

NOUVEAUTÉS

❖ *L'Institute of Masters of Wine* et Lallemand ont le plaisir de présenter la gagnante du **Prix Lallemand 2014** : Mme Cath Oates, de Mount Barker, Australie. Créé en 2010, le prix récompense chaque année un étudiant de l'Institut pour la qualité de son travail. Cette année, exceptionnellement, elle s'accompagne d'une invitation à assister au 8^e Symposium international de l'Institut, en Italie. « Je suis fière d'avoir remporté le prix Lallemand et absolument folle de joie à l'idée de participer au Symposium MW à Florence », a déclaré Mme Oates. « Pour moi, comme pour notre région viticole relativement éloignée d'Australie, dont la cuvée actuelle est déjà remplie de promesses, 2014 est décidément une année à marquer d'une pierre blanche. » Cath a obtenu le prix pour la qualité de son essai de 1000 mots qui porte sur le sujet suivant: *Dans le contexte et selon les tendances du marché actuel, discussion sur les pratiques viticoles que peuvent utiliser les vinificateurs pour moduler le profil aromatique des vins et les objectifs pouvant être atteints grâce à ces pratiques.*

LALLEMAND

WINEMAKING UPDATE

Le bulletin *WINEMAKING UPDATE* est publié par Lallemand à l'intention des œnologues et autres professionnels de la vinification. Il présente les nouvelles les plus récentes et traite des dernières découvertes technologiques. Pour obtenir les éditions précédentes, nous poser des questions ou nous faire part de vos commentaires, veuillez communiquer avec nous, à :

Lallemand S.A.S.
Sandra Escot
19, rue des Briquetiers
BP 59, 31702 Blagnac Cedex, France
Tél.: (33) 5 62 74 55 55
Fax: (33) 5 62 74 55 00
sescot@lallemand.com

Les renseignements techniques contenus dans *WINEMAKING UPDATE* sont exacts au moment de la publication. Toutefois, en raison de la grande diversité des conditions et méthodes de vinification, les renseignements et recommandations qu'il contient sont donnés à titre indicatif et sans garantie ni engagement formel. Les produits Lallemand sont offerts par l'entremise d'un vaste réseau de distribution. Pour connaître le distributeur le plus proche, veuillez nous écrire à l'adresse ci-dessus.

www.lallemandwine.com

Les bactéries œnologiques pour contrôler les phénols volatils et le développement des *Brettanomyces*

Du travail de la vigne jusqu'à la mise en bouteilles, toutes les étapes de vinification ont une influence sur la qualité des vins. Les changements climatiques influent également sur la qualité du raisin, notamment la teneur en sucres et le pH, ce qui nécessite des approches de vinification adaptées. L'augmentation de la teneur en sucres et l'élévation du pH ont un impact sur les micro-organismes présents dans le raisin et, bien sûr, sur les populations de levures et de bactéries. Les interactions entre ces micro-organismes sont très complexes. Le vinificateur doit gérer la fermentation alcoolique et malolactique en tenant compte de l'évolution de l'écologie du raisin sous ces nouvelles conditions. La croissance d'une des levures, *Brettanomyces*, est favorisée par l'élévation du pH. Ce micro-organisme opportuniste présente un niveau de tolérance relativement élevé aux sulfites (Edwards, 2011). *Brettanomyces* est considéré comme un contaminant et doit être contrôlé. Ce numéro de *Winemaking Update* traite d'une approche naturelle pour le contrôle de *Brettanomyces* et des phénols volatils qui en découlent: les bactéries œnologiques sélectionnées utilisées pour réaliser la fermentation malolactique.

1. *Brettanomyces* - Un problème toujours d'actualité

Les levures *Brettanomyces/Dekkera* sont des contaminants reconnus pour leurs effets néfastes sur la qualité du vin, dont l'augmentation de la turbidité et la production de phénols volatils, composés aromatiques associés aux odeurs de médicaments, de pansement, d'écurie, de cheval, ainsi qu'au goût de souris (Fugelsang *et al.*, 1993, et Heresztyn, 1986). Le contrôle des précurseurs des phénols volatils et de cette levure

contaminante en cave est un défi considérable, d'autant plus que la levure en question arrive à se développer dans des milieux difficiles – haute teneur en alcool, pH élevé, carences nutritionnelles, SO₂ élevé, etc. Bien que *Brettanomyces* puisse être décelée à tout stade du processus de vinification, on détecte le plus souvent sa présence durant la période allant de la fin de la fermentation alcoolique (FA) au début de la fermentation malolactique (FML) spontanée et durant le vieillissement en barriques (Figure 1).

2. Métabolisme des éthylphénols

Les arômes indésirables sont causés principalement par 4-éthylguaiacol (4-EG) et 4-éthylphénol (4-EP). Chez *Brettanomyces*, ces composés sont issus de la biotransformation d'acides hydroxycinnamiques, les acides *p*-coumarique et férulique, qui sont des précurseurs naturellement présents dans le raisin sous forme libre ou liée. Seules les formes libres sont utilisées par *Brettanomyces*. La transformation de ces précurseurs libres en 4-EG et 4-EP (Figure 2) se fait en deux temps: par l'enzyme cinnamate décarboxylase, d'abord, puis par l'enzyme vinylphénol réductase. Divers facteurs influent sur leurs concentrations, y compris le cépage, les conditions de viticulture (climat frais, climat chaud) et les pratiques de vinification. Selon l'étude récente de Schopp *et al.* (2013), *Brettanomyces bruxellensis* peut métaboliser uniquement l'acide *p*-coumarique et l'acide férulique libres. De fait, toute conversion par l'enzyme cinnamyl estérase de l'acide coumarique (forme liée) vers l'acide *p*-coumarique (forme libre) par d'autres micro-organismes du vin (Figure 2) peut ainsi contribuer à une production accrue d'éthyl phénols par *B. bruxellensis* (Osborne *et al.*, 2013).

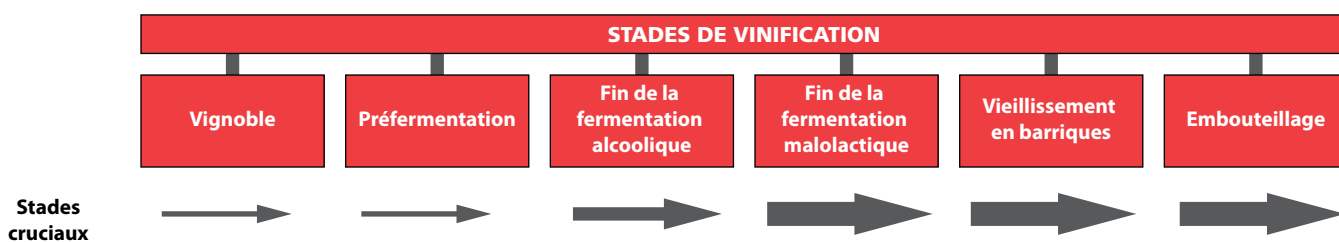


Figure 1. Stades de vinification les plus propices pour la détection de *Brettanomyces*

Il est toutefois à noter que *Brettanomyces* n'est pas le seul micro-organisme à produire des phénols volatils. Certaines bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* et *Pediococcus* (Couto *et al.*, 2006) sont aussi naturellement capables de produire des phénols volatils à partir des acides hydroxycinnamiques libres (acide *p*-coumarique et acide férulique). Des résultats identiques ont été observés avec certaines souches de *Lactobacillus plantarum* durant les travaux réalisés par Fras *et al.* (2014).

la réduction de la phase de latence entre la fin de la FA et le début de la FML, une stabilisation précoce des vins et le dosage approprié du SO₂ contribuent grandement à réduire le risque d'altération microbienne. La stratégie du vinificateur pour limiter le risque de développement des *Brettanomyces* comprend trois aspects clés : la présence des précurseurs des phénols volatils, les phases de croissance de *Brettanomyces* et les conditions du vin. Les bactéries œnologiques sélectionnées préviennent le développement de *Brettanomyces*

les comparant à un échantillon témoin dont la FML a été bloquée. Les chercheurs ont évalué les concentrations des acides hydroxycinnamiques (estérifiés ou libres) après la FML. La variation de concentrations des acides hydroxycinnamiques renseigne alors sur la capacité des bactéries à dégrader certains de ces acides et à les rendre disponibles aux *Brettanomyces* pour la production de phénols volatils.

Les résultats de cette étude montrent clairement que certaines souches d'*O. æni* ont la capacité d'augmenter la teneur en acide coumarique (la forme libre) dans les vins et alors, de générer une augmentation de la production d'éthylphénols en cas de présence de *Brettanomyces*.

Ces recherches apportent un nouvel éclairage sur les voies métaboliques de certaines espèces d'*O. æni*, qui, possédant l'enzyme cinnamyl estérase, sont capables de dégrader l'acide coumarique en acide coumarique.

Ces observations étant faites, nous avons donc cherché à caractériser l'ensemble de nos bactéries sélectionnées. Des résultats présentés dans le Tableau 1 montrent qu'il n'y a pas de variation des teneurs en acides hydroxycinnamiques libres et liés dans les vins inoculés avec nos bactéries en comparaison du témoin dont la FML a été bloquée.

Ainsi, nos souches de bactéries œnologiques sélectionnées n'ont pas la capacité de dégrader l'acide coumarique en acide coumarique, à l'origine des précurseurs des phénols volatils responsables du développement des arômes indésirables associés à *Brettanomyces*. Nous en concluons que l'enzyme cinnamyl estérase, responsable de la formation de l'acide *p*-coumarique à partir de l'acide coumarique, est absente de nos bactéries œnologiques sélectionnées et que, par conséquent, celles-ci peuvent être considérées comme « phénol-négatives ».

La liste complète de nos bactéries sélectionnées caractérisées comme « phénol-négatives » comprend : Lalvin VP41, PN4, VP41 1-step, PN4 1-Step, Vitilatic H+, Vitilactic F, Vitilactic co-fa, Vitilactic Primeur, Inoflore, FML Expertise VIVA, FML Expertise Extrême, FML Expertise S, Extraflore, Maxiflore Elite, Maxiflore Satine, Lalvin 31, toutes de l'espèce *Enococcus æni*, auxquelles s'ajoute notre *Lactobacillus plantarum* V22. Le vinificateur peut donc choisir une de ces bactéries pour la fermentation malolactique en toute sécurité en ce qui a trait à la production de précurseurs de phénols volatils.

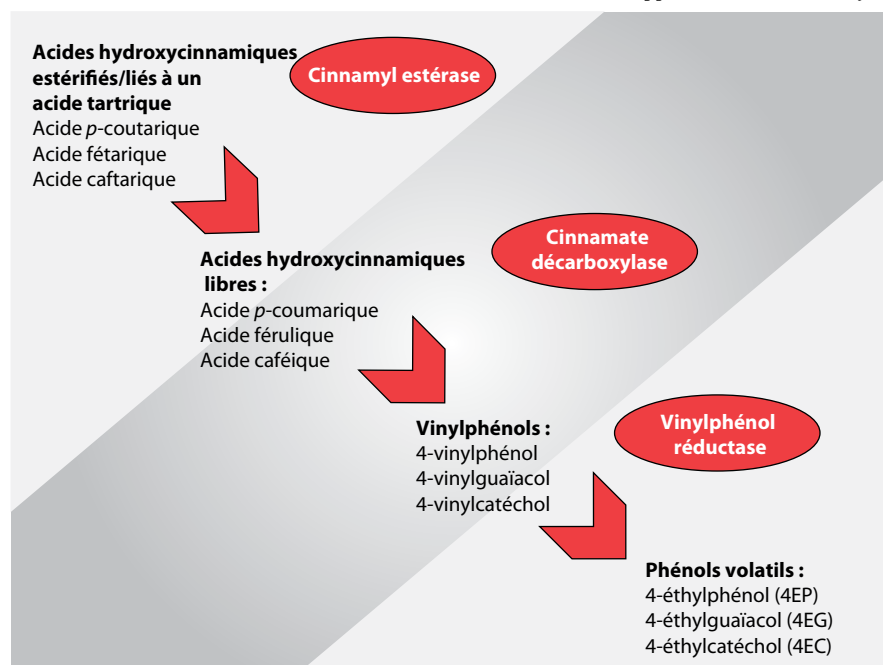


Figure 2. Voie de synthèse des éthylphénols

Une étude récente de Burn et Osborne (2013) démontre que certaines souches d'*Enococcus æni* ont la capacité de métaboliser l'acide coumarique en acide *p*-coumarique par l'action d'une de leurs enzymes, la cinnamyl estérase (Figure 2), mettant ainsi des quantités supplémentaires de précurseurs en phénols volatils à la disposition de *Brettanomyces*.

3. Les bactéries œnologiques sélectionnées contre *Brettanomyces*

La première étape à effectuer pour contrôler *Brettanomyces* consiste à respecter les meilleures pratiques de vinification. Il importe de se doter d'une stratégie de gestion intégrée qui prend en compte l'interdépendance des divers paramètres du vin tels que la qualité du raisin, les dioxydes de soufre (SO₂), le pH, la température du vin, les nutriments, l'oxygène, l'état des barriques et les pratiques œnologiques. L'hygiène de la cave,

en prenant en compte les trois aspects.

3.1 Les conditions du vin.

La sécurisation, la rapidité et l'achèvement complet des fermentations alcoolique et malolactique, associées à la stabilisation précoce du milieu contribuent à préserver la qualité du vin et à limiter la présence des nutriments résiduels qu'utilise *Brettanomyces* pour survivre et se développer.

3.2 Le contrôle de la présence des précurseurs des phénols volatils.

Osborne *et al.* (2012) ont effectué des travaux de recherche sur la capacité des bactéries (*O. æni* et *L. plantarum*) dont des bactéries sélectionnées, à dégrader les acides hydroxycinnamiques liés à l'ester tartrique présents dans le vin en acides libres, précurseurs de la production des phénols volatils chez *Brettanomyces*. Les essais ont été réalisés dans des échantillons de Pinot Noir inoculés avec les bactéries œnologiques sélectionnées, en

	Acide caftarique	Acide coutarique	Acide caféique	Acide <i>p</i> -coumarique	Acide férulique
PN4	23,2 ± 0,4	6,6 ± 0,1	2,4 ± 0,2	0,9 ± 0,1	3,5 ± 0,2
FML Expertise VIVA	24,1 ± 1,3	6,9 ± 0,4	3,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	3,3 ± ,03
INOFLORE	25,0 ± 2,2	7,0 ± 0,6	2,6 ± 0,5	0,8 ± 0,3	4,2 ± ,05
V22	25,8 ± 1,3	7,1 ± 0,3	2,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	3,8 ± ,01
Témoin sans FML	25,1 ± 1,1	6,8 ± 0,5	2,2 ± 0,2	0,9 ± 0,2	4,1 ± ,03

Tableau 1. Concentrations des acides hydroxycinnamiques dans des échantillons de vin de Pinot Noir quatre semaines après l'inoculation avec différentes bactéries cenologiques sélectionnées

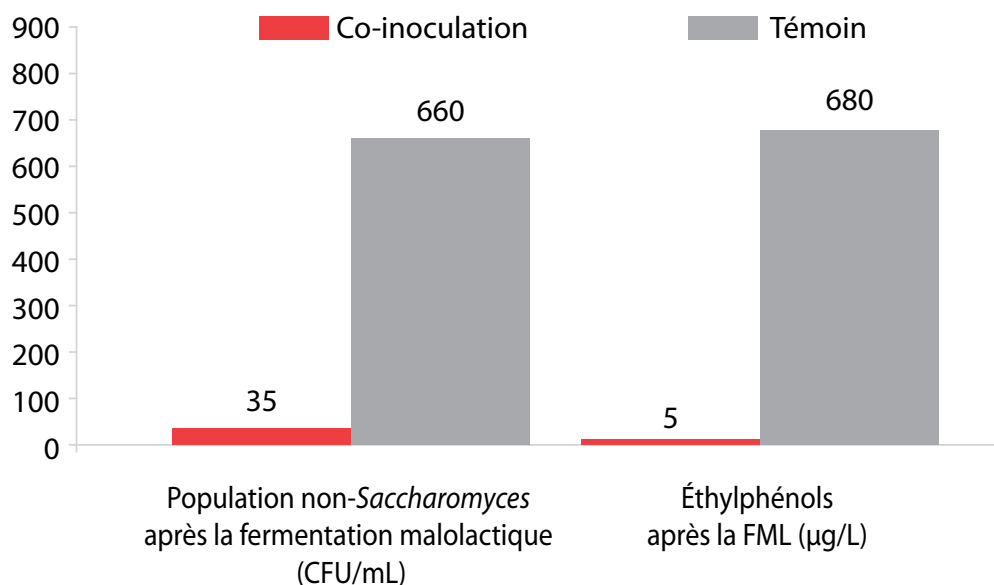


Figure 3. Population microbienne et éthylphénols dans des vins de Cabernet Franc (France) au moment de la co-inoculation

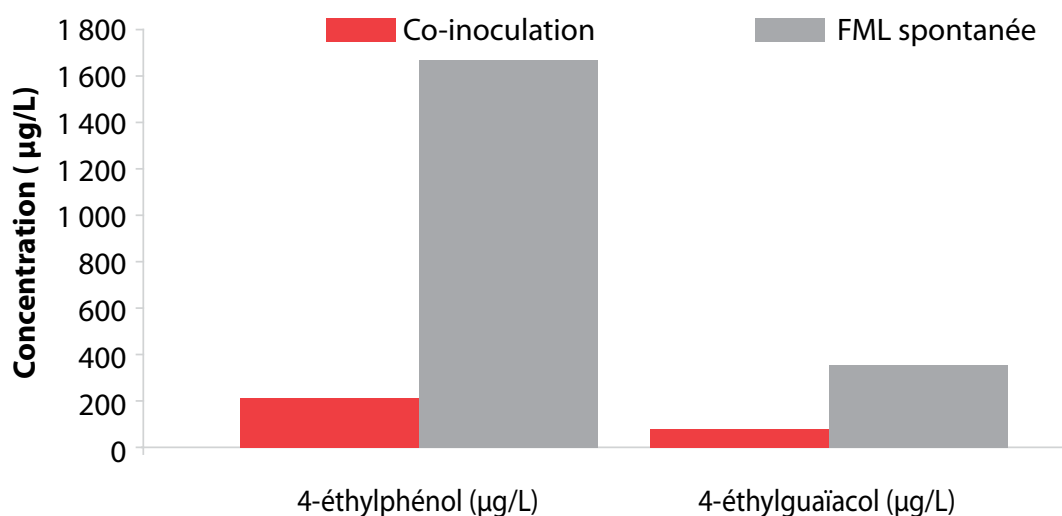


Figure 4. Concentrations d'éthylphénol dans un vin de Cabernet Franc (France) après la fermentation malolactique

3.3 Prévention de la croissance de *Brettanomyces* grâce à la sécurité d'une fermentation malolactique rapide et sans phase de latence

L'utilisation d'une levure sélectionnée et du complexe nutritif levurien approprié assure le déclenchement rapide, l'efficacité et l'achèvement de la FA, ce qui, comme nous le savons, s'inscrit dans la stratégie intégrée de prévention de l'implantation de *Brettanomyces*. Toutefois, cela ne garantit pas le résultat. La période allant de la fin de la FA au début de la FML est particulièrement propice à l'implantation de *Brettanomyces*: le vin n'est pas protégé par le SO₂; cette levure contaminante peut utiliser les nutriments résiduels pour se développer. À ce stade, les autres micro-organismes présents dans le vin ne constituent pas une menace sérieuse, puisque la levure est en fin de vie et que les bactéries lactiques indigènes ne sont pas encore implantées. Le recours à l'utilisation de bactéries œnologiques sélectionnées est une solution pour raccourcir cette phase de latence entre FA et FML et prévenir ainsi le développement des *Brettanomyces*. L'inoculation précoce de la bactérie œnologique, immédiatement après la FA ou en co-inoculation (24 heures après l'inoculation de la levure), s'est révélée une méthode simple et efficace pour la prévention de l'implantation de *Brettanomyces*. Lors d'une étude réalisée

par Pillet *et al.* (2011), un vin de Cabernet Franc de la région de la Gironde, en France, a été soumis à des essais de co-inoculation avec Inoflore, qui ont assuré le déroulement rapide de la FML. L'analyse des résultats d'essais a mené à une découverte des plus intéressantes: la population de la levure non-*Saccharomyces* (de l'espèce *Brettanomyces*, ce qui a été révélé ultérieurement), comme l'indique la Figure 3, était significativement moindre dans les échantillons co-inoculés. Dans le cadre de cette étude, on a constaté que la co-inoculation avait pour effet de prévenir l'implantation de *Brettanomyces* et, par conséquent, la production des phénols volatils.

Lors d'un essai de co-inoculation d'un moût de Cabernet Franc (de la région de Languedoc-Roussillon, en France) par comparaison à la FML spontanée, on a observé une fois de plus des teneurs réduites en éthylphénols. Les teneurs de 4-éthylphénol et de 4-éthylguaïacol sont, respectivement, huit fois et quatre fois plus élevées dans le vin témoin que dans le vin co-inoculé (Figure 4).

Pour prévenir l'implantation de *Brettanomyces* et les problèmes associés à ce micro-organisme, on peut recourir non seulement à la co-inoculation, mais aussi à l'inoculation précoce ou séquentielle de la bactérie œnologique immédiatement après la FA. Lors d'une étude de Gerbaux *et al.* (2009) portant sur un

Pinot Noir (Bourgogne), les essais d'inoculation précoce avec une bactérie œnologique réalisés en laboratoire et en cave dès la fin de la FA ont contribué à limiter la prolifération de *Brettanomyces*. Le pH et la température peuvent avoir un impact négatif sur le déclenchement et le déroulement de la FML, ce qui augmente également le risque de production des phénols volatils. Le déclenchement de la MLF par inoculation d'une bactérie œnologique sélectionnée, au lieu de s'en remettre à l'induction spontanée de cette étape de vinification, évite d'exposer inutilement le vin au risque d'implantation de *Brettanomyces*, particulièrement élevé durant la période précédant la FML. Les résultats présentés dans le Tableau 2 démontrent que la FML a débuté beaucoup plus tôt dans les vins inoculés par deux bactéries œnologiques différentes, ce qui a contribué à diminuer la durée de ce processus et à réduire significativement les concentrations de phénols volatils. Les données d'essais d'inoculation en cave, réalisés à deux températures différentes, ont fait l'objet d'une analyse comparative avec les données obtenues pour le vin témoin, dont la MLF a été spontanée. Pour parer à toute éventualité, plus le risque de prolifération de *Brettanomyces* augmente, plus la précocité de l'inoculation du vin avec une bactérie malolactique prend de l'importance.

	TEMPÉRATURE EN CAVE 18 -19 °C			TEMPÉRATURE EN CAVE 14 -15 °C		
	Témoin*	Bactérie 1	Bactérie 2	Témoin*	Bactérie 1	Bactérie 2
Durée de la FML (jours)	58	16	13	124	31	27
Teneurs des phénols volatils (µg/L)						
4-éthylguaïacol	404	8	7	551	20	15
4-éthylphénol	870	17	9	1119	46	32
Scores moyens de l'analyse sensorielle (sur une échelle de 1 à 10)						
Qualité visuelle	5,6	6,0	6,0	6,0	5,1	5,1
Qualité aromatique	3,8	5,1	4,7	3,4	4,8	5,0
Qualité gustative	3,8	4,9	4,3	3,5	4,9	4,5
Qualité générale	3,4	4,7	4,3	3,5	4,9	4,5
Intensité du goût animal	3,8	0,7	0,9	4,4	0,4	1,0

* Non inoculé avec une bactérie lactique

Tableau 2. Production des phénols volatils dans des vins de Pinot Noir (Bourgogne, France) après la fermentation induite par l'inoculation avec une bactérie œnologique, par rapport au vin témoin, dont la fermentation a été spontanée.

EN RÉSUMÉ...

Le vinificateur est désormais mieux informé sur la meilleure façon de prévenir – voire même, de traiter – la contamination du vin par *Brettanomyces*. Il a été démontré que l'inoculation d'une bactérie œnologique sélectionnée dans le vin pour induire et accélérer le processus de fermentation malolactique est un moyen efficace de prévenir la contamination. Nous savons que l'inoculation d'une dose de > 10⁶ cellules/mL de bactérie œnologique sélectionnée dans le vin permet de stopper la croissance de cette levure contaminante. La gestion du processus de vinification par la sécurisation de la fermentation alcoolique et de la fermentation malolactique est un bon point de départ pour la prévention de l'implantation de la flore indigène indésirable. Il importe également de bien choisir la bactérie sélectionnée en se fondant sur sa capacité d'inhiber la production d'acide hydroxycinnamique libre, comme l'acide *p*-coumarique, précurseur de la formation des éthylphénols par *Brettanomyces*. Les bactéries œnologiques de Lallemand, dont Lalvin VP41, PN4, Vitilatic H+, Vitilactic F, Vitilactic co-fa, Vitilactic Primeur, Inoflore, FML Expertise VIVA, FML Expertise Extrême, FML Expertise S, Extraflore, Maxiflore Elite, Maxiflore Satine, Lalvin 31 et *Lactobacillus* V22, ne possèdent pas l'enzyme cinnamyl estérase qui conduit à la transformation de ce précurseur sous forme libre et disponible pour les *Brettanomyces*. Nous disons qu'elles sont **phénol-négatives**. Aussi, la mise en œuvre d'une stratégie d'inoculation appropriée (co-inoculation, inoculation précoce ou inoculation séquentielle dès la fin de la FA) est un moyen efficace de prévenir l'implantation de *Brettanomyces*. En utilisant une bactérie œnologique phénol-négative et en choisissant avec soin le moment d'inoculation de cette bactérie, le vinificateur peut se doter d'une stratégie de protection contre la production des phénols volatils par les *Brettanomyces* plus efficace encore.

Pour plus d'information à ce sujet, veuillez communiquer avec votre représentant Lallemand. Références disponibles sur demande.