Paroles D'EXPERT
Notes d'information pratique
LALLEMAND

LA GESTION DE L'ÉTHANAL LORS DE LA VINIFICATION

Qu'est-ce que l'éthanal ?

L'acétaldéhyde (ou éthanal) est un composé carbonyle volatil que l'on retrouve en grande quantité dans le vin et qui peut se former aussi bien par voie biologique (grâce à l'activité de la levure) que par voie chimique (lors de l'oxydation du vin). C'est une petite molécule, hautement réactive, qui dégage un arôme herbacé, de pomme ou de noisette. Il est très volatil et possède un fort pouvoir aromatique (Nykanen, 1986) avec un seuil de détection d'environ 100 mg/l dans les vins, et est très réactif.

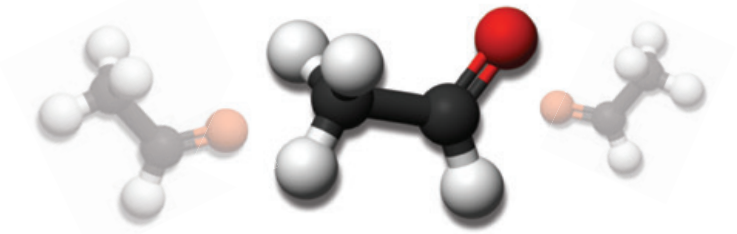

Figure 1 : Structure moléculaire de l'éthanal (CH_3CHO)

Pourquoi est-il important dans le vin ?

L'étude de Jakowetz *et al.* (2011) a établi que, parmi les molécules se liant au dioxyde de soufre (SO_2), les plus pertinentes sont l'éthanal et les acides pyruvique et α-cétoglutarique, car elles peuvent se lier facilement de par leurs concentrations généralement élevées dans les vins. L'éthanal représente en général 75 % du SO_2 lié dans les vins blancs et 50 % dans les vins rouges. Sa réactivité et sa capacité de se lier aux sulfites expliquent dans une large mesure pourquoi les vins requièrent des quantités variables de SO_2 et pourquoi la gestion du dioxyde de soufre est si importante dans l'activité vinicole et la stabilité après la mise en bouteille.

Les consommateurs étant de plus en plus sensibilisés aux effets indésirables du SO_2 sur la santé (Yang et Purchase, 1985; Snelten et Schaafsma, 1992), des efforts considérables sont faits pour réduire la concentration de SO_2 dans les vins, et comme les vins à teneur plus élevée en éthanal nécessitent davantage de SO_2, cela peut poser problème. En outre, l'éthanal possède en lui-même un profil toxicologique particulier. Il se lie facilement aux protéines (Tuma and Sorrell, 1985) et à l'ADN (Hemminki and Suni, 1984).

Comment peut-on contrôler l'éthanal ?

Levures oenologiques : La plus grande partie de l'éthanal que l'on retrouve dans le vin est issue du métabolisme des levures lors de la fermentation alcoolique. La levure oenologique qu'il s'agisse d'une levure *Saccharomyces cerevisiae* indigène ou sélectionnée, produit de l'éthanal pendant les phases initiales de la fermentation alcoolique. Puis, après avoir atteint un pic de concentration, l'éthanal est réutilisé dans une certaine mesure. Les quantités produites sont fort variables et dépendent des conditions de fermentation et de la levure dominante (Ebeler et Spaulding, 1999; Millau et Ortega, 1988, Cheraiti *et al.*, 2009). Outre *Saccharomyces cerevisiae*, d'autres espèces de levure produisent de l'éthanal dans le vin, notamment *Schizosaccharomyces pombe* et *Zygosaccharomyces bailii*.

Il est possible de limiter la production d'éthanal en choisissant une levure appropriée (Romano et al., 1994, Cheraiti *et al.*, 2009, Jackowetz *et al.*, 2012). Cela dépend principalement de la souche, mais est indépendant de la quantité de biomasse produite par cette dernière. Dans de nombreux cas, la levure ayant la population la plus élevée n'est pas nécessairement celle qui produit la plus grande quantité d'éthanal, ni d'ailleurs celle qui en dégrade le plus.

Comment peut-on contrôler l'éthanal ?

Il y a toujours deux valeurs à évaluer lorsqu'on mesure l'éthanal produit par les levures. Le niveau maximal, qui est atteint et mesuré à la fin de la phase exponentielle lors de la fermentation alcoolique (FA), le niveau final, qui est atteint et mesuré à la fin de la FA. Cette valeur finale est importante pour plusieurs raisons. D'un côté, si on observe des concentrations élevées d'éthanal, il y a des conséquences en termes de SO_2 lié à cette molécule ; d'un autre côté, dans les vins rosés et rouges, certains niveaux peuvent aider à stabiliser la couleur, mais encore une fois, si ces niveaux dépassent un seuil, cela peut affecter la qualité des arômes herbacés, de pomme verte ou de noisette d'une manière qui n'est pas toujours souhaitée. Il est donc important de faire le bon choix en ce qui concerne la production d'éthanal par la levure, pour obtenir le style de vin désiré.

Habituellement, les vins produits par les méthodes modernes de vinification présentent des niveaux d'éthanal assez faibles à la fin de la fermentation alcoolique, soit environ 20 ppm dans les vins rouges et 40 ppm dans les vins blancs. En ce qui concerne la réutilisation de l'éthanal par la levure, les pratiques d'élaboration du vin consistant à maintenir un grand nombre de levures viables tout au long de la fermentation permettent une meilleure réutilisation de l'éthanal. Ainsi, en ajoutant des nutriments pour la levure et en maintenant une température modérée (20 °C), on obtient une diminution de l'éthanal résiduel, alors que si on maintient une température fraîche (12 °C) et que l'on n'ajoute pas de nutriments, on obtient des niveaux résiduels plus importants (Jackowetz *et al.*, 2012). La même étude a montré que la levure produit aussi plus d'éthanal en réponse à l'ajout de SO_2 .

Comment peut-on contrôler l'éthanal ?

Bactéries oenologiques : Après la fermentation alcoolique et l'élimination de la levure, il reste peu de possibilités pour réduire la quantité d'éthanal. On sait depuis longtemps que les bactéries oenologiques contribuent à dégrader l'éthanal (Somers and Wescombe, 1987). Une étude récente de Jakowetz *et al.* (2011) a montré comment les changements de concentration d'éthanal évoluent pendant les processus de vinification. La figure 2 tirée de cette étude montre que la formation biologique initiale par la levure est suivie d'une réutilisation partielle. La deuxième augmentation est attribuable à une oxydation chimique involontaire de l'éthanol. Après 27 jours, les bactéries oenologiques ont été inoculées pour induire la fermentation malolactique (FML) et l'éthanal est essentiellement tout éliminé. Les levures étant productrices d'éthanal et les bactéries consommatrices de ce composés, la co-inoculation peut être une pratique vinicole intéressante à envisager. Dans les vins blancs par exemple, la contribution de l'éthanal est principalement négative parce qu'elle élève la concentration de SO_2 lié et par conséquent sa concentration totale. La co-inoculation devient une méthode de choix pour contrôler la production d'éthanal, parmi tous ses autres avantages (FML plus rapide, contribution sensorielle).

La fermentation malolactique conduit aussi à une réduction substantielle de l'acide pyruvique, et à une réduction partielle de l'acide alpha-cétoglutarique. Par conséquent, la fermentation malolactique peut contribuer de manière significative à la production de plus faibles concentrations de SO_2 lié et total en dégradant ces composés qui se lient au SO_2. Si une dégradation maximale de l'éthanal est souhaitée, il ne faut pas stabiliser les vins avant un délai de sept à dix jours suivant la réduction de la teneur en acide malique.

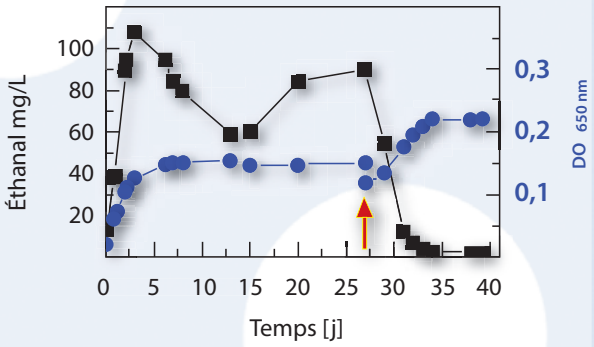

Figure 2 : Évolution type des niveaux d'éthanal pendant la FA et la FML. La ligne bleue marque la turbidité et la croissance des levures et des bactéries. La FML a été induite après 27 jours (indiqué par une flèche).

Ramón Mira de Orduña

Ramón, professeur d'œnologie à l'École d'Ingénieurs de Changins en Suisse, dirige le laboratoire d'analyse du vin et d'œnologie après avoir été professeur à l'université Cornell (États-Unis) et à l'Université de Guelph (Canada). Ses recherches portent sur le métabolisme et les interactions des levures et des bactéries oenologiques, ainsi que la fermentation. Il étudie la formation de l'éthanal et son métabolisme par les levures et les bactéries depuis 1999. Il est l'auteur de 30 articles parus dans des revues scientifiques et des publications techniques, il a prononcé 90 allocutions dans des congrès aux quatre coins du monde et supervisé 22 étudiants de maîtrise et post-doc.

UN MOT DE NOTRE EXPERT

Afin de comprendre la formation et la dégradation de l'éthanal dans les vins, les aspects microbiologiques et chimiques doivent être considérés séparément. L'éthanal est formé par les levures au début de la phase de fermentation, puis il est dégradé par les levures (pendant la seconde phase de FA) et les bactéries malolactiques. Chimiquement, il résulte de l'oxydation de l'éthanol par les espèces réactives de l'oxygène qui se forment lorsque les vins sont aérés, soit à dessein (p. ex., par pompage ou micro-oxygénation) ou de manière involontaire, notamment lors du soutirage, du pompage, de la filtration ou de la mise en bouteille. La vitesse de ces réactions dépend fortement de la température et requiert la présence de métaux de transition (Cu, Fe) et de substances phénoliques. D'autres réactions chimiques, comme la polymérisation des substances phénoliques, peuvent conduire à sa consommation.

Dans le métabolisme de la levure, l'éthanal joue le rôle d'accepteur final d'électron dans la fermentation alcoolique et par conséquent, il est essentiel pour l'équilibre rédox des levures et leur capacité à générer de l'énergie par la glycolyse. Si l'éthanal est lié au SO_2, qu'il soit produit par les levures ou ajouté par le vinificateur, il n'est pas disponible pour remplir son rôle important. Les levures vont compenser cet effet de liaison en produisant davantage d'éthanal, ce qui entraîne éventuellement des concentrations accrues de SO_2 lié dans les vins. Les bactéries malolactiques peuvent elles aussi augmenter l'efficience énergétique de leur métabolisme par la réduction de l'éthanal libre en éthanol. Par ailleurs, la dégradation de l'éthanal lié au SO_2 a un effet inhibiteur, puisque le SO_2 libéré à l'intérieur des cellules retarde la FML. Alors que les vins blancs contiennent généralement environ 40 mg/l d'éthanal (se liant à environ 60 mg/l de SO_2 !), la concentration d'éthanal dans les vins rouges est de 20 à 25 mg/l en raison de l'effet de la fermentation malolactique.

La production initiale d'éthanal peut être réduite en diminuant la quantité de SO_2 ajouté et en choisissant une levure à faible production d'éthanal. Si on le souhaite, la FML peut contribuer de manière significative à réduire les quantités de SO_2 nécessaires, en dégradant l'éthanal ainsi que d'autres composés carbonylés qui se lient au SO_2. Dans ce contexte, il est intéressant d'envisager une FA et une FML simultanées dans les vins blancs, parce que les bactéries dégradent immédiatement l'éthanal, à mesure que celui-ci est formé par les levures. Dans les vins rouges, où l'éthanal peut contribuer positivement à la couleur et au goût en bouche, on a démontré que l'aération (notamment par pompage) neutralise les effets de la dégradation bactérienne.

LES RÉSULTATS

Les premiers résultats présentés proviennent d'une étude réalisée avec trois levures différentes : Lalvin S6U, Lalvin ICV D254® YSEO® et Lalvin QA23 YSEO®. Toutes ces levures ont des cinétiques fermentaires différentes. Dans la figure 3, on constate une forte augmentation de la production d'éthanal pendant la phase exponentielle, suivie d'une réduction jusqu'à la fin de la fermentation alcoolique. Dans cette étude, la concentration maximale variait de 0,147 g/l pour Lalvin S6U à 0,087 g/l pour Lalvin QA23 YSEO® et à 0,05 g/l pour Lalvin ICV D254 YSEO®. Lalvin ICV D254 YSEO® avait la cinétique de fermentation la plus rapide et la plus faible production d'éthanal, alors que la souche Lalvin S6U, dont la cinétique de fermentation a été la plus lente,avait une production d'éthanal plus élevée. Cependant, la concentration finale est assez similaire pour les trois souches de levure, bien que les niveaux maximums soient variables.

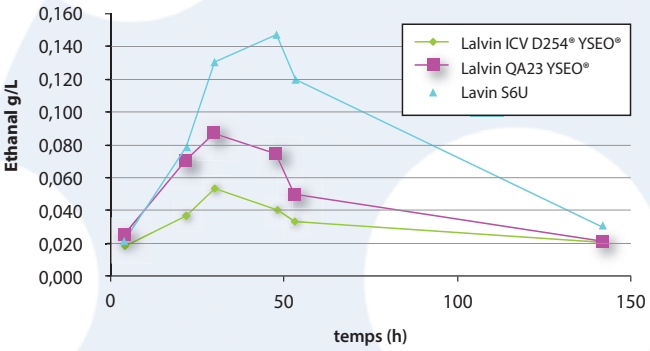

Figure 3: Production d'éthanal pour trois levures sélectionnées dans un moût synthétique (MS300, 24 °C, 25 g/hl).

LES RÉSULTATS

Les levures œnologiques de Lallemand ont été caractérisées pour ce qui est de la production d'éthanal pendant la fermentation alcoolique. Nous pouvons voir dans les figures 4a et 4b que même si certaines levures ont une concentration d'éthanal très élevée à mi-fermentation (figure 4b), la concentration finale peut être différente (figure 4a). Par exemple, pour la levure 21, la concentration peut s'élever jusqu'à 120 mg/l de production maximale, un des plus hauts niveaux, tandis que la concentration finale s'établit à un niveau moyen de 15 mg/l. Généralement, on constate aussi qu'il n'y a aucune corrélation entre le niveau maximal et le niveau final observé.

Une nouvelle levure, Lalvin ICV OKAY™ YSEO®, non seulement entraîne une très faible production finale d'éthanal, mais elle a la capacité de produire des teneurs en SO_2 et H_2S extrêmement faibles, voire nulles. C'est une caractéristique très importante pour les consommateurs préoccupés par les niveaux de SO_2 et, en fin de compte, par la production d'éthanal découlant des propriétés de liaison au SO_2 de ce composé.

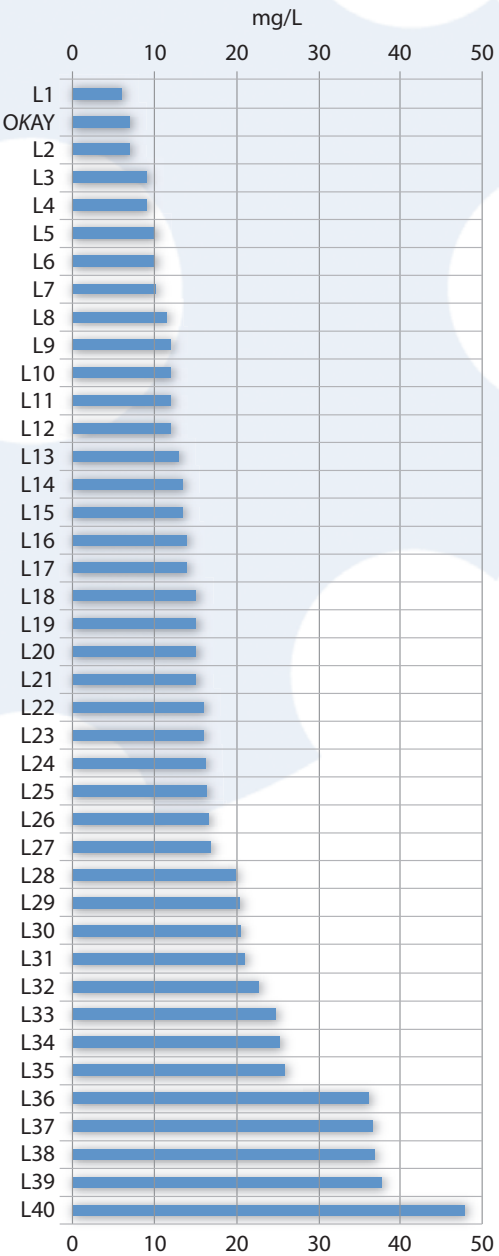

Figure 4a : Classification des levures en fonction de leur production finale d'éthanal, mesurée pendant la fermentation alcoolique

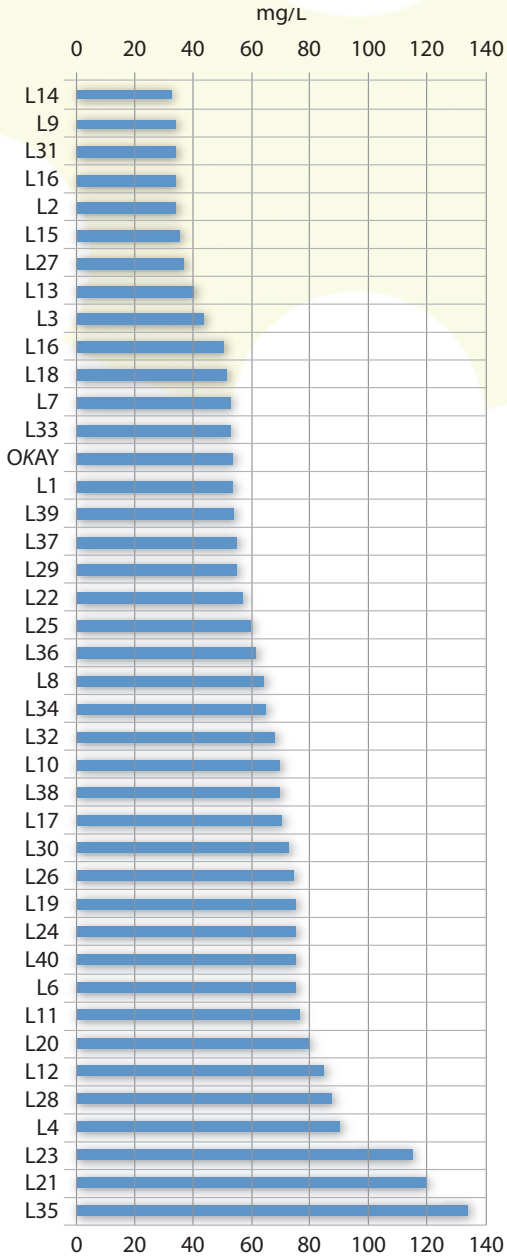

Figure 4b : Classification des levures en fonction de leur production maximale d'éthanal, mesurée pendant la fermentation alcoolique

LES RÉSULTATS

Les bactéries œnologiques ont également la capacité de métaboliser l'éthanal. Comme on le voit dans la figure 5, pendant la fermentation malolactique, après un bref laps de temps, les bactéries œnologiques vont dégrader l'éthanal parallèlement à la dégradation de l'acide malique. Il s'agit là d'un facteur important dans le choix des bactéries œnologiques, car non seulement la bactérie doit être compatible à la levure utilisée pour la fermentation alcoolique mais aussi avoir une synergie positive entre la capacité de la levure à produire de l'éthanal et celle des bactéries du vin à l'utiliser efficacement. Ce facteur doit être considéré au moment d'apparier les microorganismes pour une inoculation séquentielle ou simultanée. Dans une étude effectuée par Wei *et al.* (2011), il a été démontré que les concentrations d'éthanal atteignaient un pic pendant les premières phases de la fermentation du Chardonnay, indépendamment du moment où les bactéries oenologiques avaient été inoculées. Cependant, le pH avait un effet marqué sur la concentration maximale d'éthanal selon que l'on pratiquait la co-inoculation ou l'inoculation séquentielle (Tableau 1).

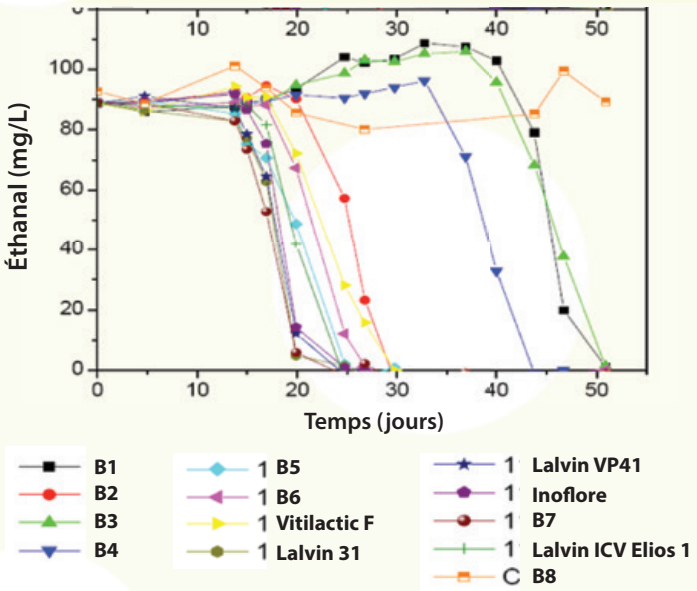

Figure 5 : Dégradation de l'éthanal par les bactéries oenologiques dans un Riesling (M. de Orduna, 2010)

Valeur finale		pH 3,2	pH 3,35	pH 3,5	pH 3,65
Éthanal mg/L	Séquentielle	29,6	30,4	16,0	12,6
	Co-inoculation	19,0	12,5	15,4	7,3

Table 1 : Production d'éthanal dans un Chardonnay issu d'une fermentation malolactique séquentielle ou en co-inoculation à différents pHs (adapté de Wei et al. *2011).*

Lorsque le pH était plus élevé, il y avait moins de différences entre les techniques d'inoculation. Après avoir atteint leur maximum, les concentrations d'éthanal ont diminué dans toutes les fermentations, mais la diminution était plus rapide dans les cas de co-inoculation et présentait une corrélation avec la dégradation de l'acide malique. Les concentrations d'éthanal résiduel étaient plus faibles dans les vins produits par la co-inoculation, ce qui se reflétait dans les concentrations de SO_2 lié.

L'étude de Jackowetz *et al.* (2011) a aussi établi une corrélation entre la diminution des composés carbonylés tels que l'éthanal et les concentrations de SO_2 lié. Pour toutes les souches de bactéries du vin, la diminution des concentrations moyennes de SO_2 lié pendant la FML était de 22 %. La réduction la plus importante en composés carbonylés dans le vin s'est produite dans la semaine suivant l'achèvement de la FML et correspondait à une réduction de 53 % (107 mg/l à 34 mg/l) des concentrations de SO_2 lié.

UN BREF RÉSUMÉ

Il est essentiel de bien choisir les levures et les bactéries oenologiques pour bien gérer la concentration finale d'éthanal que l'on retrouve dans le vin. Si la gestion du SO_2 est importante dans l'élaboration du vin, il faut choisir une levure produisant une faible concentration finale d'éthanal, comme Lalvin ICV OKAY™ YSEO®. Les bactéries œnologiques peuvent aussi être mises à contribution, car elles utilisent l'éthanal pendant la fermentation malolactique. Si la couleur constitue une préoccupation, comme l'éthanal peut aider à stabiliser la couleur, on peut utiliser une levure dont la production est moyenne à élevée. On a également montré qu'une gestion appropriée de la fermentation et une nutrition adéquate influencent les concentrations de ces composés, ainsi qu'une gestion judicieuse de l'oxygène. À mesure que l'on déploie plus d'efforts pour contrôler adéquatement les niveaux de SO_2 dans les vins, la connaissance des caractéristiques des levures et des bactéries du vin pour ce qui est de la production d'éthanal devient un outil précieux pour les vinificateurs.