

EVALUATION DE L'ACTIVITE ACIDIFIANTE OU DESACIDIFIANTE DE LEVURES OENOLOGIQUES

F. Ramon-Portugal (1), P. Taillandier (1), I. Seiller (2),
J. L. Favarel (3), F. Nepveu (2), P. Strehaiano (1)

(1) LGC-UMR CNRS 5503, INP-ENSIGC, 18 chemin de la loge, 31078 Toulouse cedex

(2) LSPCR, Faculté des Sciences Pharmaceutiques, 35 chemin des Maraîchers, 31062 Toulouse

(3) CTIVV-ITV France, Unité Midi-Pyrénées, BP 73, 81603 Gaillac cedex.

(1) et (2) Equipes appartenant au GIS Viti-Oenologie Midi-Pyrénées

Étude réalisée avec le soutien financier de l'ONIVINS (Groupe de travail national sur l'acidité)

L'acidité est un paramètre important de la qualité et de la stabilité des vins. Des deux acides majoritaires du moût de raisin, l'acide tartrique et l'acide malique, seul ce dernier voit sa concentration varier sous l'effet des levures pendant la fermentation alcoolique. Selon les souches utilisées et les caractéristiques du moût, l'intensité de la dégradation de ce substrat est très variable.

C'est ainsi que des levures ont pu être sélectionnées pour leur aptitude à consommer une grande proportion de l'acide malique du milieu, souches dites démaliquantes préconisées par exemple dans le cas où on voudrait faciliter la fermentation malo-lactique ultérieure. D'autres souches, dites de préservation d'acidité, sont plutôt recommandées quand l'œnologue ne souhaite pas trop diminuer une acidité totale déjà faible dans le moût. Cependant, les résultats obtenus avec des souches considérées soit comme démaliquantes ou comme préservatrices d'acidité n'ont pas toujours été ceux attendus du point de vue de l'évolution de l'acidité.

Aussi, l'objectif de l'étude présentée ici menée conjointement par deux équipes du GIS Midi-Pyrénées (Groupement d'Intérêt Scientifique Viticulture-Oenologie) et le groupe de travail national "Acidité" (coordonné par l'ITV Midi-Pyrénées) était de mieux caractériser cinq souches commerciales par rapport à leur consommation d'acide malique pendant la fermentation alcoolique : deux souches démaliquantes (AC- et 432) et trois souches de préservation d'acidité (1636, FA1 et 1033).

Le protocole d'étude a été établi en concertation avec la Société LALLEMAND productrice des cinq souches. La nécessité de travailler dans un premier temps sur un milieu synthétique de composition parfaitement maîtrisée s'est imposée à nous comme une évidence. En effet, le métabolisme des levures en général et la consommation de l'acide malique en particulier étant fortement influencés par la composition du milieu de fermentation, des conclusions générales sur le comportement des cinq souches ne pourraient être tirées qu'en l'absence de toute variabilité des conditions expérimentales autres que les paramètres étudiés. Ces paramètres étaient le pH et la concentration en acide malique initiaux car ce sont ceux qui varient dans le cas de moûts de raisin d'acidité totale différente. Le pH a de plus déjà été rapporté comme facteur influençant fortement la consommation d'acide malique.

Par ailleurs, le métabolisme levurien conduit à la formation de produits secondaires pouvant avoir une influence sur l'acidité totale après fermentation alcoolique comme les acides organiques. Nous avons donc déterminé pour toutes les souches et dans toutes les conditions testées la production des acides lactique, succinique et acétique. La synthèse de tous ces résultats a permis d'établir une classification des levures étudiées.

Enfin, la compilation de nombreuses données issues d'expérimentations effectuées par l'ITV sur différents sites et au cours de deux campagnes de vinification a permis de comparer les tendances dégagées sur milieu synthétique en laboratoire et sur moût de raisin en conditions de vinification.

I - EXPERIMENTATIONS SUR MILIEU SYNTHETIQUE

1.1 - Effet de l'acidité initiale sur le déroulement de la fermentation alcoolique

Pour les deux souches démaliquantes, à priori utilisées pour des moûts plus acides, 3 valeurs de pH initiaux ont été fixées dans la gamme de 3 à 3,4 tandis que pour les souches de préservation d'acidité la gamme allait de 3,2 à 3,6. Dans tous les cas, deux concentrations initiales en acide malique ont été étudiées donnant lieu à 30 essais au total. Pour une souche donnée, ni la vitesse fermentaire, ni les rendements en éthanol ou en biomasse n'ont été affectés par les conditions initiales (résultats non montrés ici). L'activité fermentaire de la levure n'est donc pas sensible à l'acidité du milieu dans la gamme testée. Par contre, quand on compare les souches entre elles, les écarts entre les vitesses fermentaires peuvent aller jusqu'à un facteur 3. Le seul paramètre fermentaire sensible à l'acidité initiale du milieu de culture semble être la teneur finale en glycérol comme l'illustre la figure n°1.

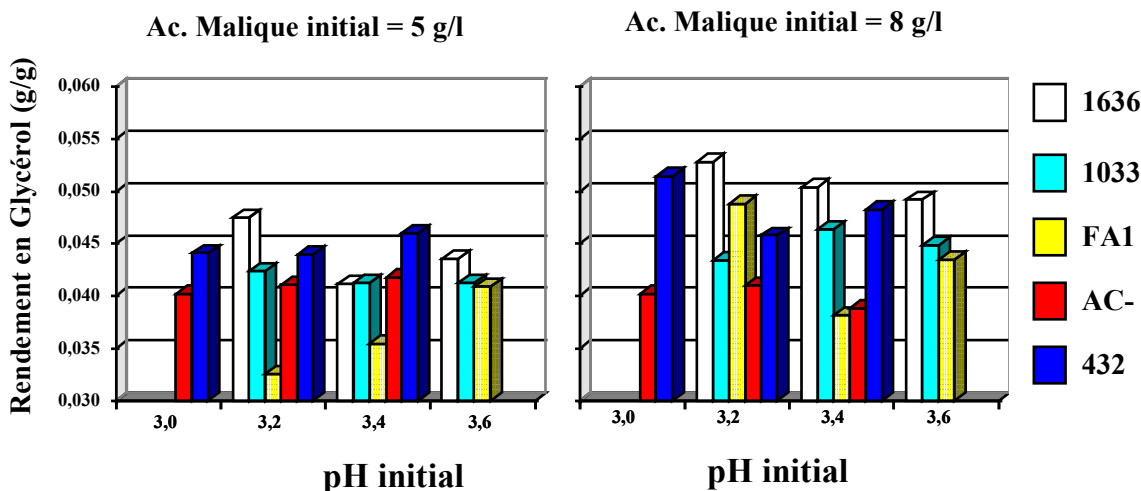


Figure n°1 : Rendement en glycérol par rapport aux sucres fermentés (g/g) en fonction de l'acidité du milieu pour les Cinq souches

De manière générale, la production de glycérol augmente avec la teneur initiale en acide malique mais n'est corrélée ni avec le pH ni avec la quantité d'acide malique consommée comme nous le verrons plus tard.

1.2 - Consommation d'acide malique

Les quantités d'acide malique consommées au cours de la fermentation alcoolique pour chaque essai sont présentées sous forme d'histogrammes dans la figure 2.

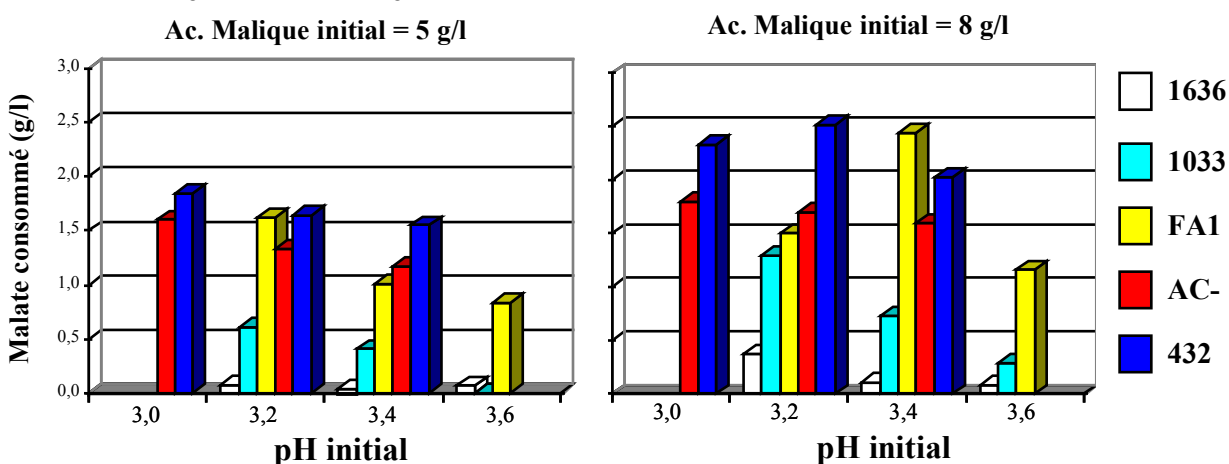


Figure n°2 : Consommation d'acide malique pour chaque essai

La différence entre les souches est manifeste : certaines, comme la 1636, ne consomment pratiquement pas d'acide malique tandis que d'autres, comme la 432, en dégradent jusqu'à 2,5 g/l. Le graphique montre aussi de façon évidente l'influence des conditions initiales. D'une part, la quantité d'acide consommé augmente avec sa concentration initiale. D'autre part, elle est d'autant plus importante que le pH est bas. En d'autres termes, l'activité désacidifiante des levures est plus intense dans des conditions d'acidité initiale plus élevée. Cependant, si on calcule le pourcentage d'acide malique consommé dans chaque cas, pour une souche et un pH donnés cette valeur est constante.

On peut donc établir un classement des souches de levures selon ce critère (tableau 1). On retrouve alors la hiérarchie attendue entre les souches démaliquantes (432 et AC-) et les souches de préservation d'acidité (FA1, 1033 et 1636) bien que la souche FA1 élimine des proportions importantes d'acidité malique, presque comparables à AC-.

| Malate Initial (g/l) | pH Initial | Souche 1636 | Souche 1033 | Souche FA1 | Souche AC- | Souche 432 |
|----------------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|
| 5 | 3,0 | | | | 32,0 % | 36,8 % |
| | 3,2 | 1,6 % | 12,2 % | 32,3 % | 26,6 % | 32,9 % |
| | 3,4 | 0,8 % | 8,1 % | 20,2 % | 23,4 % | 31,0 % |
| | 3,6 | 1,4 % | 0,0 % | 16,6 % | | |
| 8 | 3,0 | | | | 22,5 % | 29,1 % |
| | 3,2 | 4,6 % | 16,1 % | 18,7 % | 21,2 % | 29,1 % |
| | 3,4 | 1,3 % | 9,0 % | 30,4 % | 20,0 % | 25,0 % |
| | 3,6 | 1,0 % | 3,5 % | 14,5 % | | |

Tableau 1: Pourcentage d'acide malique consommé par chaque souche dans chaque condition testée

1.3 - Production d'acides organiques

Les figures 3, 4 et 5 montrent les concentrations respectivement en acides acétique, lactique et succinique atteintes à la fin de la fermentation alcoolique dans chaque cas.

Les niveaux en acide acétique sont relativement élevés, surtout pour la souche AC-, et augmentent avec la teneur initiale en acide malique. Sur des milieux synthétiques de tels niveaux de production ne sont pas rares mais n'ont rien à voir avec ceux obtenus sur moûts de raisin.

En effet, en vinification aucune souche n'a jamais produit plus de 0,2 g/l d'acidité volatile (exprimée en équivalent H₂SO₄, soit 0,25 g/l d'acide acétique).

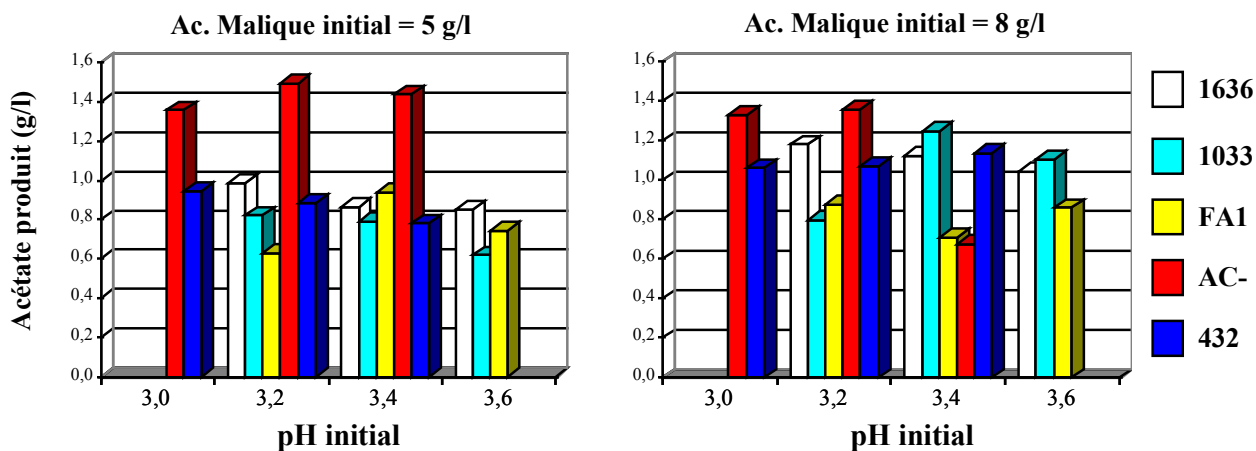


Figure n°3 : Production d'acide acétique pour chaque essai

En ce qui concerne l'acide lactique, seule la souche FA1 se distingue des autres par une production 2 à 4 fois plus importante.

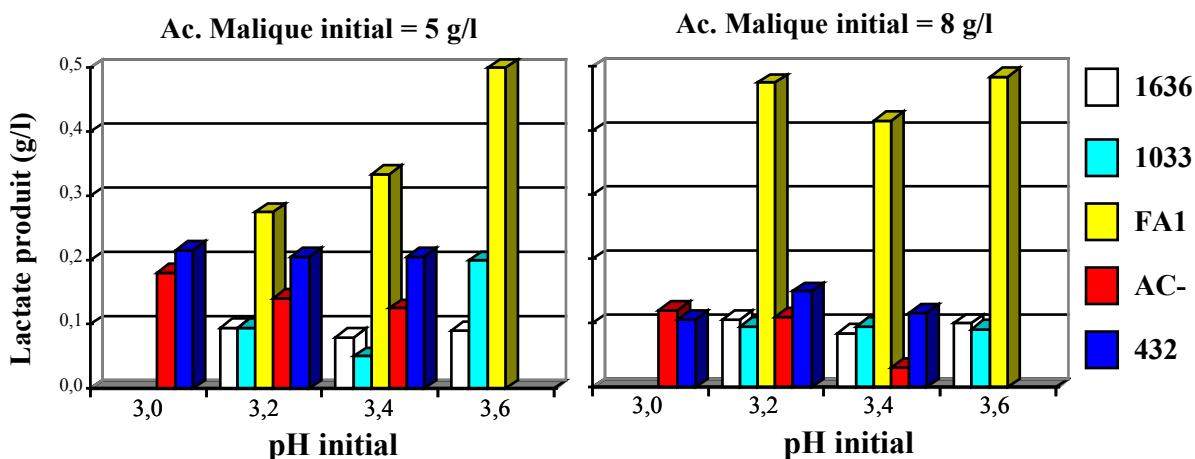


Figure n°4 : Production d'acide lactique pour chaque essai

Enfin, l'acide succinique s'accumule faiblement : 0,2 à 0,6 g/l selon les souches sans que l'on puisse établir une relation avec le pH. En revanche, une concentration plus élevée en acide malique initial conduit, dans la plupart des cas, à une production accrue de ce métabolite. Dans la littérature des concentrations de cet ordre sont rapportées.

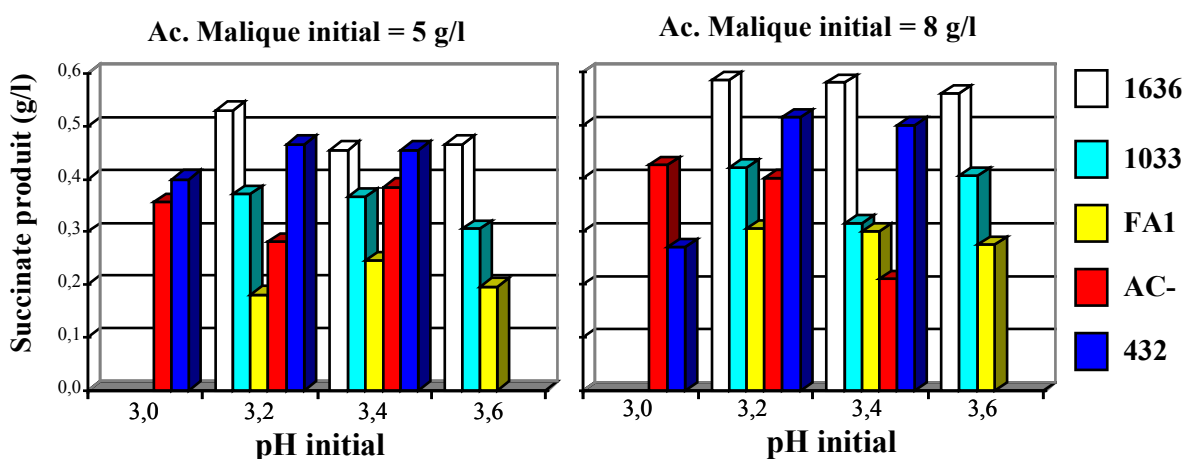


Figure n°5 : Production d'acide succinique pour chaque essai

1.4 - Variation du pH

Pendant la fermentation alcoolique le pH du milieu varie en raison de la consommation des substrats azotés et de l'acide malique, mais aussi à cause de l'excrétion par la levure d'acides organiques. Nous avons donc représenté, sur la figure 6, la variation du pH entre le début et la fin de la fermentation alcoolique pour chaque expérience. Les histogrammes montrent clairement qu'en utilisant ce critère on peut établir un classement différent des souches de levures :

- la souche AC-, classée parmi les désacidifiantes, a toujours pour effet d'augmenter le pH du milieu bien qu'elle produise le plus d'acide acétique,
- la souche FA1, considérée comme préservatrice d'acidité, induit toujours une diminution marquée du pH du milieu,
- pour les trois autres souches, la variation du pH entre le début et la fin de la fermentation alcoolique est très faible, de l'ordre de 0,1 unité pH (sauf pour la souche 1033 dans un cas).

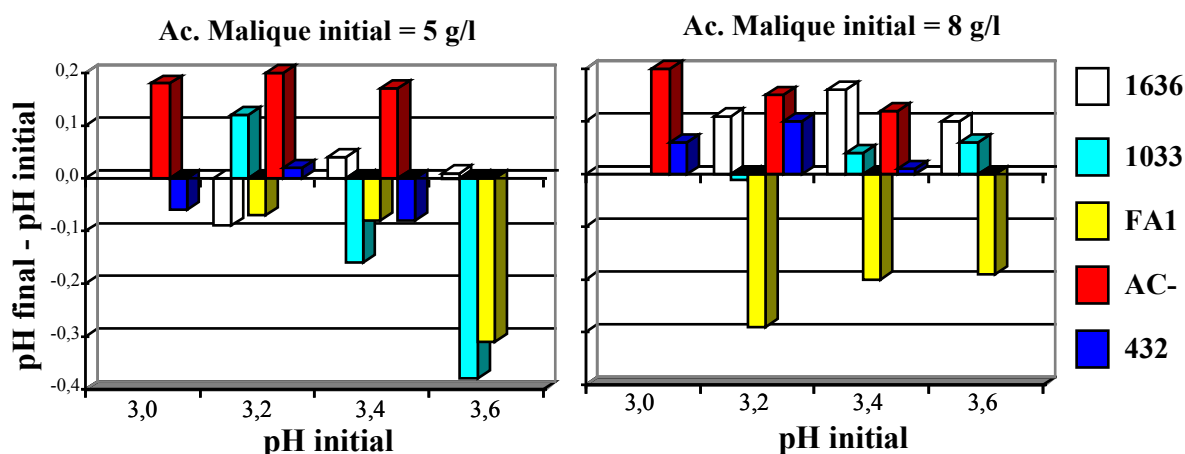


Figure n°6 : Evolution du pH entre le début et la fin de la fermentation alcoolique pour chaque essai

II - EXPERIMENTATIONS EN VINIFICATION SUR SITES

Le groupe national de travail sur l'acidité coordonné par l'ITV Midi-Pyrénées mène des expérimentations depuis plusieurs années sur le thème de l'évolution de l'acidité pendant la fermentation alcoolique en fonction de la levure utilisée. Les résultats issus des campagnes 1995 et 1996 sur plusieurs sites, dans différentes conditions de cépage et d'acidité ont été compilés. Ils correspondent à 66 essais au total, détaillés dans le tableau 2.

| Souche | Nombre d'essais | Gamme de pH initial | Gamme d'acide malique initial (g/l) |
|--------|-----------------|---------------------|-------------------------------------|
| FA1 | 14 | 2,94 à 3,67 | 3,00 à 8,90 |
| AC- | 16 | 2,91 à 3,34 | 2,87 à 8,00 |
| 1033 | 6 | 3,03 à 3,33 | 3,64 à 6,21 |
| 1636 | 19 | 2,91 à 3,67 | 3,45 à 8,30 |
| 432 | 11 | 2,91 à 3,90 | 3,03 à 8,90 |

Tableau n°2 : Conditions des essais de vinification (Données ITV France)

Les résultats exprimés en terme de pourcentage d'acide malique consommé (moyenne de tous les essais pour chaque souche) sont représentés sur la figure 7 en comparaison avec ceux issus des essais sur milieu synthétique. On constate que le classement des souches est identique pour les deux milieux : synthétique et naturel, hormis pour la souche 1033. Mais pour cette souche, seulement six essais ont été réalisés, ce qui peut expliquer cette divergence.

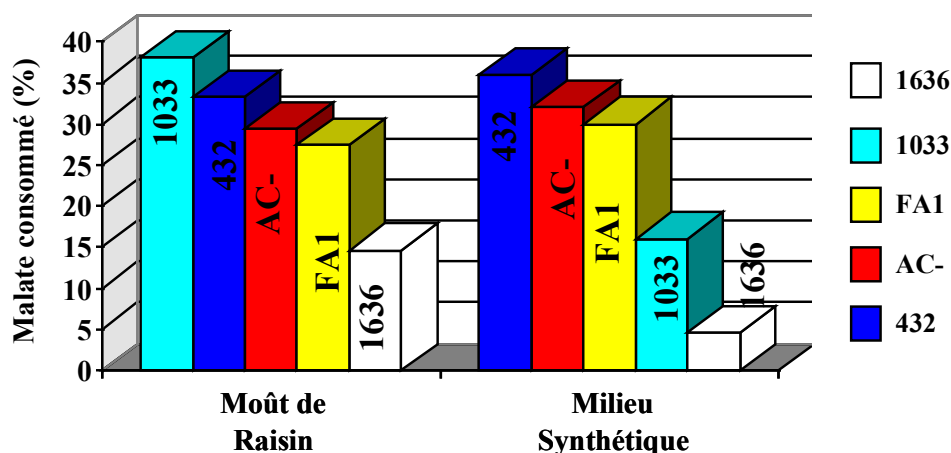


Figure n°7 : Classement des souches selon le pourcentage d'acide malique dégradé pour les deux séries d'essai (milieu synthétique et vinifications)

III - DISCUSSION-CONCLUSION

3.1 - EXPERIMENTATIONS SUR MILIEU SYNTHETIQUE

Le seul effet de l'acide malique sur le déroulement de la fermentation alcoolique semble être l'augmentation de la production de glycérol. On sait que l'accumulation du glycérol par fermentation glycéropyruvique se produit pendant la première partie de la fermentation alcoolique à partir des sucres. Cette observation est donc difficile à expliquer puisqu'il n'y a pas, dans notre cas, de corrélation avec la consommation de l'acide malique. Cependant, selon Barre la production de glycérol est liée à celle de l'acétate et du succinate.

Le fait que le malate soit davantage consommé pour une souche donnée quand le pH initial est plus faible a déjà été rapporté et s'explique par les équilibres de dissociation de cet acide en fonction du pH. En effet, plus le pH est bas, plus l'acide malique se trouvera sous sa forme non dissociée et c'est sous cette forme seulement qu'il peut être transporté à l'intérieur de la levure par diffusion passive. Il est possible qu'un équilibre s'établisse entre les concentrations intérieures et extérieures, ce qui expliquerait que le pourcentage consommé soit constant pour une levure et un pH donnés.

Les productions d'acide acétique et d'acide succinique augmentent quand le milieu contient davantage d'acide malique. Une des voies proposées pour la dégradation de ce substrat est celle qui conduit à l'acide succinique. Mais la deuxième voie métabolique, celle qui mène à l'éthanol, semble être prépondérante. Dans notre cas, la comparaison à un milieu témoin exempt d'acide malique nous inciterait plutôt à préférer la première voie mais on ne peut conclure entre les deux hypothèses étant donné que le gain en éthanol provenant de la transformation du malate est trop faible pour être détectable. Par contre, la production d'acide lactique semble liée à la souche de levure et non aux paramètres étudiés.

Si on compare les classements des souches selon les deux critères que sont le pourcentage d'acide malique consommé et l'effet sur la variation du pH après la fermentation alcoolique on constate que ces classements divergent. Le critère seul de la consommation du malate est donc insuffisant, il faut prendre en compte l'ensemble des composés consommés ou produits par la levure qui peuvent avoir un effet sur l'acidité du milieu. C'est ainsi que la souche FA1 considérée comme préservatrice d'acidité dégrade dans certaines conditions autant d'acide malique que la souche désacidifiante AC-. Mais en ce qui concerne le pH final elles présentent un effet inverse : la FA1 le diminue toujours, peut être en raison d'une forte production d'acide lactique.

3.2 - EXPERIMENTATIONS EN VINIFICATION SUR SITES ITV

Les résultats des essais de vinification menés sur les sites ITV France en 1995 et 1996 sont présentés dans la partie précédente sous forme de pourcentage d'acide malique consommé en moyenne pour chaque souche. Cependant, selon les conditions initiales, la variation de cette consommation présente une grande amplitude (données non montrées) ce qui confirme bien l'importance des caractéristiques du moût sur la dégradation du malate par les levures, leur variabilité d'une vinification à l'autre et, par conséquent, l'intérêt de conduire une étude de ce type sur milieu synthétique. En outre, les valeurs du pH et de la concentration en acide malique initial des moûts de raisin (tableau 2) se trouvaient parfois en dehors de la gamme choisie pour les essais sur milieu synthétique et on a montré l'importance de ces paramètres.

Enfin, dans les vinifications sur site, la souche apportée au cours du levurage ne se retrouve pas toujours majoritaire en fin de fermentation. Toutefois, la consommation de l'acide malique débutant avec la fermentation alcoolique on peut penser que la souche ensemencée a participé, au moins partiellement, à la dégradation de l'acide malique.

Malgré ces disparités entre les deux séries d'expérimentations, la bonne concordance du classement des souches et de l'ordre de grandeur du pourcentage de malate dégradé permet de valider l'étude sur milieu synthétique et montre l'intérêt d'une telle démarche.

Une étude menée récemment sur 37 souches des levures de vinification d'une collection italienne a montré que la majorité d'entre elles dégradent entre 15 et 25 % de l'acide malique. Les souches que nous avons testées sont donc performantes de ce point de vue.