

EXPRESSION OPTIMALE DU POTENTIEL AROMATIQUE DES VINS DE SAUVIGNON BLANC PAR LES SOUCHES DE LEVURES FERMICRU 4F9 ET COLLECTION CÉPAGE SAUVIGNON – INTÉRÊT DES MÉLANGES

PAR OLIVIER GEFFROY^{(1)*}, CÉLINE FAUVEAU⁽²⁾, THIERRY DUFOURCQ⁽³⁾, MORVAN COARER⁽⁴⁾, ALAIN POULARD⁽⁴⁾

(1) Institut Français de la Vigne et du Vin, pôle Sud-Ouest, V'innopôle - BP22, 81310 Lisle-sur-Tarn

(2) DSM Food Specialties France SAS, Parc Scientifique Agropolis II - 34397 Montpellier Cedex 5

(3) Institut Français de la Vigne et du Vin, pôle Sud-Ouest, Domaine de Mons - 32100 Caussens

(4) Institut Français de la Vigne et du Vin, pôle Val de Loire, Château de la Frémoire - 44120 Vertou

RÉSUMÉ : Un certain nombre de souches de levures de vinification, aujourd'hui commercialisées, ont été sélectionnées pour leur aptitude à exprimer des niveaux importants de thiols variétaux dans les vins. Parmi ces levures figurent les spécialités Fermicru 4F9 et Collection Cépage Sauvignon. Des essais réalisés sur ces deux souches en 2008 ont permis de caractériser de manière fiable et précise leurs productions de thiols, la souche Collection Cépage Sauvignon se présentant comme une souche "libératrice" de thiols variétaux, alors que Fermicru 4F9 comme une souche "convertisseuse". Les résultats de ces travaux ont ouvert la voie d'une utilisation en mélange. Des essais de co-inoculation et d'ensemencement séquentiel réalisés en 2009 ont montré que les vins élaborés avec les mélanges de levures bénéficiaient de toutes les caractéristiques combinées des vins élaborés à partir des souches séparées: quantité de thiols, taux de conversion en Ac3MH et teneur en esters supérieurs. La modalité ensemencement séquentiel est celle dont les teneurs en composés aromatiques sont les plus importantes. À la dégustation, les deux vins issus des mélanges sont préférés et jugés de manière proche.

Abstract: Some commercial winemaking yeast strains were selected for their important contribution to varietal thiol concentrations in wines. The specialty yeast Fermicru 4F9 and Collection Sauvignon belong to this category. In 2008, tests carried out on Sauvignon blanc with these two strains allowed to characterize in a reliable way their productions of thiols. The Collection Sauvignon yeast strain confirmed a great capacity to release varietal thiols and Fermicru 4F9, with a lesser releasing capacity, showed a great thiol converting activity. The results of this study lead in 2009, to experimenting with blends of both strains. 2 modalities were tested: co-inoculation and sequential addition of the two yeast strains. As a result, the wines resulting from both modalities combined the positive attributes of the wines produced with each individual strain: quantity of thiols, conversion rate into Ac3MH and higher esters content. Analytically, the wine produced by sequential yeast addition showed greater aromatic compounds concentration. In sensory analysis, both wines resulting from the yeast blends are preferred to unique strain wines and judged similar.

INTRODUCTION

Depuis leur mise en évidence dans des vins de sauvignon blanc par les équipes de la faculté d'œnologie de Bordeaux (Tominaga, 1998), les thiols variétaux ont fait l'objet de nombreuses recherches. Quatre thiols variétaux sont actuellement connus dans le vin, la 4-méthyl-4-mercaptopentane-2-one (4MMP), le 4-méthyl-4-sulfanyl-pentane-2-ol (4MMPOH), le 3-mercaptohexanol (3MH) et le 3-mercaptohexyl acétate (Ac3MH). Les avancées de la recherche

dans les techniques d'analyses fines (Tominaga et Murat, 1998 ; Scheider et Kotseridis, 2003), et la multiplication des dosages ont permis de mettre en évidence la présence de thiols dans de nombreux cépages blancs et rouges. Par exemple, ces composés constituent la base aromatique typique des colombar et de gros manseng, vins produits dans les Côtes de Gascogne (Dagan 2006). Dans des vins élaborés à partir d'autres variétés comme le melon, le sémillon, le muscat, le riesling - la liste est longue et concerne également quelques cépages rouges comme le merlot (Murat et Tominaga, 2001), la syrah ou le grenache (Segurel, 2005) mais aussi la négrette (Serrano, 2006) et le malbec (Davaux, 2008). Dans les vins du sud-ouest de la France, leur présence a été identifiée et ces composés contribuent à la complexité de l'arôme. La teneur relevée étant bien souvent supérieure au seuil de perception. Ces molécules dérivent de S-conjugués à la cystéine identifiés à ce jour dans la baie de raisin : le Cys-4MMP et Cys-3MH (Tominaga et al., 1998). Un conjugué du 3MH au glutathion a aussi été identifié récemment dans des moûts de sauvignon blanc comme précurseur direct de ce thiol variétal (Roland, 2010).

Les facteurs viticoles (nutrition hydro-azotée, état sanitaire, etc.) et les techniques œnologiques (macération pelliculaire, stabulation sur bourbes, etc.) influençant la teneur en thiols dans les vins sont de mieux en mieux identifiés (Dufourcq et al., 2008 ; Masson, 2009). En revanche, la conversion des précurseurs en thiols pendant la fermentation alcoolique reste une zone d'étude privilégiée : seulement un très faible pourcentage de la quantité de précurseurs initialement dosés dans le moût est retrouvé sous forme de thiols odorants dans le vin (Tominaga, 1998). Il existe donc un enjeu majeur à maîtriser cette phase. Il est maintenant admis que la conversion de ces précurseurs est dépendante de la levure et que certaines souches présentent de meilleures capacités à libérer ces thiols que d'autres (Murat et Masneuf, 2001). Il a également été démontré que le métabolisme d'assimilation des précurseurs est en relation avec le métabolisme d'assimilation des formes d'azotes du moût par la levure (Subileau, 2008), et que la production de thiols est sous la dépendance des conditions de fermentation (Dufourcq et Geffroy, 2008). Un certain nombre de souches aujourd'hui commercialisées ont été sélectionnées pour leur aptitude à exprimer des niveaux importants de thiols variétaux. Parmi ces levures, figurent les spécialités Fermicru 4F9 et Collection Cépage Sauvignon, souches sélectionnées par l'IFV Val de Loire, unité de Nantes, il y a quelques années. Cette étude réalisée en 2008 et 2009 par l'IFV Sud-Ouest et l'IFV Val de Loire, en partenariat avec l'équipe d'Oenobrand (anciennement DSM Food Specialties) et son distributeur La Littorale, a permis de mieux caractériser la production de thiols de ces deux levures. Les résultats de ces travaux ouvrent la voie d'une utilisation en mélange.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1 PRÉSENTATION RAPIDE DES SOUCHES ÉTUDIÉES



La spécialité Fermicru® 4F9 a été sélectionnée par l'équipe d'Oenobrand (anciennement DSM Food Specialties) et l'IFV Val de Loire, unité de Nantes en 2001 dans le Pays Nantais sur cépage melon. Elle a été commercialisée pour la première fois en 2004. Il s'agit d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae var. bayanus* au phénotype killer. Elle possède un temps de latence court et une très bonne cinétique fermentaire.



La spécialité Collection Cépage Sauvignon provient des mêmes sélectionneurs et a été isolée sur cépage melon. Elle a été commercialisée pour la première fois en 2006. Il s'agit d'une souche de *Saccharomyces cerevisiae var. cerevisiae* au phénotype killer.

1.2 PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

En 2008, les raisins de sauvignon blanc ont été prélevés sur une parcelle enherbée, plantée à 4 500 pieds par hectare, conduite en cordon de Royat et équilibrée au rendement naturel de 7,6 T/ha située en AOP Gaillac. En 2009, l'étude sur l'utilisation des souches en mélange a été réalisée sur des raisins provenant d'une parcelle voisine enherbée et travaillée un inter-rang sur deux. Les rendements 2009 sont supérieurs et se situent autour de 10 T/ha. Afin de disposer d'une matière première riche en précurseurs de thiols variétaux, chaque année, une pulvérisation d'azote foliaire de 20 kg/ha a été pratiquée en deux fois, en encadrement de la véraison. Le millésime 2009, moins propice que 2008 à l'obtention de vins riches en thiols variétaux, se caractérise dans le Sud-Ouest par de faibles pluviométries estivales et des températures élevées en juillet et en août.

En 2008, 12 lots de vendanges homogènes de 65 kg ont été constitués. En 2009, l'homogénéisation s'est faite sur moût afin d'obtenir 4 lots de 30 litres. En 2008 et 2009, après une phase de macération pelliculaire de 6 heures à la température de 18° C, les moûts ont été enzymés 2 g/hl et placés à 0° C pendant 72 heures avant d'être débouffés.

En 2008, après réchauffement et ajustement de la turbidité à 150 NTU, la moitié des lots a été ensemencée à 20g/hl avec la spécialité Fermicru 4F9, et l'autre moitié avec Collection Cépage Sauvignon.

En 2009, les essais de mélange décrits ci-dessous ont été pratiqués sur les moûts à la turbidité voisine de 150 NTU :

(Les abréviations figurant entre parenthèse seront utilisées par la suite pour décrire les modalités)

1. Fermicru 4F9 à 20 g/hl (4F9)
2. Collection Cépage Sauvignon à 20 g/hl (CCS)
3. Collection Cépage Sauvignon à 10 g/hl + Fermicru 4F9 à 10 g/hl en co-inoculation (CCS + 4F9)
4. Collection Cépage Sauvignon à 15 g/hl puis 48 heures plus tard Fermicru 4F9 à 10 g/hl en ensemencement séquentiel (CCS puis 4F9)

La fermentation alcoolique a été conduite à 18° C sans ajout de complément azoté. La masse volumique des cuves en fermentation est relevée quotidiennement le matin, à heure fixe. Sur les modalités "souches séparées", en 2008 et 2009, un seul contrôle d'implantation a été réalisé à une densité voisine de 1030. Sur les modalités mélanges, un suivi de la population levurienne à J1, J3 et J5 a été pratiqué. Lorsque la fermentation est achevée ([glucose + fructose] < 0,4 g/l), les vins sont placés à 0° C pendant 3 jours. Après soutirage, ils ont été sulfités à 5 g/hl. Des analyses de thiols variétaux ont été réalisées par le laboratoire SARCO à Bordeaux (2008) et par le LAEE de l'université de Saragosse (2009), juste après la mise en bouteilles en janvier 2008 et décembre 2009.

Ces dosages de thiols variétaux concernent :

- > le 3-MercaptoHexan-1-ol ou 3MH aux arômes de pamplemousse, au seuil de perception de 60 ng/l
- > l'acétate de 3-MercaptoHexyle ou Ac3MH aux arômes de fruits tropicaux et de buis produit par la levure par estérification du 3MH, plus odorant que le 3MH au seuil de perception de 4 ng/l. La production d'Ac3MH dépend du métabolisme de la levure et de sa capacité à estérifier le 3MH.
- > la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one ou 4MMP aux arômes de buis, au seuil de perception de 0,8 ng/l.

En 2009, des dosages d'alcools supérieurs et d'esters ont été également réalisés en complément par le LAEE de l'université de Saragosse.

Les vins ont été dégustés par les jurys d'experts entraînés à la dégustation des thiols de l'IFV Sud-Ouest le 27 février 2009 et du Gers le 22 avril 2010.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

2.1 CARACTÉRISATION DE LA PRODUCTION DE THIOLS VARIÉTAUX PAR LES DEUX SOUCHES (2008)

2.1.1 CARACTÉRISTIQUES ANALYTIQUES DES MOÛTS

Les analyses classiques réalisées sur moûts (Tableau 1) font apparaître une maturité adaptée à la production d'un vin blanc de sauvignon frais et aromatique. L'homogénéité des lots est confirmée, aucune différence significative n'étant observée sur les paramètres suivis.

Modalité	Degré potentiel [% Vol]	Sucres [g/l]	AC Totale [g/l H2SO4]	pH	Malique [g/l]	Tartrique [g/l]	IPT	Azote ammoniacal + aminé [mg/l]
Fermicru 4F9	11,38	191,6	4,22	3,34	3,80	2,49	6,1	311
Collection Cépage Sauvignon	11,58	194,9	4,07	3,33	3,89	2,44	6,1	304

Tableau 1 : Caractéristiques analytiques des moûts de sauvignon (moyenne de 6 répétitions) ; millésime 2008

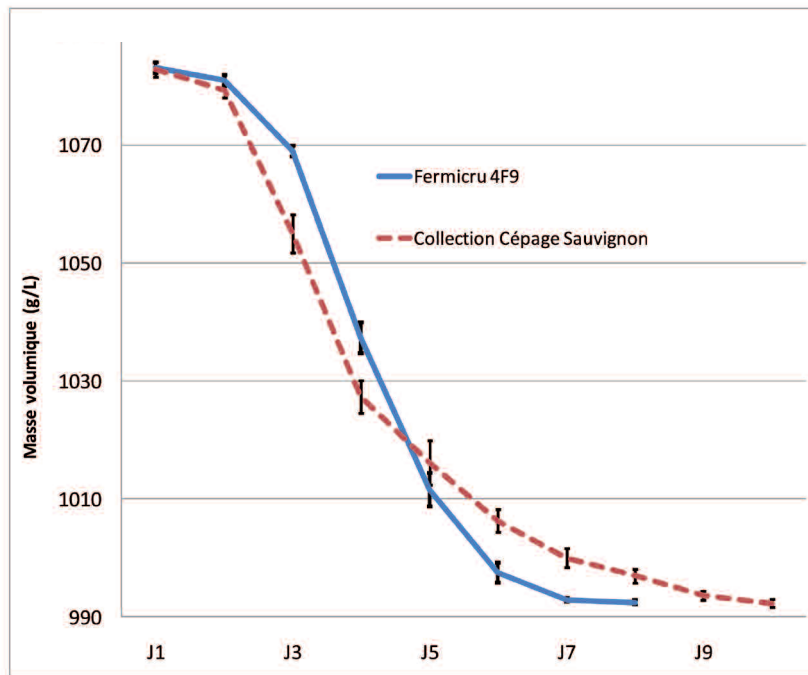


Figure 1 : Suivi quotidien de la masse volumique (g/l). Moyenne de 6 répétitions – intervalle de confiance de 5 %

2.1.2 IMPLANTATIONS DES SOUCHES ET CINÉTIQUES FERMENTAIRES

Les contrôles mettent en évidence la réussite de toutes les implantations. Le déroulement de la fermentation alcoolique pour les deux souches est rapide (8 à 10 jours) et s'explique par la teneur élevée des moûts en azote (> 300mg/l). Les cinétiques fermentaires observées sont identiques pour toutes les répétitions d'une même série, et mettent en évidence une meilleure aptitude fermentaire globale pour la souche Femicru 4F9, qui achève la fermentation en 48 heures de moins que la souche Collection Cépage Sauvignon. Cette dernière présente cependant une phase de latence initiale plus courte et un démarrage en fermentation plus rapide.

Cependant, ce comportement fermentaire, dû à la grande richesse en azote des moûts, est atypique de la souche. En effet, en conditions plus standard, pour des concentrations en azote plus faibles et des moûts non amendés, cette souche présente des cinétiques fermentaires beaucoup moins rapides.

Afin d'obtenir la meilleure expression aromatique du moût et une bonne cinétique fermentaire, il est important de respecter, non seulement les recommandations de réhydratation et d'éviter les chocs thermiques ; mais aussi de veiller à ce que le milieu de fermentation soit riche en azote assimilable.

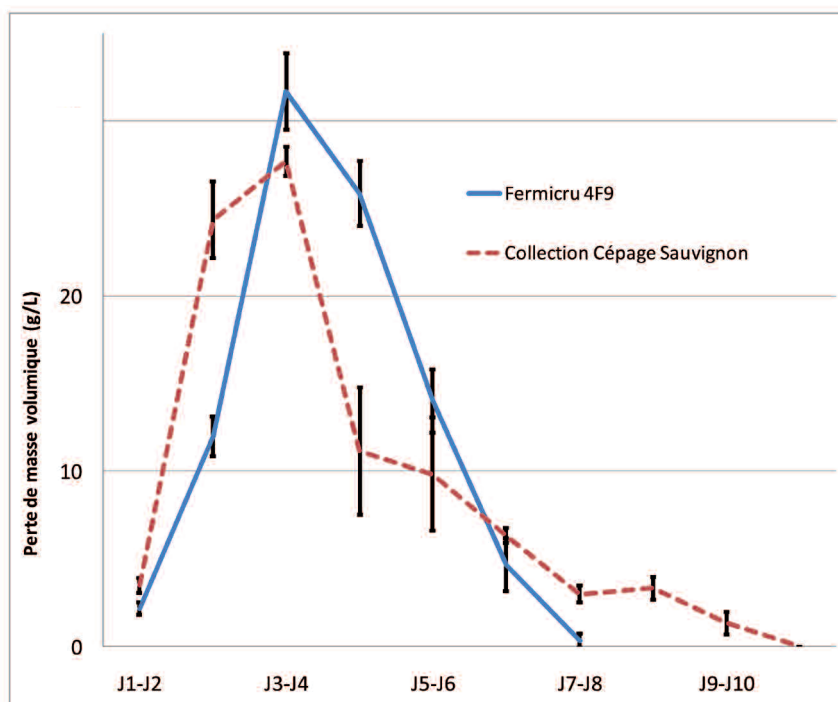


Figure 2 : Vitesse de fermentation (perte de masse volumique g/l/jour). Moyenne de 6 répétitions – intervalle de confiance de 5 %

Modalité	Degré [% Vol]	AC Totale [g/l H2SO4]*	pH	Maliq ue [g/l]	Tartriqu e [g/l]	AV [g/l]*	SO2 Libre [mg/l]	SO2 Total [mg/l]*	IPT
Fermicru 4F9	11,60	4,12 _b	3,13	2,79	2,81	0,14 _b	25	71 _a	4,7
Collection Cépage Sauvignon	11,71	4,28 _a	3,14	2,91	2,91	0,40 _a	27	61 _b	4,8

Tableau 2 : Caractéristiques analytiques des vins en bouteille. Moyenne de 6 répétitions - Analyse de variance* : significativité au seuil de 5 %, test de comparaison des moyennes de Newman&Keuls

Modalité	3MH [ng/l]	ac3MH [ng/l] *	Somme des thiols [nmol/l]	%Ac3MH / somme des thiols
Fermicru 4F9	831	303 _a	8,2	21,5% _a
Collection Cépage Sauvignon	1292	92 _b	10,2	5,5% _b

Tableau 3 : Production de thiols variétaux par les deux souches étudiées. Moyenne de 6 répétitions - Analyse de variance* : significativité au seuil de 5 %, test de comparaison des moyennes de Newman&Keuls

2.1.3 CARACTÉRISTIQUES ANALYTIQUES DES VINS

Le traitement statistique permet de mettre en évidence des différences significatives sur les caractéristiques analytiques des vins fermentés avec les souches Fermicru 4F9 et Collection Cépage Sauvignon pour les paramètres suivants : acidité volatile (AV), acidité totale et SO₂ total (Tableau 2). Ceci peut laisser supposer une production plus importante de molécules combinant le SO₂ de type aldéhyde ou cétone pour Fermicru 4F9. Cette dernière hypothèse a été confirmée lors de dosages d'acétaldéhyde réalisés en 2009 (+35 % pour Fermicru 4F9). La teneur en acide malique étant identique pour les deux souches, la différence d'acidité totale entre les deux modalités est principalement imputable à la production supérieure d'acidité volatile par la souche Collection Cépage Sauvignon.

2.1.4 PRODUCTION DE THIOLS VARIÉTAUX PAR LES DEUX SOUCHES

La 4MMP n'est retrouvée dans aucun des échantillons analysés. Les niveaux de thiols retrouvés dans les vins d'essai (autour de 10 nmoles/l) les placent dans un bon niveau aromatique par rapport à la région de production (Tableau 3). Des différences significatives sont observées entre les deux souches

sur la production d'Ac3MH et sur leur taux de conversion. La souche Fermicru 4F9 permet ainsi une production significativement plus importante d'Ac3MH par rapport à la souche Collection Cépage Sauvignon (+229 %).

La spécialité Collection Cépage Sauvignon libère en tendance plus de thiols variétaux.

En revanche, il est important de rappeler que l'acétate de 3MH étant 15 fois plus odorant que le 3MH, les vins élaborés à l'aide de la souche Fermicru 4F9, malgré une libération globale de thiols légèrement inférieure à la Collection Cépage Sauvignon, seraient ainsi plus aromatiques.

2.1.5 DÉGUSTATION DES VINS

La dégustation confirme les résultats des dosages de thiols variétaux (Figure 3). Les vins fermentés par la souche Fermicru 4F9 sont jugés significativement plus aromatiques en bouche et au nez que les vins de la série Collection Cépage Sauvignon. Alors que la perception "thiol" est sensiblement équivalente pour les deux souches, les vins de la série Fermicru 4F9 se distinguent par des notes fermentaires supérieures. Aucune différence n'apparaît sur les autres paramètres.

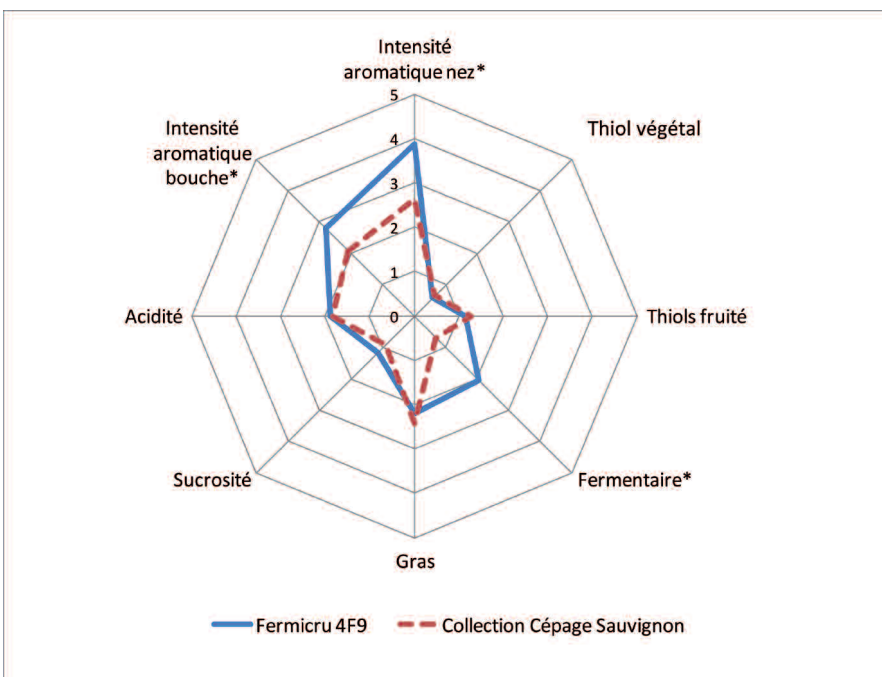


Figure 3 : Résultat de la dégustation - Moyenne des notes sur 5 de 6 répétitions - Analyse de variance* : significativité au seuil de 5%, test de comparaison des moyennes de Newman&Keuls.

Thiol végétal = buis, pipi de chat, asperge, genêt, rhubarbe, tomates, aillés, feuille de cassis

Thiol fruité = pamplemousse, citron, mangue, fruit de la passion

Fermentaire = poire, banane, pomme verte, fraise.

Modalité	Degré potentiel [% Vol]	Sucres [g/l]	AC Totale [g/l H ₂ SO ₄]	pH	Malique [g/l]	Tartrique [g/l]	Azote ammoniacal + aminé [mg/l]
4F9	12,5	210,4	4,53	3,35	3,93	3,03	242
CCS	12,5	210,4	4,47	3,31	3,91	2,99	249
CCS+4F9	12,5	210,4	4,39	3,31	3,89	2,95	224
CCS puis 4F9	12,5	210,4	4,33	3,3	3,90	2,92	246

Tableau 4 : Caractéristiques analytiques des moûts

2.1.6 POSITIONNEMENT DES SOUCHES

Cette étude sur la production de thiols variétaux par ces 2 souches permet de mettre en évidence 2 comportements bien distincts et complémentaires. La spécialité Collection Cépage Sauvignon s'apparente à une souche "libératrice" de thiols (production de 3MH à partir de ses précurseurs dans le raisin), alors que Fermicru 4F9 peut être décrite comme une souche "convertisseuse" (production d'Ac3MH à partir du 3MH).

Les deux souches de levures testées permettent de produire des vins aux profils aromatiques différents, la souche Fermicru 4F9 se distinguant par la production d'arômes fermentaires. Cette souche permet globalement d'obtenir des vins plus aromatiques au profil intermédiaire thiol/fermentaire, alors que les vins fermentés par la souche Collection Cépage Sauvignon sont à dominante "thiol". Le comportement complémentaire de ces souches nous a incités à les utiliser en mélange, en les associant au cours d'une même fermentation alcoolique. L'objectif est d'avoir, dans un premier temps, une libération importante de 3MH par la souche Collection Cépage Sauvignon et, dans un deuxième temps, une estérification du 3MH formé en ac3MH par Fermicru 4F9. Le résultat attendu est un vin à la fois plus riche en thiols variétaux et en composés fermentaires que ceux élaborés avec les souches utilisées séparément.

2.2 UTILISATION DES SOUCHES EN MÉLANGE (2009)

2.2.1 CARACTÉRISTIQUES ANALYTIQUES DES MOÛTS

Les analyses pratiquées sur les moûts font apparaître une belle maturité associant un degré potentiel élevé et une acidité bien

présente. Le moût contient une teneur en azote très satisfaisante. Les lots constitués sont homogènes (Tableau 4).

2.2.2 IMPLANTATION DES SOUCHES ET CINÉTIQUES FERMENTAIRES

Les contrôles réalisés sur les modalités "souche unique" mettent en évidence la réussite de toutes les implantations. En revanche, sur les modalités de mélange, seule la souche Collection Cépage® Sauvignon a pu être retrouvée à J1, J3 et J5. Ceci ne signifie pas pour autant que la souche Fermicru 4F9 ne se soit pas implantée, mais qu'au moment des prélèvements, elle n'a jamais représenté plus de 20 % de la biomasse levurienne totale. Les résultats présentés plus loin sur les caractéristiques analytiques (Tableau 5) et aromatiques (Tableau 7) des vins tendent cependant à montrer une expression non négligeable de la souche 4F9.

Des travaux récents (Swieger *et al.*, 2007) sur l'utilisation en mélange de deux souches ont montré que, même si l'une des deux souches s'était peu implantée (moins de 10 % de la population levurienne), elle pouvait influencer les caractéristiques analytiques et organoleptiques des vins produits de manière significative.

L'observation des cinétiques de fermentation (Figures 4 et 5) permet de mettre en évidence, comme en 2008, une meilleure aptitude fermentaire pour la souche Fermicru 4F9 par rapport à Collection Cépage Sauvignon, cette dernière se caractérisant par une phase de latence importante de près de 4 jours. Les modalités "mélange" possèdent un comportement intermédiaire, marqué par une phase de latence rallongée par rapport à la modalité 4F9, et un achèvement des sucres plus rapide que la souche Collection Cépage Sauvignon.

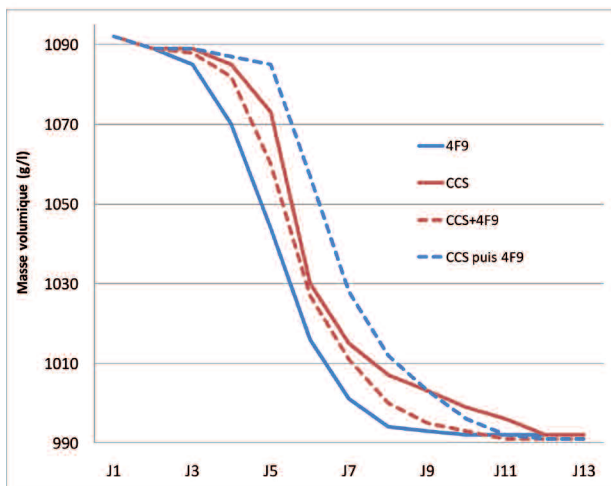


Figure 4 : Suivi quotidien de la densité

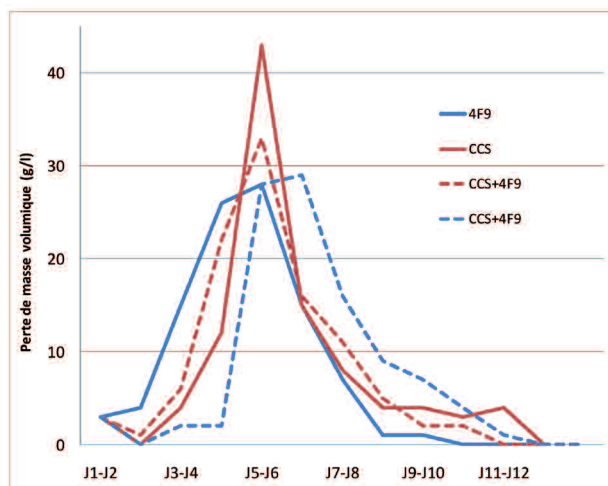


Figure 5 : Vitesse moyenne de fermentation (Perte de masse volumique g/l/jour)

Modalité	Degré [% Vol]	AC Totale [g/l H2SO4]	pH	Maliq ue [g/l]	Tartrique [g/l]	AV [g/l]	SO2 Libre [mg/l]	SO2 Total [mg/l]
4F9	12,70	4,57	3,29	3,75	2,38	0,21	30	73
CCS	12,71	4,72	3,25	3,74	2,29	0,40	31	63
CCS+4F9	12,58	4,55	3,29	3,74	2,31	0,18	29	101
CCS puis 4F9	12,49	4,49	3,27	3,68	2,12	0,22	31	82

Tableau 4 : Caractéristiques analytiques des vins en bouteille

2.3. CARACTÉRISTIQUES ANALYTIQUES DES VINS

Les analyses réalisées sur les vins en bouteilles confirment une production d'acidité volatile et une acidité totale supérieures pour la souche Collection Cépage Sauvignon.

Il est intéressant de signaler que les modalités "mélange", malgré le fait que la souche 4F9 n'ait pas été retrouvée lors des contrôles d'implantation, ont un comportement proche de celui de la souche Fermicru 4F9, de par une plus faible production d'acidité volatile. Les rendements alcooliques semblent légèrement plus faibles et les vins issus des mélanges présentent une teneur en SO₂ supérieure. La concurrence exercée entre les deux souches oriente le fonctionnement de la levure vers la production de métabolites secondaires et pourrait légèrement stimuler la production de SO₂. Les teneurs en acétaldéhyde sont sensiblement identiques pour les 3 modalités 4F9, CCS+4F9 et CCS puis 4F9.

2.4. PRODUCTION DE THIOLS VARIÉTAUX

Les résultats des dosages de thiols variétaux (Tableau 6 et Figure 5) confirment les résultats précédents, à savoir une production de thiols (en nmoles/l) supérieure pour la souche Collection Cépage® Sauvignon, et un taux de conversion du 3MH plus important pour Fermicru 4F9. Les modalités "mélanges" possèdent une teneur en thiols sensiblement équivalente à la modalité CCS, mais leur taux de conversion est supérieur, voisin de celui de la 4F9. L'effet "convertisseur", signe de l'expression de la 4F9 sur la production de thiols variétaux, est supérieur dans le cas de la modalité ensemencement séquentiel (CCS puis 4F9).

2.5. PRODUCTION D'ESTERS ET DE COMPOSÉS FERMENTAIRES

De nombreux composés d'origine fermentaire ont été dosés au cours de cette étude. Les plus odorants, retrouvés en quantité importante, sont l'acétate d'isoamyle (arôme de banane, de bonbon anglais), l'acétate de phényl-éthyl (arômes de rose fraîche), l'hexanoate d'éthyle (arômes fruités, pomme verte) et l'octanoate d'éthyle (arômes fruités, ananas).

Ces analyses mettent en évidence (Tableau 7 et Figure 6), la production supérieure d'esters et de composés fermentaires par la souche Fermicru 4F9. Les modalités "mélange" présentent des teneurs en esters élevées sensiblement équivalentes à celles produites par Fermicru 4F9. Pour les esters comme pour les thiols, l'ensemencement séquentiel donnant de meilleurs résultats.

2.6. DÉGUSTATION DES VINS

À la dégustation, les modalités "mélange" sont préférées pour leur profil aromatique : intensité au nez, caractère "thiol végétal" et "thiol fruité". L'utilisation des souches en mélange semble apporter véritablement une plus-value par rapport aux vins élaborés à partir des souches séparées. Ces différences perçues à la dégustation entre les modalités confirment les différences analytiques déjà observées (Figure 7).

Les modalités « CCS + 4F9 » et « CCS puis 4F9 » sont notées de manière proche, et ce sur presque tous les critères même si "CCS+4F9" semble présenter un profil plus "thiol fruité" que "CCS puis 4F9", qui est décrite sur le caractère "thiol végétal". Les vins issus de la co-inoculation présentent également un profil aromatique plus complet avec des notes fermentaires supérieures.

Modalité	3MH [ng/l]	ac3MH [ng/l]	Somme des thiols [nmol/l]	%Ac3MH / somme des thiols
4F9	760	362	7,7	27%
CCS	1322	323	11,7	16%
CCS+4F9	1148	346	10,5	19%
CCS puis 4F9	1218	592	12,5	27%

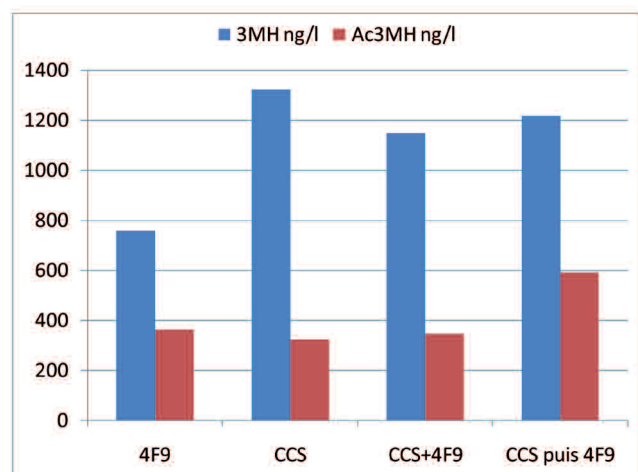


Tableau 6 et Figure 6 : Production de thiols variétaux par les souches utilisées séparément ou en mélange.

Modalité	acétate d'isoamyle [mg/l]	acétate de phényl-éthyl [mg/l]	hexanoate d'éthyle [mg/l]	octanoate d'éthyle [mg/l]
4F9	2,56	3,23	0,38	0,18
CCS	0,82	0,98	0,22	0,18
CCS+4F9	1,99	2,85	0,33	0,23
CCS puis 4F9	2,05	3,48	0,41	0,33

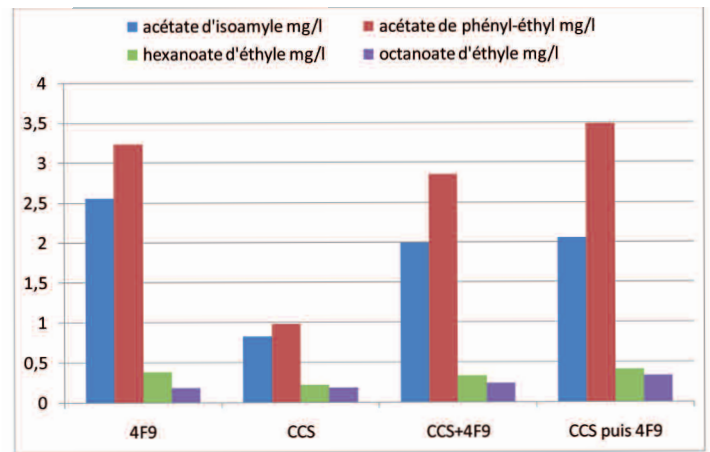


Tableau 7 et Figure 7 : Production d'esters par les souches utilisées séparément ou en mélange

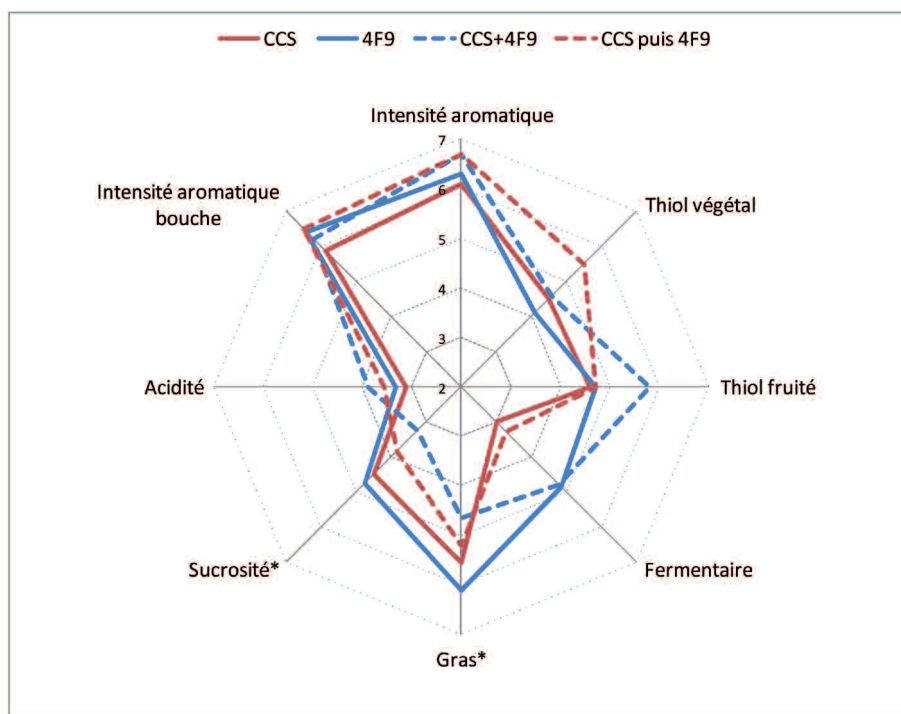


Figure 8 : : Résultat de la dégustation - Moyenne des notes sur 10 - Analyse de variance* :
 significativité au seuil de 5%, test de comparaison des moyennes de Newman&Keuls
 Thiols = buis, pipi de chat, pamplemousse, citron, mangue, fruit de la passion
 Fermentaire = poire, banane, pomme verte, fraise

CONCLUSIONS

Ces essais ont permis de caractériser de manière fiable et précise la production de thiols par les souches Fermicru 4F9 et Collection Cépage Sauvignon. La souche Collection Cépage Sauvignon se présente comme une souche "libératrice" de thiols variétaux, alors que Fermicru 4F9 comme une souche "convertisseuse".

En ce qui concerne l'utilisation des souches en mélange, il est montré un impact sur les caractéristiques analytiques (acidité volatile) et aromatiques (taux de conversion du 3MH en ac3MH, production d'esters et acétates) des vins. Même si la souche Fermicru 4F9 n'est pas détectée par la technique PCR, les résultats analytiques laissent supposer la présence d'une population minoritaire. Des vérifications plus fines de son implantation pourront être réalisées, en isolant au hasard et en identifiant par PCR Delta¹, une trentaine de colonies après étalement sur milieu YPD².

Les vins élaborés avec les mélanges de levures bénéficient de toutes les caractéristiques combinées des vins élaborés à partir des souches séparées : quantité de thiols, taux de conversion en ac3MH et teneur en esters supérieurs. La modalité ensemencement séquentiel est celle dont les teneurs en composés aromatiques sont les plus importantes. À la dégustation, les deux vins issus des mélanges sont préférés et jugés de manière proche.

¹PCR delta = Technique basée sur l'amplification par PCR (polymérase chain reaction) des régions du génome situées entre les éléments delta.

Portions d'ADN dispersées en nombre variable selon la souche de levure. Seule *Saccharomyces cerevisiae* possède ces éléments delta, et c'est pourquoi cette technique n'est appliquée qu'à cette espèce levurienne.

²YPD = Yeast Peptone Dextrose. Milieu de culture complet adapté à la croissance des levures

Modalité	Capacité globale à produire des thiols	Capacité à libérer le 3MH	Capacité à produire de l'Ac3MH	Intensité aromatique « thiol »	Gamme aromatique
CC Sauvignon	++	++	+	+	Thiol fruité (3MH)
Fermicru 4F9	+	+	++	++	Thiol végétal (ac3MH) Fermentaire

Grille interprétative des différences observées par levure sur la production de thiols

+ : bonne aptitude

++ : excellente aptitude

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

L. Dagan, 2006.

Potentiel aromatique des raisins de Vitis Vinifera L. cv. Petit Manseng et Gros Manseng. Contribution à l'arôme des vins de pays Côtes de Gascogne.

Thèse de doctorat. Laboratoire Transformations Intégrées UMR Sciences pour l'Œnologie - INRA Montpellier 225p.

F. Davaux, 2008.

Vins rosés de Midi-Pyrénées : des thiols dans les rosés de Malbec.

La Grappe d'Autan n°70, bulletin d'information de l'IFV Sud-Ouest. p 5.

T. Dufourcq, O. Geffroy, 2008.

Conditions de fermentation et expression des thiols variétaux dans les vins.

Journée technique régionale de l'IFV Sud-Ouest. 45-47.

T. Dufourcq, F. Bonneau, A. Desprats, E. Serrano, 2008.

Contribution des facteurs viticoles et œnologiques au potentiel aromatique des vins blancs de Colombar en Gascogne.

VII^{ème} Congrès International des terroirs viticoles, Changins (Suisse) p 530-535.

G. Masson, 2009.

Le vin rosé. Clarification du moût et valorisation des bourbes – la macération des bourbes.

Édition Feret. p 174-175.

M.-L. Murat, T. Tominaga, 2001.

Assessing the Aromatic Potential of Cabernet Sauvignon and Merlot musts used to produce rosé wine by assaying the cysteinylated precursor of 3-Mercaptohexanol-1-ol.

Journal of agricultural and food chemistry 49 (11) : 5412-5417.

M.-L. Murat, I. Masneuf, 2001.

Effect of Saccharomyces cerevisiae yeast strains on the liberation of volatile thiols in Sauvignon Blanc wine.

American Journal of Enology and Viticulture. 52 (2) : 136-139.

A. Roland, 2010.

Identification and quantification by LC-MS/MS of a new precursor of 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) using stable isotope dilution assay: Elements for understanding the 3MH production in wine.

Food Chemistry. Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com depuis le 7 janvier 2010.

R. Schneider, Y. Kotseridis et al., 2003.

Quantitative determination of sulfur-containing wine odorants at sub parts per billion levels. 2. Development and application of a stable isotope dilution assay.

Journal of agricultural and food chemistry 51 : 3243-3248.

M. Segurel, 2005.

Contribution des précurseurs glycosidiques et du sulfure de diméthyle des baies de Vitis vinifera L. cv. Grenache noir et Syrah à l'arôme des vins de la vallée du Rhône.

Thèse de doctorat. Laboratoire Transformations Intégrées UMR Sciences pour l'Œnologie - INRA Montpellier.

E. Serrano, 2006.

Des thiols découverts dans les rosés de Négrette.

La Grappe d'Autan n°61, bulletin d'information de l'IFV Sud-Ouest. p 3.

M. Subileau, 2006.

Parameters influencing varietal thiols release by strains of Saccharomyces cerevisiae : from a controlled synthetic medium to the complexity of Sauvignon blanc must.

Thèse de Doctorat. Supagro Montpellier.

H. Swiegers, E. King, B. Travis, L. Francis, S. Pretorius, 2007.

Enhancement of Sauvignon blanc wine aroma through yeast combinations.

www.wynboer.co.za

T. Tominaga, M.-L. Murat et al., 1998.

Development of a method for analysing the volatile thiols involved in the characteristic aroma of wines made from Vitis vinifera L. Cv Sauvignon Blanc.

Journal of agricultural and food chemistry 46 : 1044-1048.

T. Tominaga, 1998.

Recherches sur l'arôme variétal des vins de Vitis vinifera L. cv. Sauvignon Blanc et sa génèse à partir de précurseurs inodores du raisin.

Thèse de doctorat. Université Victor Ségalen. Bordeaux 2.

VOUS AVEZ RÉALISÉ UNE EXPÉRIMENTATION, DES ESSAIS, UNE DÉCOUVERTE, VOUS AVEZ TESTÉ UN NOUVEAU PRODUIT OU UNE NOUVELLE MÉTHODE, ETC. SI VOUS SOUHAITEZ LE FAIRE SAVOIR, ADRESSEZ-NOUS VOTRE TEXTE.

APRÈS EXAMEN PAR NOTRE COMITÉ DE LECTURE, VOTRE ÉTUDE SERA PUBLIÉE DANS LA *Revue Française d'Œnologie*

ET DISPONIBLE SUR LE SITE : www.oenologuesdefrance.com.

Nos COORDONNÉES : TÉL : 04 67 58 69 06 Email : contact.revue@oenologuesdefrance.fr