

Macération pré-fermentaire à froid des vins rouges

Metschnikowia pulcherrima Gaïa_{MP98,3} :

une nouvelle voie microbiologique pour sécuriser le procédé et optimiser l'impact sensoriel

Vincent Gerbaux¹, Isabelle Davanture¹, Anne Guilloteau¹, Anne Julien-Ortiz², Françoise Raginel², Anthony Silvano²

¹IFV – Unité de Beaune – France.

²Société Lallemand – Toulouse – France.

Introduction

La macération pré-fermentaire à froid est une technique largement répandue à travers le monde pour la vinification des vins rouges. Différentes options techniques peuvent être retenues en fonction de l'objectif et des possibilités de la cave. Le niveau de température et le niveau de sulfitage sont des paramètres déterminants qui influencent directement la flore microbienne présente. La température est généralement comprise entre 10 et 15 °C, sachant que la présence d'une phase solide entraîne une hétérogénéité. Outre le décalage de la fermentation

alcoolique, qui peut être recherché pour des raisons de gestion de cuverie, la macération pré-fermentaire à froid est souvent citée pour améliorer la couleur et l'intensité aromatique fruitée. Une augmentation de la couleur est liée à un surdosage en anhydride sulfureux, non souhaitable dans un contexte de diminution des intrants. Sinon, l'intensité colorante constatée lors d'une macération pré-fermentaire à froid est simplement le fait d'un moût clarifié. L'augmentation du caractère fruité serait liée à la flore microbienne présente. Cependant, il a été clairement montré que la flore levurienne dominante du raisin intègre notamment des

levures de l'espèce *Kloeckera apiculata* (ou *Hanseniaspora uvarum*), se caractérisant par une forte aptitude à produire de l'acide acétique et de l'acétate d'éthyle.

Dans ces conditions, il peut être intéressant d'associer une macération pré-fermentaire à froid et un ensemencement avec une levure non fermentaire dont les aptitudes œnologiques sont connues. L'objectif est double : protéger le moût des levures indésirables et favoriser l'expression aromatique. Il existe dans la biodiversité des levures *non-Saccharomyces* des espèces, comme *Metschnikowia pulcherrima*, pouvant parfaitement remplir ce rôle.

Matériels et méthodes

Une collection originale de plus de 500 souches de levures de Bourgogne a été constituée à partir de parcelles de vignes et de cuvées non encore fermentées. Cette collection, reflétant la grande diversité microbienne dans ce type de milieu, a ensuite été testée vis-à-vis de différents critères, afin de réduire le nombre de souches intéressantes pour l'objectif de la sélection (tableau 1). 25 souches ont été retenues et classées dans un ordre d'intérêt décroissant. Les

■ **Tableau 1: Chronologie de la sélection d'une nouvelle levure pour sécuriser la macération pré-fermentaire à froid des vins rouges.**

Étapes	Opérations et tests de sélection	Nombre de souches
Constitution de la collection	Isolats de 40 parcelles de vigne et de 34 cuvées (15 caves) avant le début de la fermentation alcoolique.	552
Réduction du nombre de souches	Niveau 1: Tests pour écarter les souches réalisant au moins 50 % de la fermentation alcoolique.	552
	Niveau 2: Tests pour écarter les souches produisant trop d'acide acétique ou trop d'éthanol ou de croissance trop faible à basse température.	371
	Niveau 3: Tests en condition modèle de macération pré-fermentaire à froid.	54 ¹
	Niveau 4: Tests d'aptitudes spécifiques dont résistance au SO ₂ .	25 ²
	Niveau 5: Identification génétique.	15
	Niveau 6: Tests d'aptitudes œnologiques en laboratoire et en cuverie expérimentale.	3 (Gaïa _{MP98,3} , B, C)

¹ Dont 44 présentant des cellules rondes ou ovoïdes, 6 des cellules apiculées et 4 autres.

² Toutes présentant des cellules rondes ou ovoïdes.

■ **Tableau 2: Comparaisons de l'implantation de trois souches de *Metschnikowia pulcherrima* sous forme de culture liquide ou de levures sèches actives, dans un moût pasteurisé ajusté à différentes conditions physico-chimiques (valeurs moyennes +/- écart type pour 15 essais).**

	Population après ensemencement (log cell./ml)	
	T 1 jour	T 6 jours
Gaïa _{MP98,3}	6,6 +/- 0,7	7,2 +/- 0,4
Souche B	6,5 +/- 0,6	7,1 +/- 0,3
Souche C	6,5 +/- 0,7	7,1 +/- 0,4

■ **Tableau 3: Analyses en fin d'élevage de lots de pinot noir vinifiés avec une phase pré-fermentaire à froid, avec ou sans *Metschnikowia pulcherrima* (valeurs moyennes pour deux millésimes, cuves de 2,5 hl).**

	Gaïa _{MP98,3}	<i>Metschnikowia B</i>	Témoin
Degré alcoolique (% v/v)	12,4	12,2	12,3
pH	3,43	3,41	3,44
Acidité totale (g/l H ₂ SO ₄)	4,1	4,1	4,1
Acide acétique (g/l)	0,28	0,33	0,40
Intensité colorante (somme abs. 420, 520, 620 nm / 1 mm)	0,399	0,393	0,416
Indice Polyphénols Totaux (abs. 280 nm / 1 cm)	36	36	38

15 premières ont été identifiées génétiquement. Elles appartiennent toutes à l'espèce *Metschnikowia pulcherrima* et sont toutes différentes entre elles. La spécificité des tests réalisés a donc orienté la sélection vers cette espèce de levure. Trois souches (Gaïa_{MP98,3}, B, C) sont prises en compte pour des études approfondies en laboratoire et en cuverie expérimentale, en considérant, dans un premier temps, des biomasses liquides produites en laboratoire et dans un second temps, des biomasses sous forme de levures sèches actives (LSA). Les tests en laboratoire sont réalisés en flacons de 250 ml remplis à 200 ml. Un moût de raisin de pinot noir, pressé après une macération à froid de l'ordre de deux jours, est utilisé pour ces essais. Le moût a été conservé congelé jusqu'à son utilisation. Il est alors ajusté aux conditions physico-chimiques définies par le protocole d'étude et selon les cas, pasteurisé ou non (6 minutes à 70 °C). Différentes expérimentations ont été réalisées pour préciser l'influence des conditions physico-chimiques sur l'implantation de *Metschnikowia pulcherrima* dans un moût et pour déterminer les interactions avec *Kloeckera apiculata*. Des cultures liquides de *Kloeckera apiculata* (3 souches de la collection IFV) sont alors inoculées dans le moût à environ 100 cell./ml. Quatre heures plus tard, *Metschnikowia pulcherrima* est inoculée à environ 10⁶ cell./ml (culture liquide ou LSA selon les cas). Des lots témoins non ensemencés ou avec une seule espèce de levure sont suivis en référence. La température est régulée en étuve. La population levurienne est suivie en boîte de pétri avec un milieu gélosé (base YPD). La phase pré-fermentaire est suivie d'une phase fermentaire déclenchée par un ensemencement avec *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin Bourgorouge RC212®). L'application pratique en cuverie expérimentale est réalisée sur deux millésimes, dans des cuves thermorégulées de 2,5 hl remplies avec 200 kg de raisins frais, éraflés, de pinot noir. Selon le millésime, le sulfitage à l'encuvage est réduit (3,5 g/hl) ou nul. Trois lots homogènes sont constitués, dont deux ensemencés avec *Metschnikowia pulcherrima* à 25 g/hl (Gaïa_{MP98,3} et souche B sous forme de LSA), le lendemain de l'encuvage en cas de sulfitage ou pendant l'encuvage en l'absence de sulfitage. Après une phase pré-fermentaire de 5 jours à 15 °C, les trois lots sont levurés avec *Saccharomyces cerevisiae* à 20 g/hl (Lalvin Bourgorouge RC212®). La fermentation alcoolique est effectuée entre 20 et 30 °C. Après l'épuisement des sucres, une macération finale à chaud est réalisée (un jour à 35 °C et un à 40 °C), avant le décuvage. La durée totale de la macération est de 14 jours. La fermentation malolactique puis l'élevage sont réalisés dans un contenant inerte à une température de l'ordre de 15 °C pendant une durée de 10 mois.

Résultats

Influences des conditions physico-chimiques sur l'implantation de *Metschnikowia pulcherrima* dans un moût

Les différentes expérimentations ont été réalisées avec trois souches de *Metschnikowia pulcherrima* (Gaïa_{MP98,3}, B, C). Les résultats sont dans l'ensemble, très proches d'une souche à l'autre, ce qui justifie de ne présenter que les valeurs moyennes dans les figures suivantes (tableau 2). Cette similitude d'aptitudes œnologiques est largement liée au fait que les trois souches étudiées ont été isolées dans la même niche écologique, puis sélectionnées à partir d'une collection de plus de 500 souches de levures.

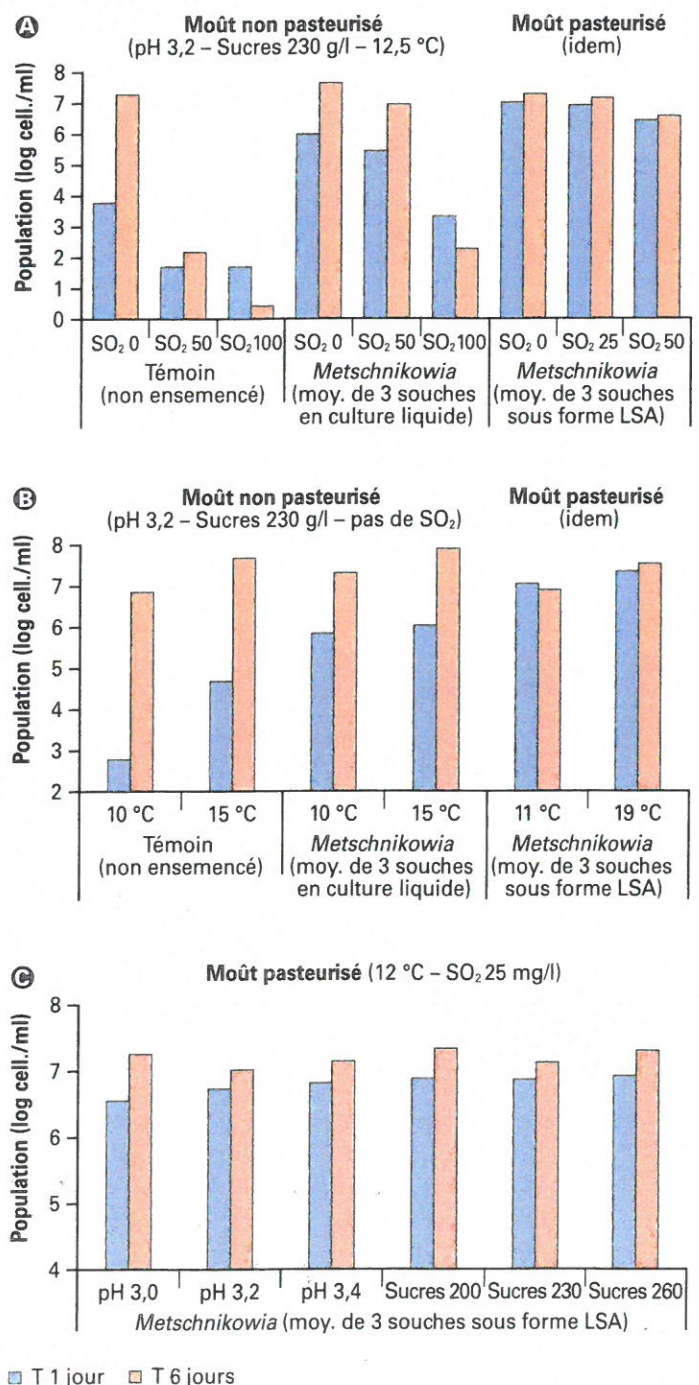
Influence du sulfitage (figure 1A)

Le moût, non pasteurisé, contient des levures qui se développent

rapidement en l'absence de sulfitage, malgré une température basse de 12,5 °C. Un sulfitage de 50 mg/l inhibe la croissance levurienne et un sulfitage de 100 mg/l réduit cette population. L'implantation d'une biomasse liquide des 3 souches sélectionnées de *Metschnikowia pulcherrima* est très bonne dans ce même moût, non sulfité. En 5 jours, la population augmente de plus

d'une puissance de dix pour dépasser 10⁷ cell./ml. Un sulfitage de 50 mg/l diminue légèrement le niveau de population initial, mais ne modifie pas ensuite la croissance levurienne. Un sulfitage de 100 mg/l réduit fortement la population levurienne et interdit sa croissance. L'étude réalisée avec les 3 sélections de *Metschnikowia pulcherrima* produites sous forme de LSA,

■ Figures 1 : Implantation de *Metschnikowia pulcherrima* dans un moût en fonction : A du niveau de sulfitage (en mg/l), B de la température, C du pH et de la teneur en sucres (g/l).



■ T 1 jour ■ T 6 jours

inoculées dans un moût pasteurisé, confirme la bonne implantation jusqu'à un sulfitage de 50 mg/l. Le niveau de population initial étant plus élevé qu'avec les cultures liquides, la croissance est ensuite faible pendant l'incubation. Ces résultats montrent aussi que la production de ces *Metschnikowia pulcherrima* sélectionnées sous forme de LSA est bien maîtrisée.

Influence de la température (figure 1B)

En l'absence de sulfitage et de pasteurisation, une population levurienne indigène se développe dans le lot témoin nonensemencé, même à la température de 10 °C. Les 3 levures *Metschnikowia pulcherrima* sélectionnées s'implantent pratiquement aussi bien à 10 °C qu'à 15 °C. La croissance est ensuite normalement influencée

par le niveau de température. Les résultats obtenus avec les mêmes levures produites sous forme de LSA confirment leur bonne aptitude à s'implanter à basse température, 11 °C, avec une population très proche de celle observée à 19 °C.

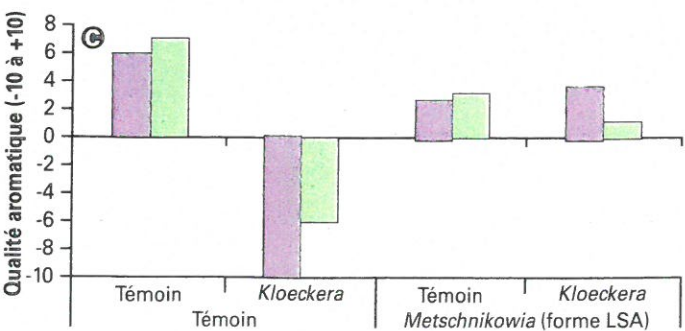
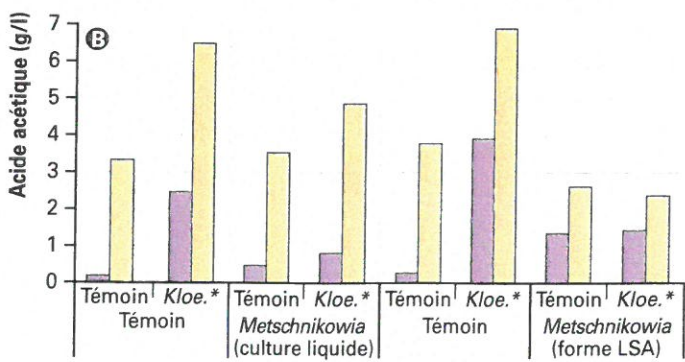
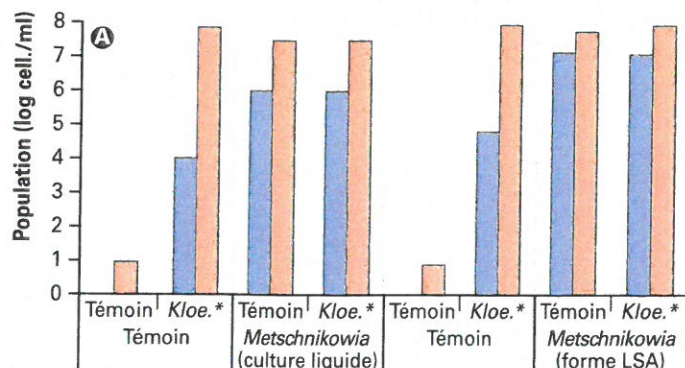
Influence du pH et de la teneur en sucres (figure 1C)

Le pH du moût influence peu l'implantation des 3 souches de *Metschnikowia pulcherrima* étudiées. À pH 3,0, le niveau de population initial est légèrement plus bas que pour les pH plus élevés. Mais la croissance est ensuite plus active et la population à six jours devient légèrement plus importante à pH 3,0 qu'aux pH supérieurs. La concentration en sucres du moût, entre 200 et 260 g/l, n'a pas d'effet notable sur les populations inoculées des *Metschnikowia pulcherrima* étudiées.

■ **Figures 2: A** Implantation de *Kloeckera apiculata* et de *Metschnikowia pulcherrima* dans un moût (Sucres 230 g/l, pH 3,20, pas de SO₂, 15 °C, pasteurisation) – Moyenne pour 3 souches par espèce (écart type moyen : 0,2).

■ **B** Production d'acide acétique par *Kloeckera apiculata* et *Metschnikowia pulcherrima* dans un moût (Sucres 230 g/l, pH 3,20, pas de SO₂, pasteurisation) – Moyenne pour 3 souches par espèce (écart type moyen : 0,05 g/l).

■ **C** Influence aromatique de *Kloeckera apiculata* et de *Metschnikowia pulcherrima* dans un moût (Sucres 230 g/l, pH 3,20, pas de SO₂, pasteurisation) – Moyenne pour 3 souches par espèce (écart type moyen : 2,8).



■ T 1 jour ■ T 6 jours ■ T 7 jours ■ T 14 jours ■ T 21 jours
* *Kloeckera*

Interactions entre *Metschnikowia pulcherrima* et *Kloeckera apiculata*

Le moût étant pasteurisé, aucun développement levurien n'est constaté dans le lot témoin nonensemencé (figure 2A). Les lotsensemencés uniquement avec *Kloeckera apiculata* confirment la remarquable aptitude de cette espèce à se développer dans un moût. À partir de cultures liquides, inoculée entre 10² et 10³ cell./ml, la population des trois souches de *Kloeckera apiculata* considérées est multipliée par 100 en 24 heures et approche 10⁸ cell./ml après six jours d'incubation à 15 °C. Les résultats obtenus avec les trois biomasses de *Metschnikowia pulcherrima*, en culture pure, confirment ceux des travaux précédents, avec une bonne implantation et une croissance pour atteindre 10⁷ à 10⁸ cell./ml, 6 jours après l'ensemencement. Les

LEVEL² SOLUTIONS

LEVULINE SYMBOSE™
FLAVIA™
BIODIVA™
LALVIN ICV TANDEM™

Passer au niveau supérieur

Explorer l'univers de la biodiversité des levures !

La grande variété de levures naturelles sélectionnées reflète la biodiversité de la microflore présente au cours de la fermentation alcoolique des vins. Cependant, cet univers est encore sous-exploité au regard du grand nombre d'espèces et de sous-espèces (autres que *Saccharomyces*) qui sont présentes dans la plupart des moûts de raisins. Au cours de la fermentation spontanée, l'activité microbienne engendre une succession d'activités enzymatiques qui contribuent sans aucun doute, positivement ou négativement, à la complexité aromatique et à la diversité des vins. Avec Level² Solutions, Lallemand innove en introduisant de nouvelles espèces et de nouveaux modes de gestion des fermentations alcooliques (inoculation séquentielle) maîtrisés et sécurisés qui ouvrent de nouveaux horizons aux vificateurs.

Lallemand SAS - BP 59 - 31702 Blagnac Cedex - France / Tel. + 33(0)5 62 74 55 55 / fax. + 33(0)5 62 74 55 00
Un monde de solutions naturelles pour valoriser vos vins / www.lallemandwine.com

LALLEMAND

niveaux de populations sont alors équivalents à ceux observés pour les cultures mixtes de *Metschnikowia pulcherrima* et de *Kloeckera apiculata*. À la fin de la phase pré-fermentaire de 5 jours à 15 °C, tous les lots sontensemencés en *Saccharomyces cerevisiae*. La température augmente progressivement jusqu'à 28 °C, pour la réalisation de la fermentation alcoolique.

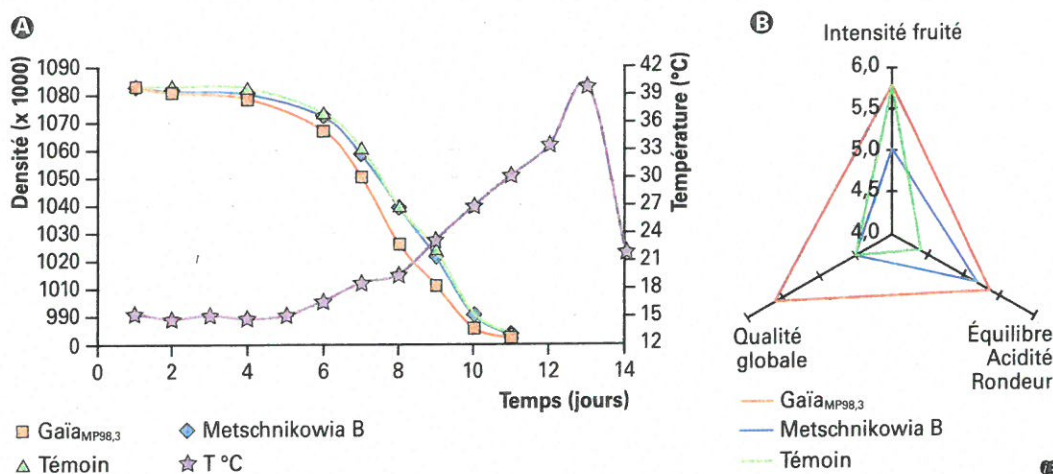
La production d'acide acétique dans les lots témoins, uniquementensemencés avec *Saccharomyces cerevisiae*, est de 0,3 à 0,4 g/l (figure 2B). Pour les lots contaminés avec *Kloeckera apiculata*, la production d'acide acétique s'élève entre 0,6 et 0,7 g/l. Lorsque cette contamination est

associée avec une inoculation en *Metschnikowia pulcherrima*, la production d'acide acétique reste limitée. Les résultats les plus probants sont obtenus avec lesensemencements de *Metschnikowia pulcherrima* sous forme de LSA, qui assurent la présence d'une population active élevée. En fin de fermentation alcoolique, le

niveau d'acide acétique est alors inférieur à 0,3 g/l.

L'activité de *Kloeckera apiculata* dégrade nettement la qualité aromatique, aussi bien avant qu'après la fermentation alcoolique, avec des notes piquées marquées (figure 2C). La production d'acétate d'éthyle est alors plus préjudiciable que la surproduction d'acide acétique. L'inoculation du moût avec *Metschnikowia pulcherrima* évite cet impact aromatique néfaste lié à la présence de *Kloeckera apiculata*.

■ Figures 3: A Évolutions de la fermentation alcoolique de lots de pinot noir vinifiés avec une phase pré-fermentaire à froid, avec ou sans *Metschnikowia pulcherrima*. B Évaluation sensorielle en fin d'élevage de lots de pinot noir vinifiés avec une phase pré-fermentaire à froid, avec ou sans *Metschnikowia pulcherrima*. Valeurs moyennes pour deux millésimes, cuves de 2,5 hl.



Application pratique de *Metschnikowia pulcherrima* en cuverie expérimentale sur pinot noir

L'inoculation précoce des levures *Metschnikowia pulcherrima* sélectionnées (parallèlement à l'encuvage ou le lendemain de l'encuvage) n'a pas d'incidence notable sur la réalisation de la fermentation alcoolique, déclenchée par un ensemencement décalé avec

Neurosciences & Vins

Comment notre perception du vin est influencée ?

Qu'est-ce qui détermine le « goût du vin » : le produit ou notre perception ?

L'arrivée des neurosciences dans l'univers du vin est un élément majeur; il permet de mieux comprendre le lien entre le produit vin – sous tous ses aspects: odeur, couleur, goût et texture – et la fabrication d'images cérébrales chez les consommateurs amateurs ou experts et leur influence sur la perception du vin. Autrement dit: **Qu'est-ce qui détermine le « goût du vin » ?** Est-ce les paramètres physiques du vin ou bien la perception que nous en avons? **Les travaux les plus récents convergent** vers la prise en compte de l'activation et de l'intégration d'informations sensorielles multimodales auxquelles sont soumis tous dégustateurs et comment leurs cerveaux anticipent

et confrontent leurs perceptions à ce qu'ils connaissent déjà. Les techniques de neuro-imagerie modernes révèlent les nombreux sites de processus multisensoriels présent dans le cerveau. Cette prise en compte récente de « l'organisation multisensorielle » du cerveau n'est pas sans conséquence sur la compréhension de la perception du vin!

Les répercussions techniques sont vastes. Comment faire le lien entre la perception du consommateur et les paramètres techniques du produit? Les neurosciences se présentent donc comme une nouvelle voie d'exploration de l'influence sur les paramètres du vin. Elles apportent un nouveau regard, une perspective différente.



Ce dossier Spécial de la Revue des Cœnologues rassemble pour la première fois et met à disposition du lecteur la somme des recherches et réflexions actuelles à l'échelle mondiale. Cet état de l'art international des dernières connaissances en neurosciences & sciences cognitives permet de mieux comprendre:

- les mécanismes de perception des odeurs, couleurs, goûts et textures des vins par les professionnels et les consommateurs;
- l'influence du contexte multisensoriel de consommation sur la

perception des vins: musique, émotion, prix, étiquette, forme...; – les répercussions techniques en viticulture, en œnologie et en marketing du vin;

Plus de 20 articles de synthèse: des experts internationaux se sont penchés sur le cas du vin et ouvrent de nouvelles perspectives.

Commande au numéro

24 € franco France – Voir bulletin en page 1 de la Revue.

Abonnement Revue des Cœnologues: 5 numéros par an pour 69 euros.

Saccharomyces cerevisiae (figure 3A). Les vendanges de pinot noir présentaient des teneurs en azote assimilable (ammoniacal et aminé) de 275 et 245 mg/l, pour chacun des millésimes considérés. Pour le second cas, un nutriment complexe a été ajouté au tiers de la fermentation alcoolique à la dose de 40 g/hl. Les analyses réalisées en fin d'élevage montrent un degré alcoolique similaire d'un lot à l'autre (tableau 3). L'inoculation avec les deux levures *Metschnikowia pulcherrima* étudiées n'a pas ou peu d'incidence sur la dégradation des sucres du moût. Les valeurs d'acidité totale et de pH sont également similaires. En revanche, la teneur en acide acétique est plus faible pour les lots inoculés avec *Metschnikowia pulcherrima*, soit 0,28 g/l pour la souche Gaïa_{MP98,3}, contre 0,40 g/l pour le lot témoin. Les deux expérimentations ont été dégustées en fin d'élevage par un jury d'expert, dans une salle d'analyse sensorielle, en utilisant le logiciel spécifique Fizz. Les résultats montrent que Gaïa_{MP98,3} présente les meilleurs résultats en termes d'intensité fruité, d'équilibre gustatif et de qualité d'ensemble (figure 3B).

Conclusions


L'intérêt d'utiliser une levure de *Metschnikowia pulcherrima* spécifiquement sélectionnée, dans le cadre de la vinification de vins rouges intégrant une macération pré-fermentaire à froid, est confirmé. Cette levure résiste à un niveau de sulfite de 50 mg/l en phase liquide. Dans le cas d'une cuvaison en rouge, il est vraisemblable que la présence de parties solides autorise un sulfite plus élevé. Dans ces conditions, la population vivante de *Metschnikowia pulcherrima* dépasse 10⁷ cell./ml en fin de macération pré-fermentaire à froid. Les résultats confirment que l'espèce *Kloeckera apiculata* a une remarquable aptitude à se multiplier dans le moût. Cette levure, parmi les majoritaires de

la flore du raisin, produit alors une quantité anormalement élevée d'acide acétique. En condition usuelle de macération pré-fermentaire à froid, cette levure d'altération, n'est pas ou peu maîtrisée, notamment lorsque le sulfite reste raisonnable. Les résultats montrent clairement que l'inoculation avec les levures *Metschnikowia pulcherrima* sélectionnées inhibe complètement l'activité de *Kloeckera apiculata*, vis-à-vis de la production d'acide acétique et d'acétate d'éthyle. Cette possibilité de biocontrôle ouvre la voie à une nouvelle façon de gérer la macération pré-fermentaire à froid en proposant une alternative naturelle au SO₂ sur l'aspect de la maîtrise de certains contaminants microbiens. L'application pratique en cuverie expérimentale confirme que l'inoculation avec cette sélection de *Metschnikowia pulcherrima* limite la présence d'acide acétique par rapport au lot témoin, non inoculé pour la phase pré-fermentaire. Il est également montré que la production de ces sélections de *Metschnikowia pulcherrima*, sous forme de levure sèche active, est aujourd'hui bien maîtrisée avec une viabilité et une reprise d'activité très bonnes dans un moût. Les trois souches de *Metschnikowia pulcherrima* retenues pour l'application œnologique donnent des résultats proches, avec un avantage pour l'une d'entre elle, Gaïa_{MP98,3}, qui tend à donner la meilleure expression sensorielle. L'utilisation de cette nouvelle sélection de *Metschnikowia pulcherrima* est un nouvel outil permettant de sécuriser une macération pré-fermentaire à froid et de mieux gérer le principal problème de cette technique qui est l'absence de maîtrise de la flore levurienne indigène, majoritairement défavorable à la qualité. ■

NDLR: Les références bibliographiques concernant cet article sont disponibles sur simple demande auprès de la Revue des Œnologues.

- Par courrier: joindre une enveloppe affranchie, avec les références de l'article
- Sur internet: www.oeno.tm.fr

WINE DEVELOPERS

by  Guala Closures Group



Wine Developers est une offre globale développée par Guala Closures Group pour les producteurs de vin: la plus large gamme de capsules à vis, des possibilités de décorations et de personnalisation inédites, une nouvelle gamme de joints avec une OTR contrôlée, un service local intégré à un network mondial et une approche éco-responsable.

ONYX
by cenoseal



IVORY
by cenoseal



CORAL
by cenoseal



Wine Developers offre la nouvelle gamme de joints ONYX, IVORY et CORAL by Cenoseal® développée en partenariat avec MGJ (Manufacture Générale de Joints), le leader mondial de la production de joints pour le marché du vin.

www.winedevelopers.com

cenoseal
winedevelopers

www.cenoseal.com

 **Guala Closures Group**

Leader mondial de capsules à vis pour le vin
www.gualaclosures.com - info@gualaclosures.com