, Merlot, vendange saine, ramassée manuellement.

Le levurage, en participant de façon active à la maîtrise de la microflore indigène, permet aussi de maîtriser la synthèse de molécules combinant le SO₂ (tableau 1) ainsi que des marqueurs de l'oxydabilité des vins.

Tableau 1 : Effet du levurage sur les populations de levures non-Saccharomyces et paramètres chimiques d'un vin en fin de FA (cas de moûts non sulfités). Essais sur volumes de 2 hL, millésime 2015, Merlot, vendange saine, ramassée manuellement. Le taux de combinaison est apprécié par mesure du TL35, indiquant la dose théorique de SO₂ total nécessaire pour atteindre 35 mg/L de SO₂ libre.

	Vendange non sulfitée Levurage ZYMAFLORE® XPURE	Vendange non sulfitée et non ensemencée
Levures non-Saccharomyces à mi-FA (UFC/mL)	6,4. 10 ⁵	2,7.10 ⁶
TL35 en fin de FA (mg/L)	57	64
AV (g/L H ₂ SO ₄)	0,12	0,18
Acétate d'éthyle (mg/L)	62	110
Teinte (DO420 nm/DO520 nm)	0,51	0,56

Ces données permettent d'envisager de diminuer fortement, voire de supprimer le sulfitage de la vendange, sous réserve de conditions sanitaires suffisantes et de précautions à l'encuvage. Ce levurage doit être précoce, de façon à (i) coloniser le milieu rapidement et (ii) permettre la protection anti-oxydante du moût par le biais d'un début d'activité fermentaire.

Gestion de la FML pour limiter le pouvoir combinant des vins vis-à-vis du SO₂.

Lors de la fermentation malolactique les bactéries lactiques sont capables de dégrader les principales substances combinant le SO₂ (éthanal, acide pyruvique, acide 5-oxoglutarique). Mais cet effet ne peut être bénéfique que si la FML est franche et rapide, sans quoi l'oxydation chimique de l'éthanol en éthanal se substituera au rôle bénéfique de dégradation microbiologique de ces composés (figure 2). Le délai de fermentation malolactique peut être réduit en limitant le sulfitage des moûts et en ensemençant les vins à l'aide de préparations de bactéries lactiques sélectionnées.

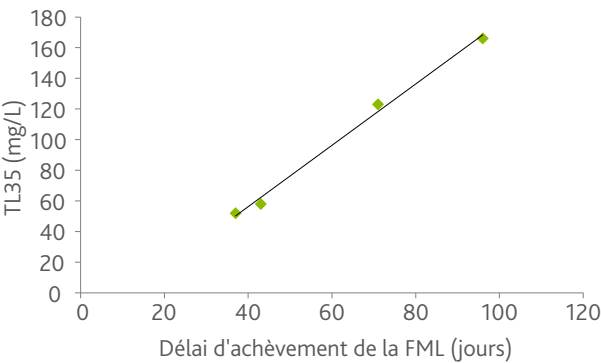


Figure 2. Relation entre le délai d'achèvement de la fermentation malolactique et le niveau de combinaison des vins vis-à-vis du SO₂. Ces données sont issues de 4 essais réalisés sur vendange homogène ramassée manuellement (Merlot, millésime 2012), sur des volumes de 8 hL. Le taux de combinaison est apprécié par mesure du TL35, indiquant la dose théorique de SO₂ total nécessaire pour atteindre 35 mg/L de SO₂ libre.

Cette dégradation des composés combinants se poursuit quelques jours après l'achèvement de la fermentation malolactique (tableau 2). En parallèle, l'acide citrique est aussi dégradé ce qui s'accompagne d'une augmentation de la concentration des vins en diacétyle et acidité volatile, mais le plus souvent à des niveaux plus faibles que son seuil de perception. Il y a donc un équilibre à trouver entre les bénéfices liés à la dégradation des composés combinant le SO₂ et la production concomitante de diacétyle et d'acidité volatile en post-FML.

Tableau 2 : Effet du retard de la stabilisation post-FML.

	Fin FML	Une semaine après fin FML
TL 35 (mg/L)	59	48
Diacétyle (mg/L)	0.5	0.7
AV (g/L H ₂ SO ₄)	0.22	0.30

Assurer la stabilisation post-FML pour limiter le pouvoir combinant du vin vis-à-vis du SO₂.

Lorsque les fermentations sont juste achevées, la microflore post-fermentaire (levures, bactéries lactiques) est encore relativement élevée. C'est à ce moment-là que l'élevage débute avec en général un premier sulfitage du vin. Or, les microorganismes répondent au sulfitage en produisant des composés combinant le SO₂. Il est donc intéressant de diminuer cette population par d'autres moyens pour envisager le sulfitage uniquement dans un deuxième temps. Il existe aujourd'hui plusieurs outils de stabilisation microbiologique, à spectre d'action plus ou moins large (le lysozyme cible uniquement les bactéries lactiques, tandis que des produits à base de chitosane agissent sur les levures et les bactéries lactiques). Intégrés dans un itinéraire visant à réduire l'utilisation du SO₂, ces applications permettent de limiter la combinaison du SO₂ et de potentialiser son action.

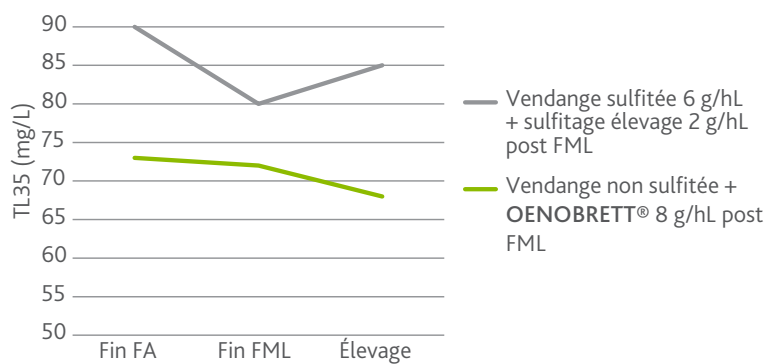


Fig.4. Effet de la stabilisation microbiologique post FML à l'aide d'OENOBRETT® sur l'évolution de la teneur des vins en composés combinant le SO₂. L'essai à itinéraire réduit en SO₂ est comparé à un itinéraire sulfité à la vendange ainsi qu'après FML. Essais réalisés lors du millésime 2013, sur Merlot ramassé manuellement et un volume de 8 hL.

Conclusion.

Les travaux présentés ici montrent comment la limitation de l'utilisation du SO_2 est possible tout en rendant son action la plus efficace possible par la limitation de molécules le combinant. Le premier et principal levier consiste en la limitation du sulfitage de la vendange, efficacement remplacé par l'utilisation de microorganismes sélectionnés. En effet, limiter le sulfitage de la vendange tout en sécurisant le processus fermentaire permet d'obtenir en fin de FML des vins combinant moins le SO_2 et donc moins demandeurs en SO_2 lors de l'élevage. Ces effets peuvent être complétés par l'utilisation de produits à base de chitosane qui auront pour effet de mieux stabiliser la flore post fermentaire et limiter leur production de molécules combinant le SO_2 . Par ailleurs, d'autres travaux ont montré l'action préventive de ces produits sur le développement de *Brettanomyces bruxellensis*. Cet aspect n'est pas à négliger dans la perspective de limiter le SO_2 , qui est encore à ce jour une des rares solutions, mais souvent insuffisante, pour limiter le développement de ce microorganisme d'altération.

ARTICLES PUBLIÉS SUR LE SUJET :

Nazaris B., Gontier E., Geay L., Mansour C., Moine V. & Coulon J. 2016. Effet préventif et curatif de préparations à base de chitosane sur le développement de *Brettanomyces bruxellensis*. Observations macroscopiques et microscopiques. Revue des Œnologues. N° 158.

Pons A., Allamy L., Mansour C., Louazil P., Moine V., Dubourdieu D. & Coulon J. 2015. Incidence de la date de récolte sur la stabilité microbiologique des moûts et des vins. Revue des Œnologues. N°155. Avril 2015.

Coulon J., Mansour C., Louazil P., Vinsonneau E., Cestaret S. & Moine V. 2014. Gestion du sulfitage. Comment optimiser l'impact du SO_2 tout en maîtrisant son apport. Revue des Œnologues. N°151.

Coulon J., Moine V. & Nazaris B. 2015. Quels outils pour limiter les doses de SO_2 dans les vins rouges tout en assurant leur stabilité ? Rhône en VO. N° 9.

Impact des pratiques préfermentaires sur la biodiversité levurienne. Conséquences sur l'expression aromatique des vins.



Warren Albertin sous la direction d'Isabelle Masneuf-Pomarède, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Université de Bordeaux, France. En collaboration avec la société Pernod-Ricard.

L'emploi de levains de type *Saccharomyces cerevisiae* permet de maîtriser les fermentations alcooliques et d'éviter certains défauts olfactifs. Néanmoins, malgré la pratique d'ensemencements, cette espèce n'est pas seule dans le moût de raisin et de nombreuses autres espèces sont présentes. En effet, pendant la période pré-fermentaire et les premières étapes de la fermentation alcoolique, *Saccharomyces cerevisiae* cohabite avec des espèces ou genres tels que *Hanseniaspora uvarum/quillermundii*, *Candida zemplinina*, *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia kluyveri* et *Metschnikowia*. Regroupées sous le terme « levures non-*Saccharomyces* », ces levures constituent pourtant un groupe hétérogène, tant d'un point de vue de leurs capacités fermentaires que de leurs impacts organoleptiques, positifs ou négatifs, qu'elles imposent au vin. Longtemps considérées, elles sont aujourd'hui l'objet d'attentions particulières de la part du vinificateur comme des scientifiques, bien que les conditions de leur développement ne soient pas toujours bien définies. Par exemple, l'incidence de facteurs technologiques sur leur dynamique et leur impact sur la qualité du vin restait encore à caractériser.

Impact fermentaire des pratiques œnologiques.

Pour y répondre, des cinétiques fermentaires et dynamiques de populations ont été suivies au cours de la phase pré-fermentaire et fermentaire par PCR quantitative lors d'essais pratiqués en fermenteur de laboratoire. Pour cela, un écosystème reconstitué de levures non-*Saccharomyces* a été utilisé pour ensemercer un moût de Chardonnay dont les paramètres ont été ajustés comme suit :

- Turbidité : ajustement à 90 ou 250 NTU.
- Température : durant la phase pré-fermentaire, deux températures différentes ont été appliquées : 10 et 15°C. Les fermentations alcooliques ont ensuite été conduites à 18°C pour tous les essais.
- Sulfitage : suite au premier sulfitage de la vendange, un second sulfitage, à 2,5 g/hL a eu lieu (ou non) 48 heures après le démarrage de la phase pré-fermentaire.
- Levurage : en fin de macération préfermentaire (soit après 4 jours), un levurage a été pratiqué ou non.

Les résultats indiquent que les pratiques œnologiques n'ont pas toutes le même impact selon les espèces. Ainsi, si le niveau de turbidité du moût a un impact significatif sur le développement de *Candida zemplinina*, ce n'est pas le cas pour les autres espèces testées. Par ailleurs, une température basse favorise le développement de cette espèce alors que c'est le contraire pour *Hanseniaspora uvarum*. Le levurage, quant à lui, défavorise le développement de *Torulaspora delbrueckii*. Mais l'impact le plus remarquable concerne le SO₂ puisque le sulfitage (2,5 g/hL) du moût en cours de MPF s'il favorise le développement de *Saccharomyces cerevisiae* et *Torulaspora delbrueckii*, impacte très défavorablement *Hanseniaspora uvarum*.

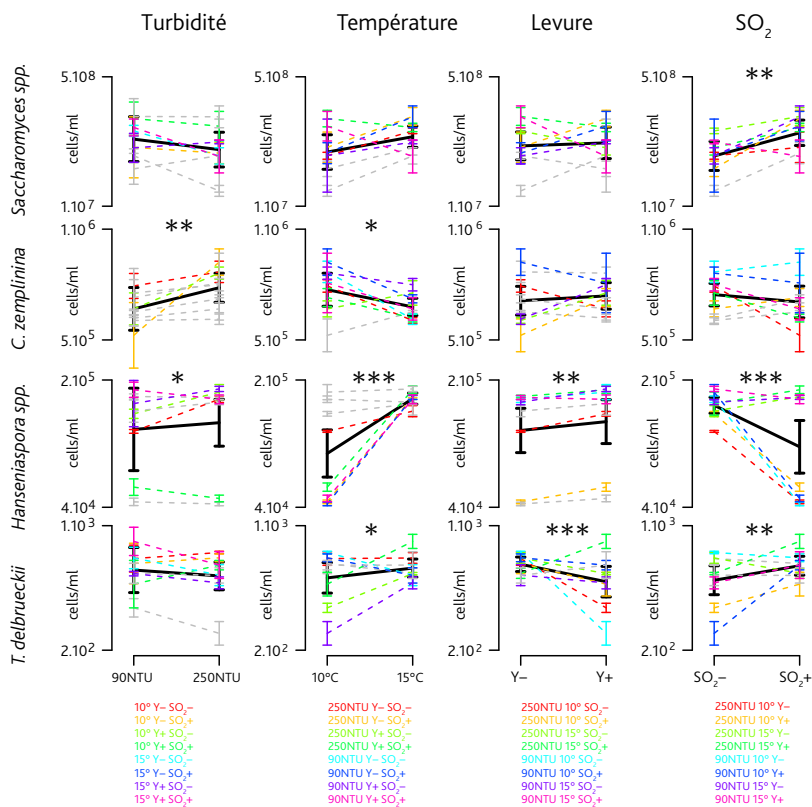


Figure 1 : Impact des facteurs technologiques sur la taille maximale des populations levuriennes issues d'un écosystème microbiologique reconstitué lors de la phase pré-fermentaire et fermentaire d'un moût de Chardonnay.

Impact organoleptique les levures non-Saccharomyces.

Au-delà de la compréhension fine des éléments favorisant le développement de telle ou telle espèce, une question essentielle consiste à évaluer l'impact organoleptique de la valorisation de la flore pré-fermentaire. Pour cela, des fermentations ont été réalisées en présence d'un mélange d'espèces non-*Saccharomyces* en co-inoculation avec *Saccharomyces cerevisiae*. Deux souches isogéniques de *Saccharomyces cerevisiae* ont été utilisées, l'une à phase de latence courte (XAZ11) et l'autre à phase de latence longue (XAZ19). Cette dernière permet de potentialiser l'expression des levures non-*Saccharomyces* (NS) en les laissant se développer davantage que la souche à phase de latence courte.

Les résultats montrent qu'en présence de cet écosystème reconstitué de levures non-*Saccharomyces*, la complexité et le fruité du vin sont augmentés, si et seulement si elles sont utilisées dans un processus leur laissant le temps de se développer (c'est-à-dire dans ce cas en co-inoculation avec une souche de *S. cerevisiae* à phase de latence longue ou bien en présence d'une souche de *S. cerevisiae* à phase de latence courte inoculée à un niveau très faible).

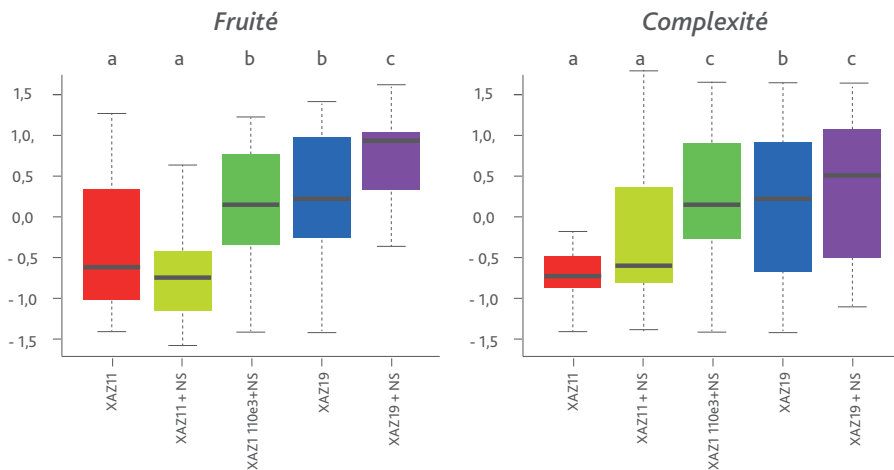


Figure 2 : Résultats de dégustation sur les paramètres fruités et la complexité d'un Sauvignon blanc ensemencé avec un écosystème reconstitué de levures non-Saccharomyces. Les notes « fruité » et « complexité » ont été normalisées pour chaque jury (24 dégustateurs). Les lettres a, b, c représentent les groupes de moyenne significativement différents (test de Duncan, $\alpha = 5\%$). XAZ11 = souche de *S. cerevisiae* à phase de latence courte inoculée à 10^6 UFC/mL ; XAZ11+NS = souche de *S. cerevisiae* à phase de latence courte inoculée à 10^6 UFC/mL + écosystème reconstitué de levures non-Saccharomyces ; XAZ1110e3+NS = souche de *S. cerevisiae* à phase de latence courte inoculée à 10^3 UFC/mL + écosystème reconstitué de levures non-Saccharomyces ; XAZ19 = souche de *S. cerevisiae* à phase de latence longue inoculée à 10^6 UFC/mL ; XAZ19+NS = souche de *S. cerevisiae* à phase de latence longue inoculée à 10^6 UFC/mL + écosystème reconstitué de levures non-Saccharomyces.

Conclusion.

Ces résultats montrent qu'il peut y avoir un réel intérêt pour la qualité des vins à exploiter la biodiversité. Néanmoins, il reste à préciser le rôle de chacune des espèces. Si certains genres/espèces sont connus pour impacter positivement la qualité du vin (*Torulaspora delbrueckii*, *Metschnikowia*, *Pichia kluyveri*), d'autres peuvent aussi être génératrices de défauts (*Candida zemplinina*, *Hanseniaspora uvarum*).

Ainsi, l'exploitation de la biodiversité peut être un élément intéressant pour la qualité des vins, mais il n'en reste pas moins que c'est vers une biodiversité orientée que le vinificateur doit se tourner.

ARTICLES PUBLIÉS SUR LE SUJET :

Albertin W., Miot-Sertier C., Bely M., Marullo P., Coulon J., Moine V., Colonna-Ceccaldi B. & Masneuf-Pomarède I. 2014. **Enological prefermentation practices strongly impact yeast population dynamics and alcoholic fermentation kinetics in Chardonnay grape must.** International Journal of Food Microbiology. 178 : 87-97.

Albertin W., Setati M. E., Miot-Sertier C., Mostert T., Colonna-Ceccaldi B., Coulon J., Girard P., Moine V., Pillet M., Salin F., Bely M., Divol B. & Masneuf-Pomarède I. 2016. **Hanseniaspora uvarum from winemaking environment shows spacial and temporal genetic clustering.** Frontiers in Microbiology. 6 : 1569.

Masneuf-Pomarède I., Bely M., Marullo P. & Albertin A. 2016. **The genetics of non-conventional wine yeast : current knowledge and future challenges.** Frontiers in Microbiology. 6 : 1563.

Influence de *Torulaspora delbrueckii* sur le profil aromatique des vins.



Philippe Renault, sous la direction de Marina Bely, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Université de Bordeaux, France.

La fermentation alcoolique est un processus microbiologique complexe faisant intervenir de nombreuses espèces de levures. En effet, si l'espèce majoritaire conduisant la fermentation alcoolique est bien *Saccharomyces cerevisiae*, de nombreuses autres levures (appelées levures « non-*Saccharomyces* ») sont également présentes dans le moût et participent partiellement au processus de transformation des sucres en éthanol. Néanmoins, parmi toutes les espèces potentiellement présentes dans le moût en début de fermentation alcoolique, toutes ne possèdent pas d'intérêt qualitatif. Certaines, en revanche, peuvent apporter au vin des caractéristiques recherchées comme la diminution de l'acidité volatile ou la révélation d'arômes.

Torulaspora delbrueckii est une levure produisant peu de composés à défaut olfactif (acide acétique, acétate d'éthyle, acétaldéhyde, acétoïne, vinyl-phénols....) et une des rares espèces non-*Saccharomyces* à être commercialisée sous forme de levure sèche active en parallèle de la majorité des levures, composées essentiellement de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. Initialement utilisée pour diminuer l'acidité volatile des vins liquoreux de par son caractère osmotolérant, elle est également utilisée aujourd'hui dans l'élaboration des vins rouges et des vins blancs secs. Pour cela, elle est inoculée en premier lieu dans le moût puis suivie 24 à 48 heures après d'une inoculation par *Saccharomyces cerevisiae*. En effet, même si parmi les levures dites « non-*Saccharomyces* » elle constitue une des espèces les plus tolérantes à l'éthanol, il n'en demeure pas moins qu'elle ne peut fermenter les sucres au-delà d'un TAV de 7 à 10 % vol.

Influence de *Torulaspora delbrueckii* sur les arômes variétaux de type thiols volatils.

Au-delà de la diminution d'acidité volatile, l'utilisation de *Torulaspora delbrueckii* peut apporter de nombreux caractères positifs au vin. Le tableau 1 montre la concentration en thiols volatils d'un vin de Sauvignon blanc dont le moût a été inoculé selon trois modalités d'ensemencement :

- Avec *Torulaspora delbrueckii* (ZYMAFLORE® ALPHA^{TD}) dans un premier temps puis 24 h après avec *Saccharomyces cerevisiae* (ZYMAFLORE® X5).
- Avec *Torulaspora delbrueckii* (ZYMAFLORE® ALPHA^{TD}) et *Saccharomyces cerevisiae* (ZYMAFLORE® X5) simultanément.
- Avec *Saccharomyces cerevisiae* seule (ZYMAFLORE® X5).

Tableau 1 : Concentrations en thiols volatils dans un vin de Sauvignon blanc. Le moût a été inoculé selon trois modalités : inoculation de ZYMAFLORE® ALPHA^{TD} suivie 24h après d'une inoculation avec ZYMAFLORE® X5 (inoculation séquentielle) – inoculation de ZYMAFLORE® ALPHA^{TD} et ZYMAFLORE® X5 simultanément (co-inoculation) – inoculation avec ZYMAFLORE® X5 seule. Ensemencement ZYMAFLORE® ALPHA^{TD} : 10⁷ cellules/mL - ZYMAFLORE® X5 : 2.10⁶ cellules/mL. Les dosages des thiols volatils ont lieu en fin de FA.

	Inoculation séquentielle ZYM. ALPHA ^{TD} /ZYM. X5	Co-inoculation ZYM. ALPHA ^{TD} /ZYM. X5	Inoculation ZYM. X5 seule
4MSP (ng/L)	7,5	Non détecté	33,5
3SH (ng/L)	1312	362	303
A3SH (ng/L)	217,5	79,3	83

L'inoculation séquentielle de *Torulaspora delbrueckii* et *Saccharomyces cerevisiae* permet d'augmenter de façon significative la concentration en 3SH et son acétate, molécules responsables des arômes de pamplemousse et fruit de la passion dans les vins de Sauvignon blanc. Cet effet est possible si et seulement si l'inoculation des deux espèces est réalisée séquentiellement, ce qui souligne l'importance du mode d'ensemencement.

Une approche originale par suivi des précurseurs cystéinylé (Pcys-3SH) et glutathionylé (PGSH-3SH) du 3SH (figure 1) indique que l'augmentation de cet arôme est liée à la transformation plus importante dans le cas de l'inoculation séquentielle du PGSH-3SH en Pcys-3SH (figure 2).

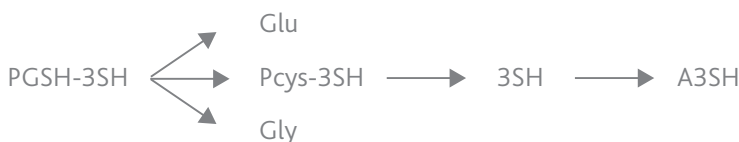


Figure 1 : Voie de synthèse chez la levure du 3 sulfanyl hexanol (3SH).

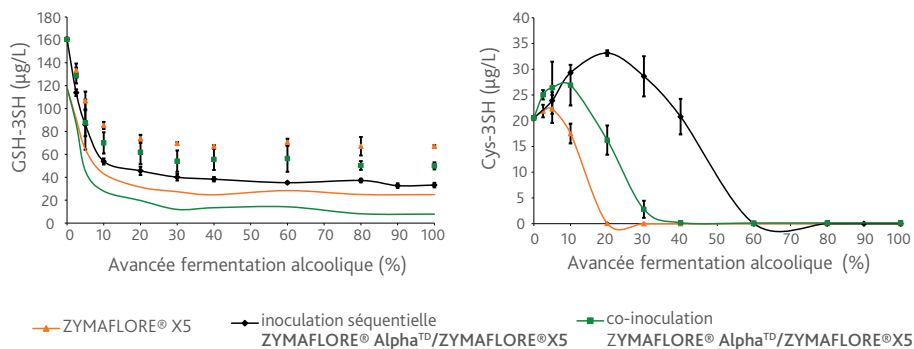


Figure 2 : Cinétiques d'utilisation du précurseur glutathionylé (PGSH-3SH) et cystéinylé (Pcys-3SH) du 3SH.

Il apparaît par ailleurs que la biomasse développée par *Torulaspora delbrueckii* est plus importante lors d'une inoculation séquentielle que lors d'une co-inoculation. C'est cette biomasse, quantitativement plus importante, qui est capable de libérer davantage de Pcys-3SH à partir du précurseur glutathionylé, rendant ainsi plus disponible ce dernier pour *Saccharomyces cerevisiae*.

Ainsi, c'est un véritable travail synergique entre les deux espèces qui permet d'augmenter la concentration du 3SH dans les vins fermentés après inoculation séquentielle de ces deux levures.

Influence de *Torulaspora delbrueckii* sur les arômes de type esters.

Torulaspora delbrueckii n'impacte pas seulement le caractère aromatique thiolé, elle participe également au fruité du vin par le biais d'esters spécifiquement liés à son développement. Le tableau 2, tiré d'un autre essai, montre les concentrations d'esters après fermentation alcoolique de moûts ayant été inoculés soit séquentiellement avec *Torulaspora delbrueckii* (ZYMAFLORE® ALPHA^{TD}) puis (ZYMAFLORE® X5), soit uniquement avec (ZYMAFLORE® X5). Ces esters sont classés en deux catégories appelées d'une part « esters majeurs » et correspondant aux esters

dont les concentrations sont les plus élevées dans les vins, et d'autre part « esters mineurs », leur concentration étant largement inférieure à celle de la catégorie précédente.

Tableau 2 : Concentrations en esters majeurs et mineurs de vins fermentés soit après inoculation séquentielle de ZYMAFLORE® ALPHA^{TD} et ZYMAFLORE® X5 (24h après inoculation avec ZYMAFLORE® ALPHA^{TD}), soit après inoculation de ZYMAFLORE® X5.

	Inoculation séquentielle ZYM. ALPHA ^{TD} /ZYM. X5	Inoculation ZYM. X5
Somme des esters majeurs (µg/L)	6472	6107
Somme des esters mineurs (µg/L)	454	185
Dont : Propanoate d'éthyle	233,22	37,05
Dont : Isobutyrate d'éthyle	41.24	8.84
Dont : Dihydrocinnamate d'éthyle	1.26	0.20

Parmi les esters mineurs, trois constituent des marqueurs spécifiques du métabolisme de *Torulaspora delbrueckii* : le propanoate d'éthyle (fraise, mûre), l'isobutyrate d'éthyle (fraise, kiwi) et le dihydrocinnamate d'éthyle (ananas, amande). De plus, ces trois esters, bien que présents à des concentrations en deçà de leur seuil de perception, participent activement à l'arôme des vins et en particulier à celui des vins rouges. En effet, lorsque un vin fermenté seulement avec *S. cerevisiae* (ZYMAFLORE® FX10 dans l'exemple montré figure 3) est supplémenté à la hauteur des concentrations en ces trois esters mesurées dans le vin fermenté par *Torulaspora delbrueckii* (ZYMAFLORE® ALPHA^{TD}) et ZYMAFLORE® FX10 (inoculation séquentielle), ce dernier retrouve le fruité et la complexité mesurés dans le premier vin, tout en voyant ses notes végétales diminuées.

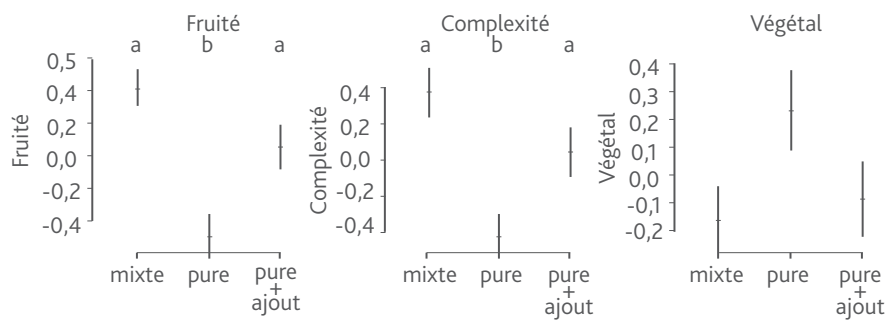


Figure 3 : Dégustation par un panel de dégustateurs de vins (Merlot) fermentés avec ZYMAFLORE® ALPHA^{TD} et ZYMAFLORE® FX10 (« mixte », signifiant une inoculation séquentielle) ou bien avec ZYMAFLORE® FX10 seulement (« pure »). Un troisième vin, nommé « pure+ ajout » correspond au vin fermenté avec ZYMAFLORE® FX10 seule dans lequel des ajouts en propanoate d'éthyle, isobutyrate d'éthyle et dihydrocinnamate d'éthyle ont été réalisés à hauteur des concentrations détectées dans la modalité « mixte ».

■ Conclusion.

Ainsi, de façon remarquable, il est clairement démontré que ce sont bien les esters mineurs spécifiquement formés par l'activité de *Torulaspora delbrueckii* qui impactent de façon positive le fruité et la complexité du vin, tout en gommant les notes végétales sur vin rouge. En vin blanc, l'impact sur les thiols et en particulier sur la 3SH en inoculation séquentielle est désormais expliqué.

ARTICLES PUBLIÉS SUR LE SUJET :

Renault P., Miot-Sertier C., Marullo P., Hernandez-Orte P., Lagarrigue L., Lonvaud-Funel A. & Bely M. 2009. **Genetic characterization and phenotypic variability in *Torulaspora delbrueckii* species : Potential applications in the wine industry.** International Journal of Food Microbiology. 134 : 101-110.

Renault P., Ehsani M. & Bely M. 2010. **Les non-*Saccharomyces* et leur expression lors de la fermentation alcoolique : cas spécifique de *Torulaspora delbrueckii*.** Revue Française d'Œnologie, N° 242.

Ehsani M., Renault R. & Puente V. 2012. **L'impact organoleptique de *Torulaspora delbrueckii* en conditions œnologiques lors de l'inoculation séquentielle avec *Saccharomyces cerevisiae*.** La Revue des Œnologues. N° 145.

Renault P., Coulon J., de Revel G., Barbe G. & Bely M. 2015. **Increase of fruity aroma during mixed *T. delbrueckii* / *S. cerevisiae* wine fermentation is linked to specific esters enhancement.** International Journal of Food Microbiology. 207 : 40-48.

Renault P., Coulon J., Moine V., Thibon C. & Bely M. 2016. **Enhanced 3-sulfanylhexan-1-ol production in sequential mixed fermentation with *Torulaspora delbrueckii*/ *Saccharomyces cerevisiae* reveals a synergistic interaction between the 2 species.** Frontiers in Microbiology, section Food Microbiology. 7:293.

Les auteurs souhaitent remercier Cécile Thibon et Jean-Christophe Barbe pour les dosages des esters, des thiols et de leurs précurseurs.,

Origine de la sucrosité des vins secs.

Axel Marchal et Philippe Marullo, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Université de Bordeaux, France.



Ces travaux s'inscrivent dans la thématique de recherche sur l'identification des marqueurs de la qualité des vins. Ils sont issus d'une lignée de projets de recherche débutée dans les années 2000 avec la Thèse d'Anne Humbert sur les phénomènes enzymatiques intervenant lors de l'élevage. Ces travaux ont mis en évidence que la fraction sapide libérée au cours de l'élevage sur lies est constituée de peptides de petite taille entre 0,5 et 3KDa. Par la suite, cette fraction peptidique a été purifiée à partir de l'autolyse d'une levure et l'analyse LC-MS/MS a permis d'identifier des peptides issus de la protéine membranaire Hsp12 (Heat shock protein). Ce second travail a fait l'objet d'une ***famille de brevets*** (Moine V., 2005) et du développement du produit **CENOLEES®**. Quelques années plus tard, Axel MARCHAL reprend ces travaux au cours de son doctorat et conduit encore aujourd'hui des recherches sur la sucrosité des vins et le rôle de la protéine Hsp12.

Rôle de la protéine Hsp12 dans la saveur sucrée des vins secs.

L'équilibre gustatif d'un vin repose non seulement sur sa structure tannique et son acidité, mais également sur sa douceur. Or, l'origine moléculaire de la saveur sucrée des vins secs est demeurée pendant longtemps mystérieuse, en dépit de l'importance de cette perception dans l'appréciation par les consommateurs.

Pour vérifier le gain de sucrosité associé à la présence de cette protéine consécutive à l'autolyse des levures dans les vins secs, l'utilisation conjointe de techniques de biologie moléculaire et d'analyse sensorielle a été mise en place (Figure 1). Un « mutant zéro » Δ° Hsp12 a été construit et comparé à la levure œnologique **ZYMAFLORE® FX10**, dont il ne diffère que par l'absence du gène HSP12. Les levures ont été introduites dans un vin sec à des concentrations identiques

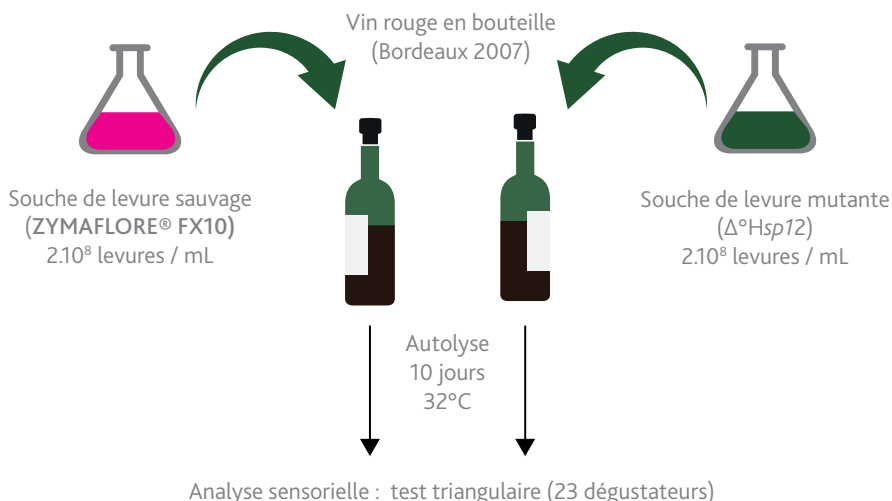


Figure 1 : Protocole de mise en évidence du rôle de la protéine Hsp12 dans le gain de saveur sucrée consécutif à l'autolyse des levures.

et cohérentes avec la réalité œnologique (2.10^8 cellules/mL). Un test triangulaire est effectué et montre une différence organoleptique significative entre les 2 modalités au seuil de 5%. Selon les dégustateurs, la présence de la protéine Hsp12 est associée à une augmentation de la sucrosité, ce qui confirme l'implication de cette protéine dans le gain de saveur sucrée lié à l'autolyse.

Ces recherches ont été poursuivies et appliquées à l'effet de plusieurs paramètres fermentaires susceptibles de moduler l'intensité de la saveur sucrée.

■ Paramètres influençant le niveau d'expression du gène HSP12.

Des fermentations sont conduites en milieu synthétique à partir de deux souches œnologiques ZYMAFLORE® FX10 et ZYMAFLORE® VL3. Le niveau d'expression du gène HSP12 est mesuré, pour chacune des souches, à différents stades de la fermentation alcoolique (après libération de 30, 46, 55, 66 et 76 g/L de CO_2). Les résultats présentés dans la figure 2 montrent que le niveau d'expression de HSP12 augmente progressivement avec l'avancement de la fermentation alcoolique, pour les deux souches. Cette expérience confirme des travaux précédents et suggère que l'éthanol produit au cours de la fermentation alcoolique pourrait engendrer un stress à l'origine de l'expression accrue de HSP12. Si l'éthanol a un goût sucré lorsqu'il est dégusté à faible concentration dans l'eau, nous avons précédemment démontré que l'ajout de 1,5 % d'éthanol à un vin sec ne modifiait pas la perception de sa saveur sucrée. Pourtant, les dégustateurs experts perçoivent fréquemment une sucrosité intense dans les vins à fort degré alcoolique. Cela pourrait s'expliquer par l'effet inducteur de l'éthanol sur l'expression du gène HSP12 : dans les vins à fort degré alcoolique, la synthèse du peptide Hsp12 est plus importante en fin de fermentation, ce qui confère une saveur sucrée plus intense.

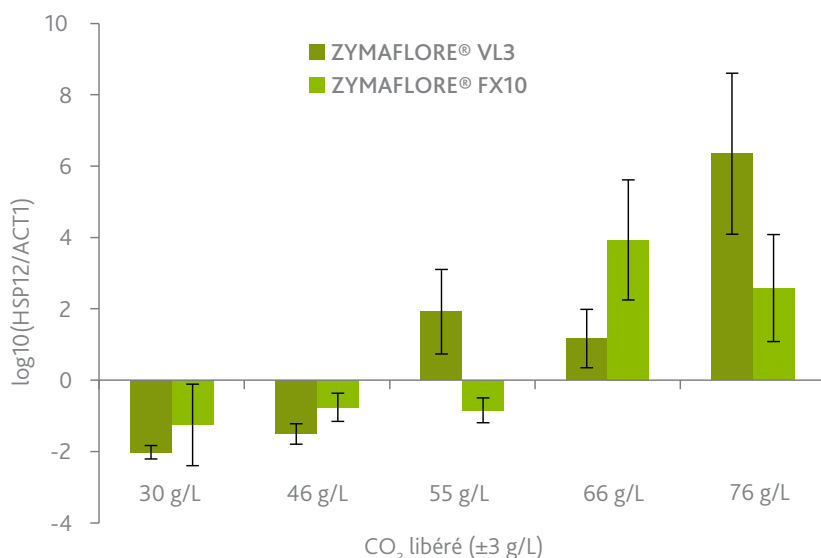


Figure 2 : Suivi de l'expression d' HSP12 pendant la fermentation alcoolique à 26°C de 2 souches de levure, ZYMAFLORE® FX10 et ZYMAFLORE® VL3.

Un vin ne contenant pas la protéine Hsp12 est obtenu par fermentation d'un moût de Merlot issu de thermovinification par la souche Δ° Hsp12. En parallèle, la biomasse des huit souches étudiées précédemment a été récoltée à mi-fermentation et ajoutée dans le vin de Merlot à des concentrations similaires à celles observées lors de la vinification. Comme le vin est sec, les levures ne peuvent se développer. Afin de favoriser leur autolyse, les vins sont placés à 32°C pendant 10 jours, pour mimer les conditions d'une macération post-fermentaire à chaud. Le panel doit alors noter l'intensité de la saveur sucrée, sur une échelle de 0 à 7 (Figure 3).

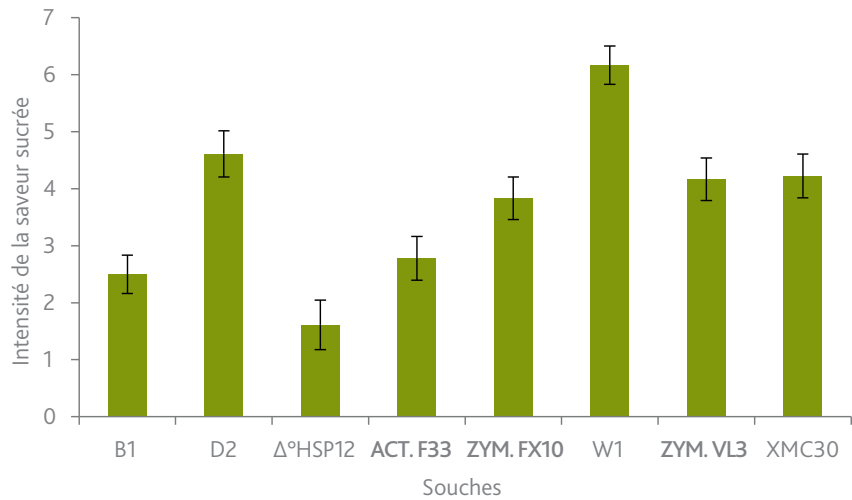


Figure 3 : Impact de la souche de levure sur la perception de sucrosité après autolyse.

L'analyse de variance révèle qu'il n'y a pas d'effet « juge ». Ce consensus entre les dégustateurs montre l'efficacité de l'entraînement sensoriel préliminaire. En revanche, les résultats montrent un fort effet « souche », c'est-à-dire que les dégustateurs ont perçu des variations nettes de sucrosité en fonction de la souche de levure utilisée pour l'autolyse. On observe que la **ZYMAFLORE® FX10** présente une intensité de la saveur sucrée plus élevée que ce que suggérerait son niveau d'expression de HSP12. Cela pourrait notamment s'expliquer par les mécanismes post-fermentaires impliqués dans la libération de la protéine Hsp12 et de ses peptides sucrés. En tout état de cause, un test statistique indique une corrélation entre ces données sensorielles et les niveaux d'expression du gène HSP12 pour la majorité des souches (p-value = 0,06).

Conclusion.

Ces résultats démontrent pour la première fois que la souche de levure influence significativement le goût du vin. Les différences de saveurs sucrées sont corrélées aux variations de l'expression du gène codant pour la protéine Hsp12.

Ces recherches ouvrent de nouvelles perspectives sur la maîtrise du goût au cours de l'élaboration du vin. Elles devront être continuées afin d'identifier les peptides sucrés issus de Hsp12 et également de préciser les conditions post-fermentaires favorisant leur libération dans le vin. En outre, l'aptitude de la levure à augmenter la saveur sucrée du vin peut apparaître comme un nouveau critère entrant en ligne de compte pour la sélection de nouvelles souches œnologiques.

ARTICLES PUBLIÉS SUR LE SUJET :

Marchal, A., Marullo P., Durand C., Moine V. & Dubourdieu D. 2015. Fermentative Conditions Modulating sweetness in dry wines: genetics and environmental factors influencing the expression level of the hSP12 gene. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 63 (1) : 304–11.

Marchal, A., Marullo P., Durand C., Moine V. & Dubourdieu D. 2015. Acquisitions récentes sur les paramètres fermentaires influençant la saveur sucrée des vins secs. Revue des Œnologues. N°156.

Marchal, A., Marullo P., Durand C., Moine V. & Dubourdieu D. 2011. Influence of yeast macromolecules on sweetness in dry wines: role of the protein Hsp12. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59 (5) : 2004–10.

Marchal, A., Marullo P., Durand C., Moine V. & Dubourdieu D. 2011. Recherches sur les bases moléculaires de la saveur sucrée des vins secs. Partie 1/2 : Effet de l'éthanol, du glycérol et des macromolécules de levures sur la sucrosité des vins secs : rôle de la protéine Hsp12. Revue des Œnologues. N°141.

Modélisation de l'indice d'astringence.

Alessandra Rinaldi sous la direction de Luigi Moio à l'Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di Agraria, Sezione di Scienze della Vigna e del Vino, Avellino, Italie.



La sensation d'astringence est la conséquence à la réaction de certains tanins avec les protéines de la salive. La grande variabilité des molécules de tanins comme des protéines salivaires rendent leur mécanisme d'interaction particulièrement complexe et très difficilement mesurable. Jusqu'à aujourd'hui, la dégustation restait la seule méthode pour déterminer le degré d'astringence mais il implique une grande part de subjectivité apportée par le dégustateur.

L'évaluation de l'astringence des vins peut être réalisée aujourd'hui par la mesure de la réduction des protéines salivaires humaines. Différentes techniques ont été proposées pour l'étude de cette interaction. Parmi toutes, la technique choisie par Alessandra Rinaldi est celle d'électrophorèse sur SDS-Page.

Cette collaboration a débuté en 2007 avec la thèse d'Alessandra puis s'est prolongée par 2 ans de post-doctorat. Depuis décembre 2015, Alessandra a rejoint le service R&D de BIOLAFFORT® en qualité de personnel détaché à l'Università degli Studi di Napoli Federico II, située à Avellino (Italie).

Utilisation des protéines salivaires humaines.

L'indice d'astringence est une méthode *in vitro* qui simule le phénomène produit pendant la dégustation. Pour cela, de la salive humaine est collectée dans des conditions assez précises pour assurer une certaine « standardisation » ; une proportion constante des protéines salivaires est vérifiée. L'interaction vin et protéines salivaires forme alors des complexes insolubles qui précipitent. Le surnageant récupéré par centrifugation contient les protéines non précipitées, il est analysé et comparé aux protéines salivaires d'origine. L'analyse densitométrique des bandes protéiques obtenues sur gel de polyacrylamide en présence de dénaturant Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) permet de comparer les profils protéiques (Figure 1). Ce résultat permet la mesure de l'intensité de l'interaction.

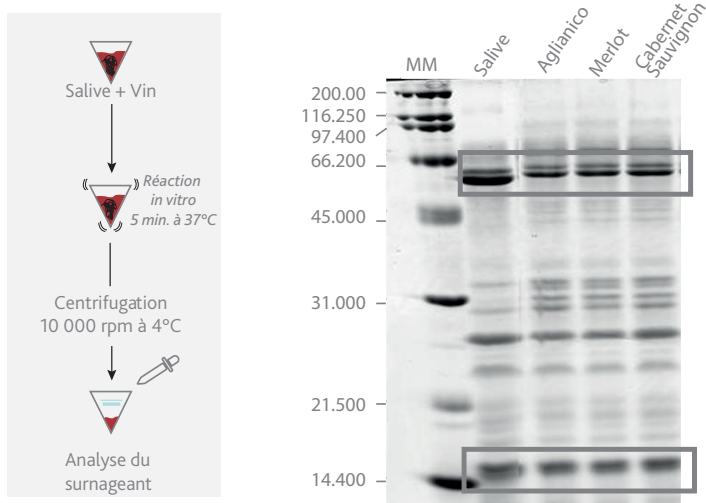


Figure 1 : Méthode *in vitro* d'interaction du vin avec les protéines salivaires humaines et analyse du surnageant sur SDS - Page.

Par ailleurs, des analyses sensorielles ont permis d'établir une corrélation entre des concentrations de tanins et différents niveaux de perception d'astringence allant de 0 à 12. Grâce à l'ensemble de ces résultats, il a été possible d'indexer la perception d'astringence avec la diminution des teneurs en protéines salivaires.

Cet outil analytique de laboratoire donne une valeur objective à l'astringence et permet de suivre son évolution au cours de la vinification ainsi que de mesurer l'influence des procédés œnologiques ou l'utilisation d'auxiliaires technologiques.

■ Influence de traitements œnologiques sur l'indice d'astringence.

Dans le cas de l'addition des tanins, la mesure de l'indice d'astringence montre que l'impact des tanins est différent selon les vins traités. L'apport d'un tanin de raisin sur l'astringence est plus important sur des vins reconnus comme moins tanniques que sur ceux plus riches en tanins (Figure 2).

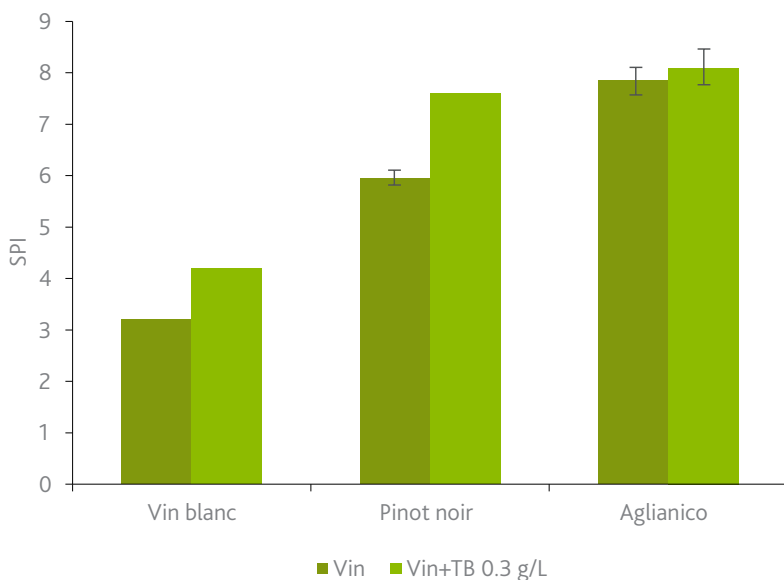


Figure 2 : Effet de l'addition de tanin issu de raisin à 30 g/hL sur un vin blanc, un vin rouge de Pinot noir et un vin rouge d'Aglianico (extrait de RINALDI A. et al., 2010).

L'efficacité de différents produits de collage sur la réduction de la perception d'astringence a été étudiée notamment sur des cépages italiens reconnus pour leur richesse en composés phénoliques et leur astringence importante. Sur des vins d'Aglianico, un nouvel extrait protéique issu de la pomme de terre, **VEGECOLL®**, a été également testé. Les résultats indiquent une forte réactivité de cette colle pour les tanins astringents de ce cépage à dose d'utilisation plus faible que celles de colles traditionnelles (Figure 3).

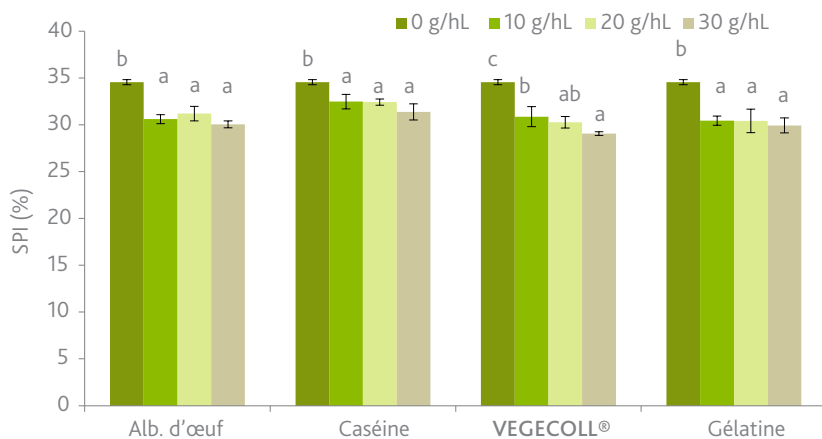


Figure 3 : Indice d'astringence (exprimé en %) d'un vin d'Aglianico traité avec l'albumine, le caséinate de potassium, VEGECOLL® et la gélatine (extrait de Gambuti A. et al., 2012b).

Amélioration de la méthode.

Au cours de ce post-doctorat, la méthode a été améliorée par la mise en place d'une technique micro-fluidique (Figure 4). Cette approche permet de mesurer plusieurs échantillons dans un temps d'analyse plus court que celui de la technique conventionnelle.

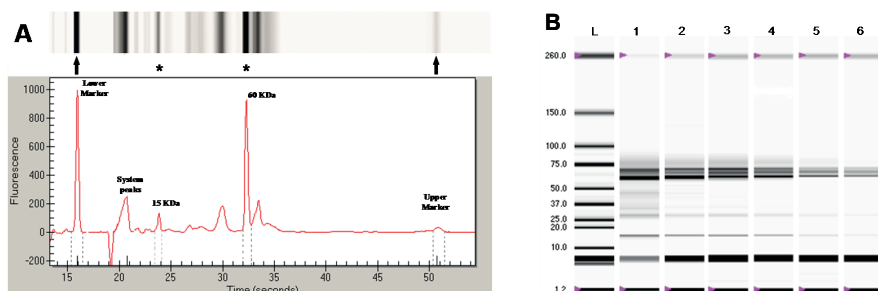


Figure 4 : Résultats des profils obtenus par la technique micro-fluidique et utilisés dans la mesure de l'indice d'astringence (extrait de Rinaldi et al., 2014.).

Conclusion.

Cette analyse est aujourd'hui disponible au laboratoire SARCO pour l'analyse des vins. À titre d'exemple, nous présentons l'analyse de trois modalités d'un vin rouge millésime 2015 inoculé avec ZYMAFLORE® XPURE : le vin sans traitement (témoin), une modalité traitée avec CENOLEES® à 20 g/hL en fermentation alcoolique et une modalité qui combine l'utilisation d'CENOLEES® en fermentation avec EXTRALYSE® à 10 g/hL en fin de fermentation (Figure 5). Les résultats après FML indiquent que la perception d'astringence est moindre lorsque le vin est traité avec CENOLEES® et EXTRALYSE® dans les mêmes conditions de vinification.

Il est donc désormais possible pour les œnologues d'analyser l'astringence de manière fiable et objective, en complément de la dégustation, et de mesurer l'impact de certains traitements ou pratiques œnologiques sur l'astringence des vins.

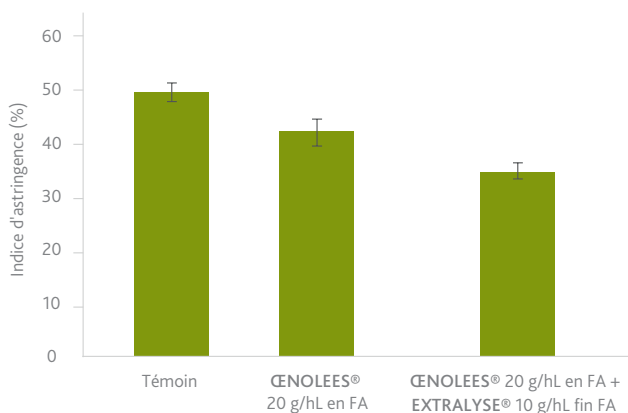


Figure 5 : Indice d'astringence après FML de trois vins rouges millésime 2015 inoculés avec ZYMAFLORE® XPURE. Témoin sans traitement, modalité traitée avec CENOLEES® à 20 g/hL en FA et modalité traitée avec CENOLEES® à 20 g/hL en FA et EXTRALYSE® à 10 g/hL fin FA.

ARTICLES PUBLIÉS SUR LE SUJET :

Rinaldi A., Blaiotta G., Aponte M. & Moio L. 2016. Effect of yeast strain and some nutritional factors on tannin composition and potential astringency of model wines. Food microbiology. 53 : 128-134.

Rinaldi A., Iturmendi N., Gambuti A., Jourdes M., Teissedre P.L. & Moio L. 2014. Chip electrophoresis as a novel approach to measure the polyphenols reactivity toward human saliva. Electrophoresis. 35 : 1735-1741.

Rinaldi A., Gambuti A. & Moio L. 2012c. Précipitation des protéines salivaires suite à l'interaction avec le vin : les effets de l'éthanol, du pH, du fructose et des mannoprotéines. Revue des Œnologues. n° 145 : 23-25.

Gambuti A., Rinaldi A. & Moio L. 2012b. Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine. European Food Research and Technology. DOI 10.1007/s00217-012-1791-y.

Rinaldi A., Gambuti A. & Moio L. 2012a. Application of the SPI (Saliva Precipitation Index) to the evaluation of red wine astringency. Food Chemistry. 135 : 2498-2504.

Rinaldi A., Gambuti A., Moine-Ledoux V. & Moio L. 2010. Evaluation of the astringency of commercial tannins by means of the SDS-PAGE-based method. Food Chemistry. 122 : 951-956.

Rinaldi A., Moio L. & Moine V. 2007. Application d'une nouvelle méthode de mesure de l'astringence des vins rouges à l'évaluation des différents produits de collage. Revue des Œnologues. n° 125 : 38-40.

Caractérisation chimique des précipités de matière colorante.

Shipra Prakash sous la direction d'Erick Dufourc et Axelle Grélard de l'Institut de Chimie et Biologie de membranes et nano-objets (CBMN), UMR5248, CNRS, Université de Bordeaux, France.



La **matière colorante** se définit comme un **précipité** qui apparaît quand le vin est exposé à basse température. Ce précipité peut se former au cours de l'élevage en fonction des conditions de conservation. Mais son apparition est dépréciée lorsqu'elle survient trop tôt en bouteille.

Les connaissances sur ce sujet sont très limitées, l'œnologue peut décider de prévenir ce risque de précipitation par un collage ou une stabilisation au froid. Il existe aujourd'hui un test au froid qui permet de prédire de l'instabilité du vin. Néanmoins, un nouveau précipité de matière colorante peut se reformer dans le vin au vieillissement.

De précédentes études avançaient que la matière colorante était formée d'un complexe entre des composés phénoliques et un colloïde de nature polysaccharidique ou protéique. Ce complexe de matière colorante est décrit de faible masse moléculaire car il peut être éliminé par dialyse, en revanche il peut se reformer de nouveau par la suite plus ou moins rapidement suivant les conditions de conservation.

■ Application d'une technologie innovante en recherche œnologique.

La compréhension des mécanismes de stabilisation passe par l'identification des molécules responsables de l'instabilité ; c'est pour cela que notre équipe a décidé de relancer le sujet en collaboration avec la plateforme de l'Institut Européen de Chimie et Biologie de l'Université de Bordeaux. Pour ce projet nous utilisons la technologie de Résonance Magnétique Nucléaire à très haut champs (RMN 800 MHz, Figure 1). Cette technique non destructive permet d'identifier et de quantifier les composés constituant des précipités de matière colorante.



Figure 1 : Spectromètre de résonance magnétique nucléaire (RMN) 800 MHz pour applications liquides, solides et matière molle.

Composition chimique des précipités de matière colorante.

L'analyse des précipités a été réalisée par RMN du carbone au cours de l'élevage en barrique. Nous constatons la présence de bitartrate de potassium dans les premiers mois mais il disparaît rapidement pendant l'élevage par précipitation naturelle au cours de l'hiver (Figure 2). Le temps d'élevage en barrique ne modifie pas les autres familles de substances impliquées dans les précipités de matière colorante, qui sont dominés par la présence de composés phénoliques et de polysaccharides.

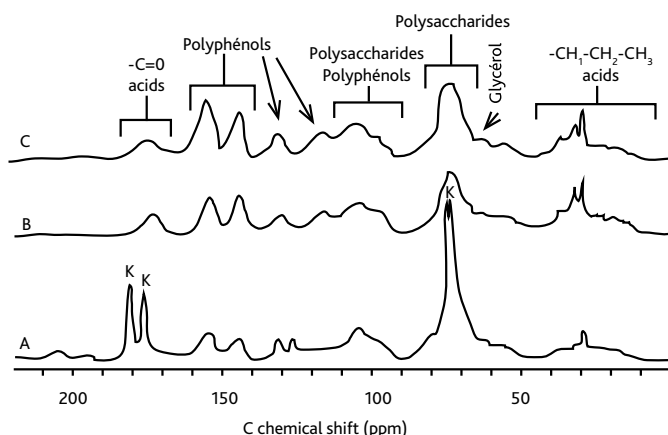


Figure 2 : Analyse des précipités de matière colorante (6 jours, -4 °C) issus de vins de Cabernet Sauvignon et de Merlot (2013) au cours d'élevage par RMN ^{13}C . A, Merlot après 1 mois d'élevage ; B, Merlot après 4 mois d'élevage et C, Cabernet Sauvignon après 4 mois d'élevage. K indique les pics du bitartrate de potassium (extrait de Food Chemistry (2016) 199, 229-237).

Ils contiennent également des acides aminés et des composés solubles du vin tels que le glycérol et les acides lactique et succinique (Figure 3).

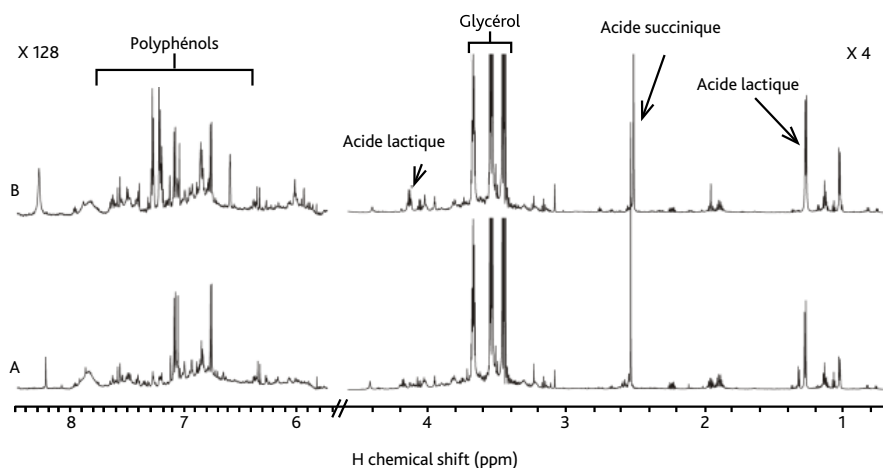


Figure 3 : Analyse de la fraction soluble dans l'eau des précipités de matière colorante (6 jours, +4 °C) issus de vins de Cabernet Sauvignon et de Merlot (2013) après 1 mois d'élevage par RMN ^1H (extrait de Food Chemistry (2016) 199, 229-237).

■ Principales différences entre les précipités de matière colorante du Cabernet Sauvignon et du Merlot

Les profils des précipités par RMN du solide obtenus de Cabernet Sauvignon et de Merlot présentent les mêmes familles de composés. Seule la quantité des polyphénols diffère. Elle est plus importante dans le précipité de Cabernet Sauvignon que dans celui de Merlot.

Lorsque les précipités sont solubilisés dans l'eau, les analyses de RMN du liquide (Figure 4) indiquent que les polyphénols présents dans la matière colorante issue de Merlot sont plus solubles que celle du Cabernet Sauvignon. Cette observation semble indiquer des différences de proportion au sein des composés phénoliques de ces deux cépages et vraisemblablement au niveau de leur hydrophobicité.

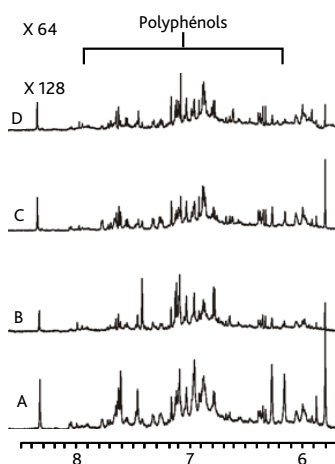


Figure 4 : Analyse de la fraction soluble dans l'eau des précipités de matière colorante de Merlot à -4 °C, 6 jours (A) et à +4 °C, 6 jours (B) et ceux de Cabernet Sauvignon à -4 °C, 6 jours (C) et à +4 °C, 6 jours (D) après 1 mois d'élevage par RMN 1H.

■ Conclusion.

Grace à ces travaux, 81% des molécules constituant le précipité de matière colorante sont identifiés et quantifiés ; 51% sont des polyphénols. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives sur le mécanisme de la stabilisation et du collage des vins rouges. La pertinence du test au froid a été démontrée, c'est aujourd'hui une méthode efficace pour mesurer l'instabilité vis-à-vis de la matière colorante.

ARTICLE PUBLIÉ SUR LE SUJET :

Prakash S., Iturmendi N., Grelard A., Moine V. & Dufourc E. 2016. Quantitative analysis of Bordeaux red wine precipitates by solid-state NMR: Role of tartrates and polyphenols. Food Chemistry. 199 : 229-237.

œnologie
ricerca
innovación
research
i n n o v a t i o n
nature

*Ce livret présente un aperçu des résultats de certains projets
de recherche récemment achevés.*

N'hésitez pas à nous contacter pour en savoir plus.

œnologie
ricerca
innovación
research
i n n o v a t i o n
nature



LAFFORT

l'œnologie par nature