

EFFET DE LA SOUCHE DE LEVURE SUR LES PROPRIETES ORGANOLEPTIQUES DES VINS ISSUS DE CINQ CEPAGES BLANCS PORTUGAIS

I. Vasconcelos¹, F. Moura², M. C. P. Martins¹, M. T. Herdeiro¹
O. Pereira², A. Castro² et G. de Revel¹

¹Escola Superior de Biotecnologia, R. Dr. António Bernardino Almeida, 4200 Porto, Portugal et ²Direcção Regional de Agricultura de Entre Douro e Minho - Estação Experimental de Fruticultura e Vitivinicultura, Quinta de Sergude, Felgueiras, Portugal.

Neuf souches de levures commerciales, appartenant au genre *Saccharomyces* (six souches de *S. cerevisiae* et trois souches de *S. bayanus*), ont été testées lors de la fermentation de moûts issus de cinq cépages portugais: Loureiro, Trajadura, Pedernã, Azal e Avesso. Pour un même cépage la levure d'implantation semble ne pas avoir d'influence sur la teneur en alcool et sur l'acidité totale des vins produits. Les variations des quantités produites en esters éthyliques d'acides gras (EEAG) et acétates d'alcools supérieurs (AAS) peuvent varier d'un facteur 2.1 et 4.3 respectivement, pour un même cépage; les teneurs maximales en AAS sont observées avec les deux mêmes souches pour tous les cépages, à une exception près. En ce qui concerne les alcools supérieurs, les souches plus ou moins productrices diffèrent pour chaque cépage. Une étude statistique a permis d'établir une corrélation entre l'analyse chimique et l'analyse sensorielle. D'un point de vue organoleptique, les vins préférés sont riches en acides gras et en EEAG mais relativement pauvres en AAS.

INTRODUCTION

Parmi les nombreux paramètres qui ont une influence sur les caractéristiques et la qualité finale du vin, la souche de levure d'implantation, responsable de la fermentation, a une importance particulière, vu les différences du métabolisme qui existent dans la même espèce (1, 2). D'un autre côté, il est certain que les cépages utilisés dans la production du vin conditionnent également sa composition.

Des études menés avec des moûts de différents cépages, fermentés par la même espèce de levure, ont montré que les vins produits pouvaient être distingués par leur teneur en métabolites de fermentation (3). Marchetti et Guerzoni (1987) ont analysé 128 vins, issus de moûts de 8 cépages différents fermentés par 16 souches de *Saccharomyces cerevisiae*, et ont mis en évidence que les différences observées dans les vins étaient, dans la plupart des cas, dues à la composition du moût; toutefois, certaines souches étaient capables d'avoir un effet sur les caractéristiques du vin supérieur à celui attribué à la nature du moût. Selon d'autres auteurs, la formation des composés responsables de l'arôme et du goût d'un vin dépend plus fortement de la levure d'implantation que des matières premières utilisées dans la fermentation (5).

Dans le travail présent, l'effet de neuf souches de levures d'implantation sur la composition des vins issus de cinq cépages blancs portugais a été étudié. Les cépages utilisés provenaient de la région d'appellation "Vinhos Verdes" et sont recommandés pour ce type de vin: Loureiro, Trajadura, Pedernã, Azal e Avesso. Les moûts ont été fermentés par des souches de levures commerciales, appartenant aux espèces *Saccharomyces cerevisiae* (six souches) et *Saccharomyces bayanus* (trois souches).

Les cépages utilisés sont faibles ou moyennement aromatiques et les vins issus de ces cépages peuvent être enrichis par les métabolites de fermentation produits par les levures. L'influence de la levure d'implantation dans la formation des composés qui jouent un rôle prépondérant dans les caractères organoleptiques des vins a fait l'objet de cet étude.

MATERIELS ET METHODES

Conditions de fermentation. Les microvinifications sont réalisées à 18°C, les moûts étant ensemencés à 25 g/hl, après débourage statique. Après la fermentation, les vins sont soutirés par siphonage et leur teneur en SO₂ libre est ajusté à 30-35 mg/l.

Déterminations chimiques.

Analyses chimiques classiques. Le pH, acidité totale, acidité volatile et degré alcoolique sont déterminés selon les méthodes officielles de l'O.I.V.

Dosage des acides organiques dans les vins. Les acides organiques sont dosés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP), à l'aide d'un chromatographe BECKMAN-System Gold, équipé d'un détecteur U.V.; la séparation des composés est faite sur deux colonnes en série garnies de Lichrospher 100-RP-18 (MERCK), de dimensions 250 mm x 4 mm, pour la première colonne, et 125 mm x 4 mm, pour la seconde colonne; les conditions expérimentales sont: phase mobile - KH₂PO₄ 0.1 M, pH = 4.2, débit - 0.6 ml/min, longueur d'onde - 210 nm, température ambiante.

Dosage des alcools supérieurs, acétate d'éthyle et méthanol (6). Ces composés sont analysés par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil HEWLETT PACKARD 5890, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme; la séparation des composés est faite dans une colonne capillaire CPwax 57 CB (CHROMPACK) de 50 m x 0.25 mm; l'hélium est le gaz vecteur (110 kPa, 2 ml/min), la température de l'injecteur et du détecteur est de 200°C et la température du four est programmée de la façon suivante: 40°C pendant 5 minutes, montée de 3°C/min jusqu'à 200°C, 20 minutes à 200°C; l'étalon interne utilisé est le méthyl-4 pentanol-2 à 10 g/l, en solution hydroalcoolique (40% v/v).

Dosage des esters et acides gras (6). Ces composés sont analysés par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil HEWLETT PACKARD 5890, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme; la séparation des composés est faite dans une colonne capillaire CPwax 57 CB (CHROMPACK) de 50 m x 0.25 mm; l'hélium est le gaz vecteur (110 kPa, 2 ml/min), la température de l'injecteur et du détecteur est de 250°C et la température du four est programmée de la façon suivante: 40°C pendant 5 minutes, montée de 3°C/min jusqu'à 220°C, 20 minutes à 220°C; les étalons internes utilisés sont le octanol-3 à 40 mg/l, en solution hydroalcoolique (40% v/v) et l'acide heptanoïque à 70 mg/l, en solution hydroalcoolique (40% v/v).

Analyse sensorielle. Une séance de dégustation a été réalisée avec la participation de 6 dégustateurs professionnels. Tous les vins ont été analysés selon une fiche de dégustation habituelle.

Analyse statistique des résultats. L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été utilisée. Cette analyse permet de décrire un ensemble de variables quantitatives (variables chimiques et sensorielles) et un ensemble d'individus (les vins), qui sont projetés dans un espace à faibles dimensions. Les axes (composantes principales) sont des combinaisons linéaires des variables les plus significatives et représentent une certaine proportion de la variation totale des variables. Le premier axe (première composante principale) est la combinaison linéaire des variables initiales, pour laquelle la variance des individus est maximale. Les variables et les individus sont projetés sur des plans différents et situés à l'intérieur d'un cercle dit de corrélation. Toutes les données sont centrées et réduites (diminuées de leur moyenne et divisées par leur écart-type). L'interprétation de l'ACP est basée sur les principes suivantes: la proximité plus ou moins grande entre deux variables traduit leur plus ou moins grande corrélation; la proximité d'une variable avec le bord du cercle de corrélation mesure la qualité de représentation de la variable par le plan; la proximité entre deux individus sur un plan montre leur ressemblance vis-à-vis des variables mesurées (7).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les moûts des différents cépages (5) ont été ensemencés avec une seule souche de levure (9 au total) et 45 vins différents ont été produits. Les essais ont été réalisés en double, donnant un total de 90 vins.

Les valeurs de pH, acidité totale et concentration en sucres réducteurs des cinq moûts utilisés sont présentés sur le Tableau 1.

Tableau 1 - Valeurs de pH, acidité totale et concentration en sucres réducteurs des différents moûts.

	Cépage				
	Azal	Avesso	Trajadura	Pedernã	Loureiro
pH	3.15	3.15	3.38	3.23	3.00
Ac. totale ^a	11.9	10.9	5.74	8.48	10.2
Sucres réd. ^b	141.4	199.6	202.3	206.2	218.4

^a Acidité totale (g/l d'acide tartrique)

^b Sucres réducteurs (g/l)

Les différents moûts présentent des valeurs de pH similaires. En ce qui concerne l'acidité totale, les valeurs varient de 5.74 g/l (acide tartrique), pour le moût Trajadura, à 11.9 g/l, pour le moût Azal. La concentration en sucres réducteurs est pratiquement constante, à l'exception du moût Azal qui présente une valeur plus faible.

Les vins issus du même cépage présentent des valeurs similaires de pH et d'acidité totale (cf. Figure 1). Les valeurs de pH sont de 2.87 - 2.91 pour les vins Loureiro (les plus acides) et de 3.25 - 3.30 pour les vins Trajadura (les moins acides), ce qui correspond aux valeurs observées dans les moûts. En ce qui concerne l'acidité totale, les vins Trajadura présentent des valeurs de 5.93 à 7.06 g/l (acide tartrique), tandis que les vins Azal ont des valeurs de 10.1 à 11.2 g/l.

Pour un même cépage la levure d'implantation semble également ne pas avoir d'influence sur le degré alcoolique (cf. Figure 1); l'acidité volatile des vins produits n'est pas homogène et ne semble pas être seulement due à l'effet levure. Les vins qui présentent la teneur la plus faible en alcool sont ceux issus du moût Azal (8.70 à 8.90 % vol), le moins riche en sucres réducteurs, suivis par les vins Pedernã (10.0 à 10.4 % vol), Loureiro (10.5 à 10.8 % vol), Avesso (11.8 à 12.2 % vol) et Trajadura (12.1 à 12.4 % vol).

Les teneurs des différents vins en certains produits secondaires de la fermentation sont présentées sur les Figures 2, 3, 4 et 5. Les composés analysés (alcools supérieurs, esters et acides gras libres) contribuent positivement ou négativement à la qualité aromatique des vins.

Les vins produits ont des concentrations en acétate d'éthyle entre 20 et 80 mg/l, lesquelles ne sont pas négatives, d'un point de vue organoleptique (); les vins issus du cépage Azal ont même des teneurs en ce composé inférieures à 30 mg/l.

La quantité totale d'esters acétates d'alcools supérieurs (acétate d'isoamyle, acétate d'hexyle et acétate de phényl-2 éthyle) varie, pour un même cépage, avec la levure d'implantation (cf. Figure 2). Les variations maximales vont d'un facteur 2.6, pour le cépage Avesso, à un facteur 4.3, pour les cépages Trajadura et Pedernã. Pour chaque cépage, à l'exception de Trajadura, les vins produits avec les souches de levures S1 et S6 sont ceux qui contiennent les plus grandes concentrations en acétates d'alcools supérieurs; la souche S6 est tout de même pour le cépage Trajadura celle qui conduit au vin le plus riche en acétates d'alcools supérieurs. Les vins issus du cépage Loureiro présentent des faibles concentrations en ces esters, ce qui lui donne un caractère très neutre vis à vis de l'arôme intense caractéristique.

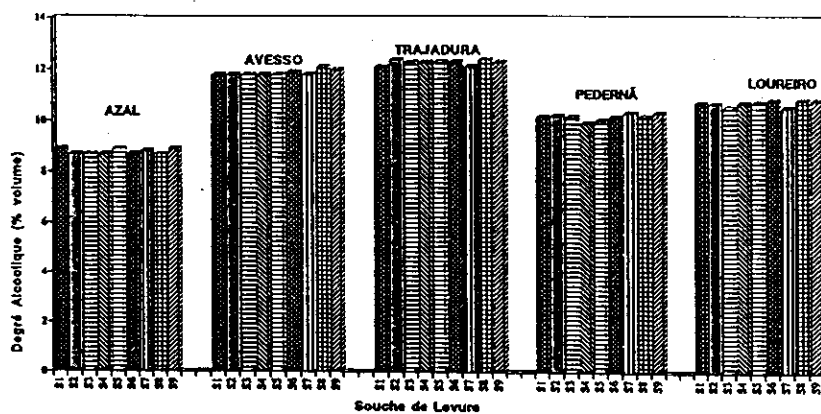
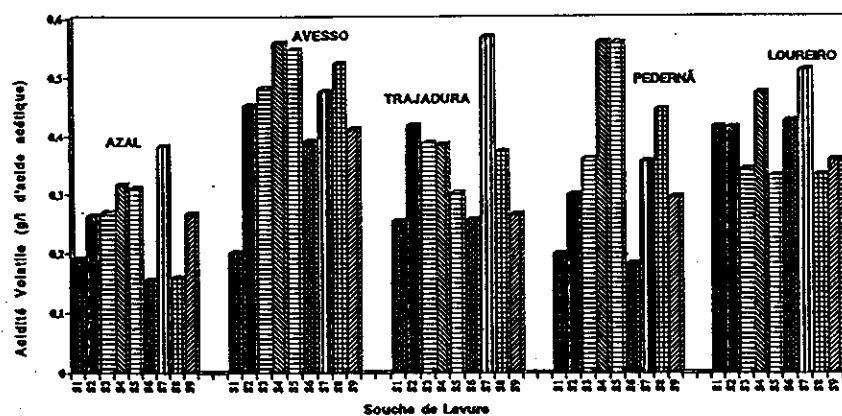
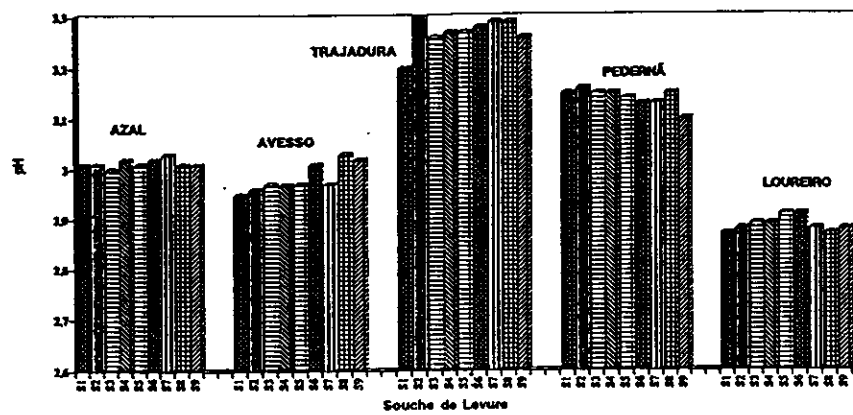


Figure 1 - Valeurs de pH, acidité volatile et degré alcoolique des différents vins issus des cinq cépages.
 (S1, S2, S3, S7, S8 et S9 - souches de *Saccharomyces cerevisiae*; S4, S5 et S6 - souches de *Saccharomyces bayanus*)

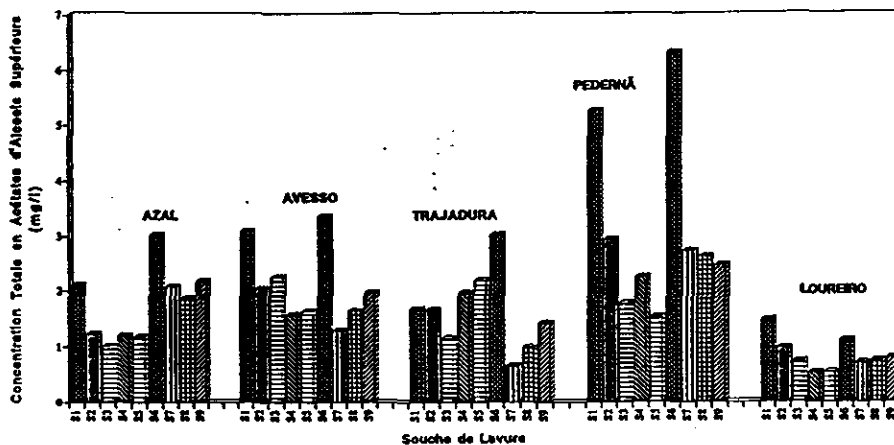


Figure 2 - Concentration totale en esters acétates d'alcools supérieurs (acétate d'isoamyle, acétate d'hexyle et acétate de phényl-2 éthyle) des différents vins issus des cinq cépages.
(S1, S2, S3, S7, S8 et S9 - souches de *Saccharomyces cerevisiae*; S4, S5 et S6 - souches de *Saccharomyces bayanus*)

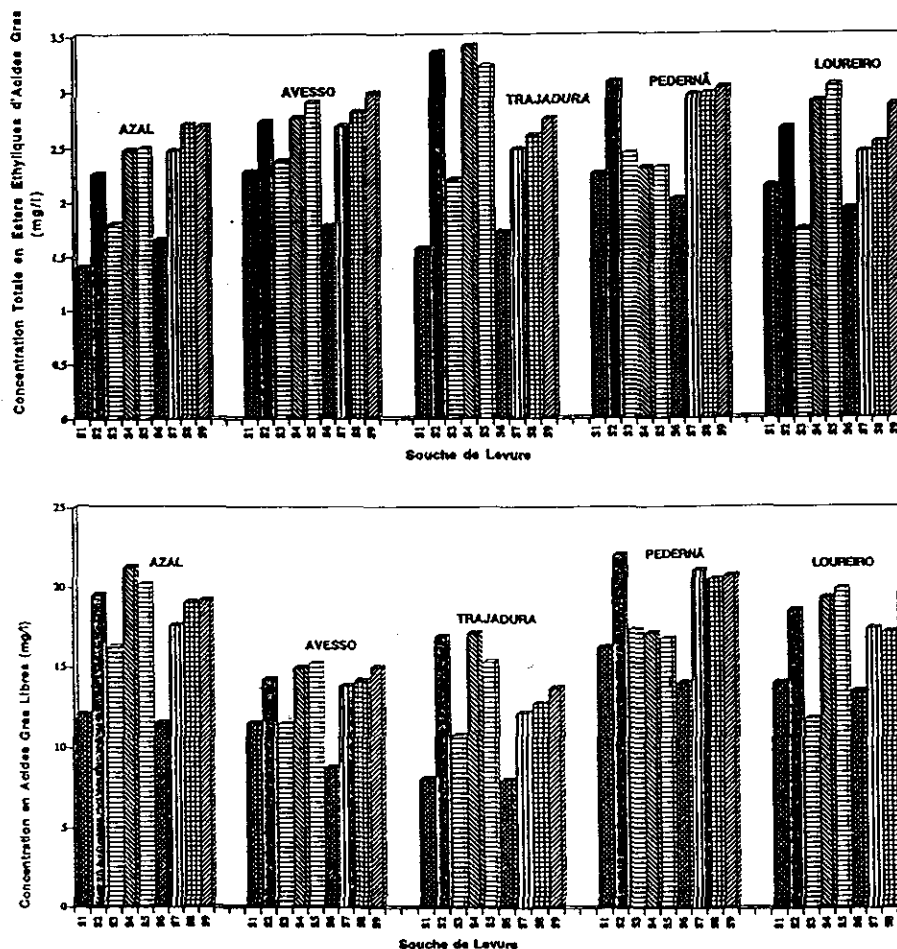


Figure 3 - Concentration totale en esters éthyliques d'acides gras (hexanoate d'éthyle, octanoate d'éthyle, décanoate d'éthyle et dodécanoate d'éthyle) et concentration totale en acides gras libres (hexanoïque, octanoïque, décanoïque et dodécanoïque) des différents vins issus des cinq cépages.
(S1, S2, S3, S7, S8 et S9 - souches de *Saccharomyces cerevisiae*; S4, S5 et S6 - souches de *Saccharomyces bayanus*)

En ce qui concerne la concentration totale en esters éthyliques d'acides gras (hexanoate d'éthyle, octanoate d'éthyle, décanoate d'éthyle et dodécanoate d'éthyle), des différences moins importantes que dans le cas précédent sont observées parmi les vins issus du même cépage (cf. Figure 3). Ces différences atteignent une valeur de 2.1 pour le cépage Trajadura. D'une façon générale, sont les souches S1 et S6 qui conduisent aux vins les plus pauvres en esters éthyliques d'acides gras.

Le profil des esters éthyliques d'acides gras dans les différents vins correspond au profil d'acides gras libres observé (cf. Figure 3); les souches S1 et S6 sont également celles qui conduisent aux concentrations plus faibles en acides gras libres (hexanoïque, octanoïque, décanoïque et dodécanoïque). D'après Torres-Alegre (1982), il existe une relation linéaire entre la formation dans la levure des acides gras libres et les esters correspondants.

La concentration en phényl-2 éthanol, seul alcool à posséder une odeur agréable rappelant la rose, ne dépasse pas 30 mg/l dans les vins Azal, Avesso, Trajadura (à une exception près) et Pedernã (cf. Figure 4). Néanmoins, la teneur de ce composé dans les vins Loureiro est nettement plus élevée et atteint des valeurs supérieures à 60 mg/l.

La concentration totale en alcools supérieurs (propanol-1, butanol-1, butanol-2, méthyl-2 propanol-1, méthyl-2 butanol-1, méthyl-3 butanol-1) dans les différents vins varie environ de 200 à 300 mg/l, à l'exception des vins Loureiro où cette concentration atteint 370 mg/l (cf. Figure 5). Les alcools supérieurs ont des odeurs désagréables et une teneur totale supérieure à 500 mg/l peut nuire à la qualité aromatique du vin (6). En revanche, lorsque la somme de leurs concentrations est inférieure à 300 mg/l, ces composés exercent une certaine contribution positive à la complexité de l'arôme du vin (9).

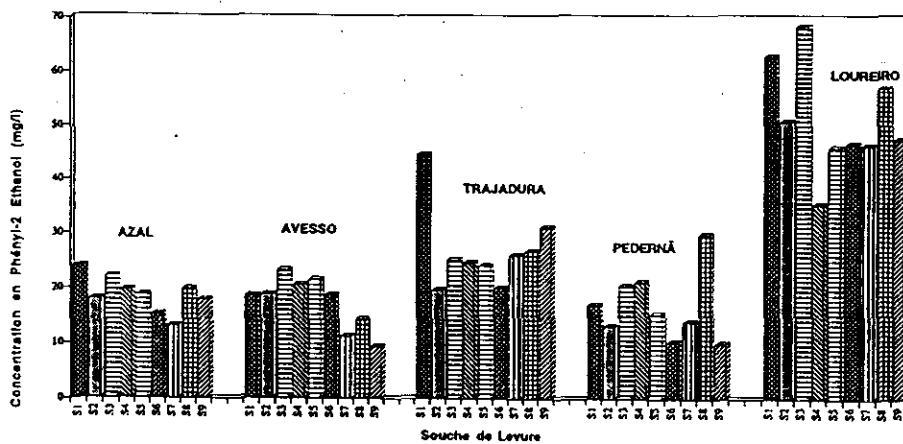


Figure 4 - Concentration en phényl-2 éthanol des différents vins issus des cinq cépages.

(S1, S2, S3, S7, S8 et S9 - souches de *Saccharomyces cerevisiae*; S4, S5 et S6 - souches de *Saccharomyces bayanus*)

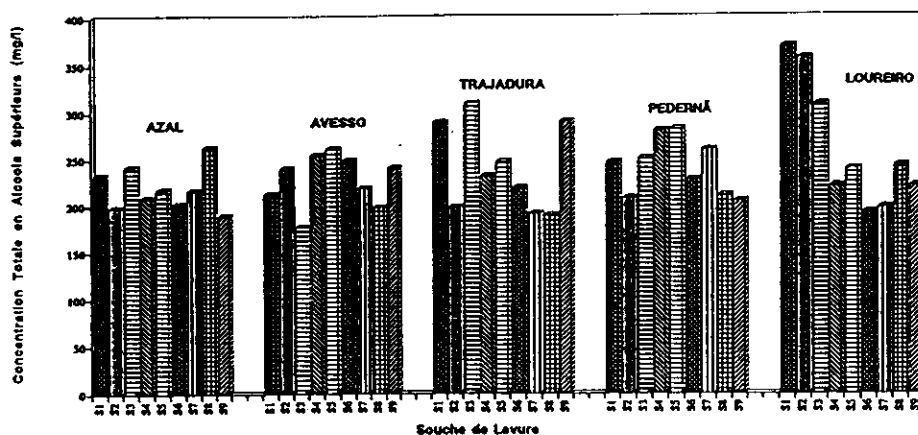


Figure 5 - Concentration en alcools supérieurs (propanol-1, butanol-1, butanol-2, méthyl-2 propanol-1, méthyl-2 butanol-1, méthyl-3 butanol-1) des différents vins issus des cinq cépages. (S1, S2, S3, S7, S8 et S9 - souches de *Saccharomyces cerevisiae*; S4, S5; et S6 - souches de *Saccharomyces bayanus*)

Deux analyses statistiques multidimensionnelles, Analyses en Composantes Principales, des résultats obtenus par analyse chimique et par analyse sensorielle ont été effectuées. Ce type d'analyse permet de réduire le nombre de variables à prendre en considération, en fonction de leur association, et montre aussi celles qui varient dans le même sens et celles qui s'opposent. Par ailleurs, elle fournit une interprétation complémentaire des observations, leur répartition, ressemblance et dissemblance.

Les variables chimiques utilisées dans l'Analyse en Composantes Principales sont les suivantes:

Variables Chimiques

- AET - acétate d'éthyle
- AGL - somme des acides gras libres (hexanoïque, octanoïque, décanoïque et dodécanoïque)
- ETB - butyrate d'éthyle
- HEX - hexanol-1
- LE - lactate d'éthyle
- FHE - phényl-2 éthanol
- MEO - méthanol
- SDE - succinate de diéthyle
- SAS - somme des alcools supérieurs (propanol-1, butanol-1, butanol-2, méthyl-2 propanol-1, méthyl-2 butanol-1, méthyl-3 butanol-1)
- SEA - somme des esters acétates d'alcools supérieurs (acétate d'isoamyle, acétate d'hexyle et acétate de phényl-2 éthyle)
- SEE - Somme des esters éthyliques d'acides gras (hexanoate d'éthyle, octanoate d'éthyle, décanoate d'éthyle et dodécanoate d'éthyle)
- SHE - somme des hexenol (trans-hexène-3 ol, cis-hexène-3 ol, trans-hexène-2 ol)

Variables supplémentaires : MAL - acide malique
SHI - acide shikimique

Sur la Figure 6 sont présentées les projections des variables chimiques et des individus (les vins) sur les axes 1 et 2. La variabilité représentée par l'axe 1 (Composante Principale 1) est de 30.6%; la deuxième composante a 17.2% de la variation totale et regroupe les variables capables de représenter la plus grande part de la variance résiduelle, corrélées entre elles et non corrélées avec les variables de la première composante principale.

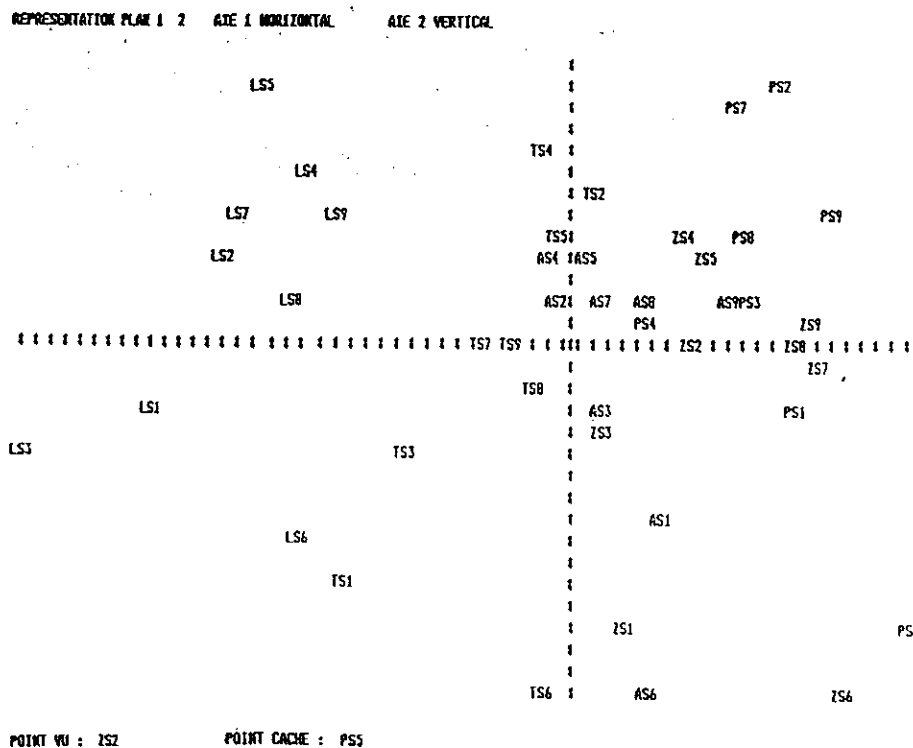
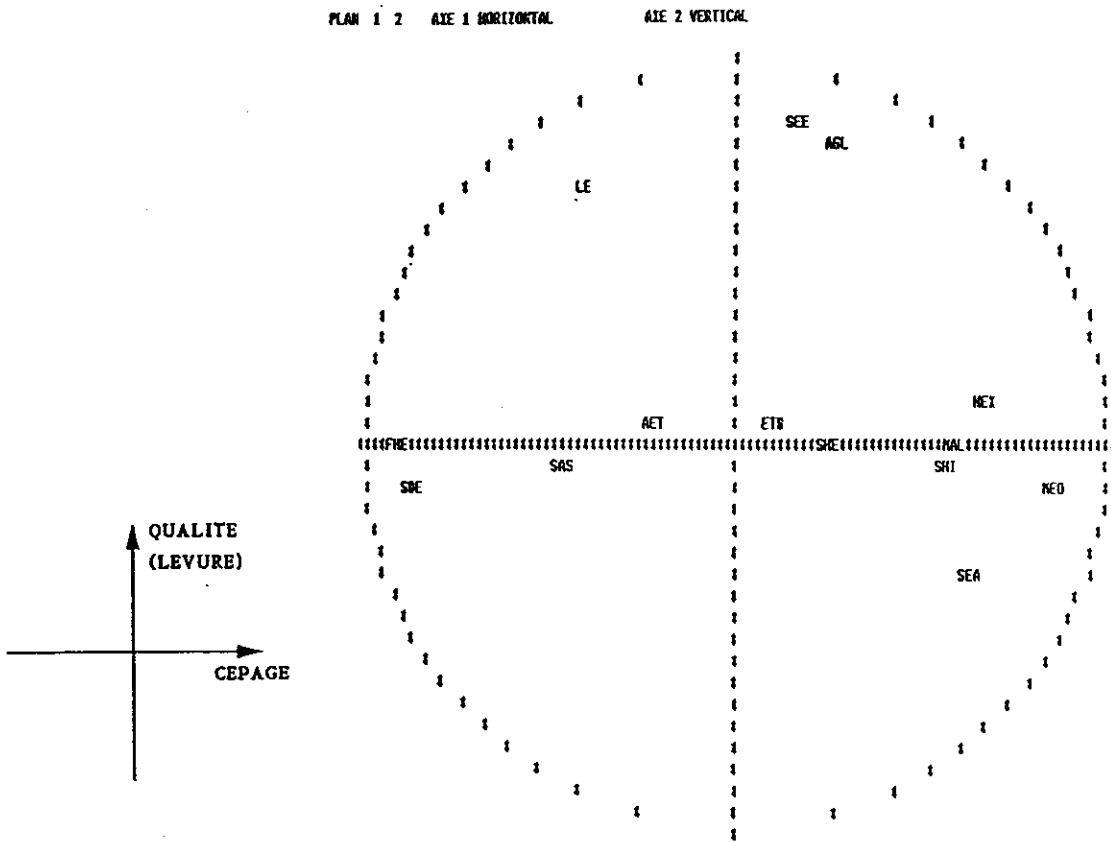


Figure 6 - Analyse en Composantes Principales: graphiques de la projection des variables chimiques et des vins sur le plan formé par les deux premiers axes factoriels (1 et 2).

(Code des individus : A - Avesso, Z - Azal, T - Trajadura, P - Pedernã, L - Loureiro; S1, S2, S3, S7, S8 et S9 - souches de *Saccharomyces cerevisiae*; S4, S5 et S6 - souches de *Saccharomyces bayanus*)

L'axe 1 est caractérisé par les variables MEO, HEX et SEA et, à l'opposé, par les variables SDE et FHE. Cet axe permet de séparer les cépages et de caractériser les traitements subit par la vendange. Ce dernier point est surtout indiqué par une très forte corrélation entre la Composante Principale 1 et l'hexanol et le méthanol, ainsi que entre ces deux variables (corrélation 0.614). Le positionnement des variables supplémentaires MAL et SHI (qui ne contribuent pas à la construction des axes) corrobore le fait que l'axe 1 soit un "axe cépage". L'axe 2 est fortement caractérisé par les variables SEE et AGL et, dans une moindre mesure, par la variable LE; la variable SEA, bien que faiblement corrélée, est en opposition avec les trois variables précédentes. Cet axe peut être considéré comme l'axe de qualité.

La représentation des individus sur le plan 1, 2 montre une très bonne séparation des cépages par l'axe 1, en particulier des cépages Pedernã, Trajadura et Loureiro. Ce dernier s'identifie également par sa forte richesse en phényl-2 éthanol et sa faible teneur en esters acétates d'alcools supérieurs. L'axe 2 permet de séparer les levures d'implantation. Pour chaque cépage, les vins fermentés avec les souches de levures S1 et S6 sont bien différenciés négativement; la plus grande partie de vins (fermentés avec les souches S2, S4, S5, S7, S8 et S9) sont situés d'une façon aproximativement homogène sur le plan; les vins produits avec la souche S3 sont situés dans une catégorie intermédiaire entre les deux catégories précédentes.

Une Analyse en Composantes Principales a également été effectuée à partir des résultats de l'Analyse Sensorielle. Les variables sensorielles utilisées dans l'Analyse en Composantes Principales sont les suivantes:

Variables Sensorielles

PAR - typicité
IAR - intensité aromatique
PG - pureté du goût
IG - intensité du goût
CG - structure
HG - harmonie
NF - note finale

La Figure 7 montre les projections des variables sensorielles et des individus (les vins) sur les axes 1 et 2. Ces axes représentent respectivement 86% et 4% de la variabilité totale. Toutes les variables sont représentatives de la qualité du vin et elles sont toutes situées dans la partie négative de l'axe 1; la Composante Principale 1 représente l'axe qualité, identifié entre autre par la variable Note Finale.

Les individus sont séparés par l'axe 1 en trois groupes. Les dégustateurs ont une préférence par un ensemble restreint de vins et ont rejeté six vins. Les autres vins sont considérés comme moyens. Pour chaque cépage, les vins produits avec les souches de levures S1 et S6 sont considérés de moindre qualité (note finale plus faible), ce qui correspond à la discrimination de ces vins par l'Analyse en Composantes Principales des variables chimiques. Dans le groupe de vins considérés comme moyens, la structure et l'intensité aromatique (teneur très forte en esters acétates d'alcools supérieurs) pourrait expliquer le positionnement des vins issus des souches S1 et S6 sur l'axe 2 positif.

L'analyse multidimensionnelle, Analyse des Composantes Principales, a permis de différencier certaines levures, aussi bien à partir des résultats de l'analyse chimique que des résultats de l'analyse sensorielle. Il existe une certaine cohérence entre les deux types d'approche. Dans tous les cépages trois mêmes souches de levures (S1, S3, et S6) ont conduit à des vins considérés de moindre qualité. Les levures ont un effet sur certains paramètres de qualité du vin, à savoir les esters éthyliques d'acides gras, les acides gras libres, les esters acétates d'alcools supérieurs et, dans une moindre mesure, les alcools supérieurs.

CERCLE DES CORRELATIONS

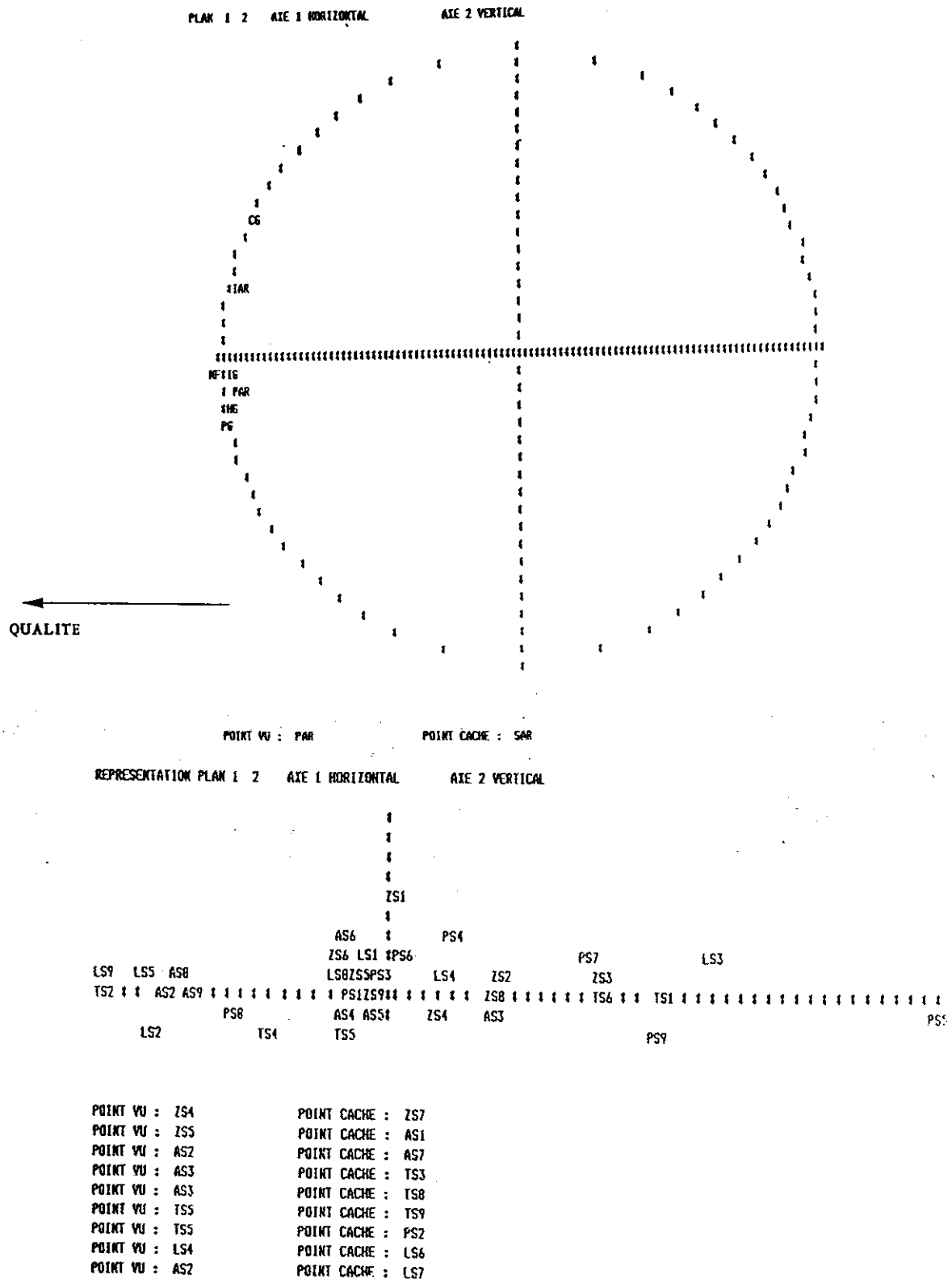


Figure 7 - Analyse en Composantes Principales: graphiques de la projection des variables sensorielles et des vins sur le plan formé par les deux premiers axes factoriels (1 et 2).

(Code des individus : A - Avesso, Z - Azal, T - Trajadura, P - Pedernã, L - Loureiro; S1, S2, S3, S7, S8 et S9 - souches de *Saccharomyces cerevisiae*; S4, S5 et S6 - souches de *Saccharomyces bayanus*)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. SOUFLEROS, E. et BERTRAND, A. (1979) Rôle de la souche de levure dans la production des substances volatiles au cours de la fermentation de jus de raisin. *Connaissance Vigne et Vin* 13, 181-189.
2. STRYDOM, M. (1985) Caractérisation de quatorze souches de levures par leurs capacités de fermentation et par la composition et qualité du vin produit. *Bull. O. I. V.* 649, 218-222.
3. POLO, M. C., MARTIN-CORDERO, P. et CABEZUDO, M. D. (1984) Influence des caractéristiques variétales de moûts de cépages différents sur la fermentation alcoolique par une seule souche de levure sélectionnée. *Bull. O. I. V.* 638, 312-321.
4. MARCHETTI, R. et GUERZONI, M. E. (1987) Effets de l'interaction souche de levure/composition du moût sur la production, au cours de la fermentation, de quelques métabolites volatils. *Connaissance Vigne et Vin* 21, 113-125.
5. NYKANEN, L. (1986) Formation and Occurrence of Flavor Compounds in Wine and Distilled Alcoholic Beverages. *Am. J. Enol. Vitic.* 37, 84-96.
6. BERTRAND A. (1981) Formation des substances volatiles au cours de la fermentation alcoolique. Incidence de la qualité du vin. *Coll. Soc. Fr. Microbiol.*, Reims, France, 251-267.
7. ESCOPIER, B. et PAGES, J. (1990) Analyses factorielles simples et multiples. Objectifs, méthodes et interprétation. *Dunod Ed. (2ème ed.)*, Paris.
8. TORRES-ALEGRE, V. M. (1982) Formation des acides gras et autres produits secondaires au cours de la vinification. Interprétation statistiques des résultats. *Thèse Docteur-Ingénieur*, Université de Bordeaux II, France.
9. RAPP, A. and VERSINI, G. (1991) Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. *In Proc. of the Int. Symp. on Nitrogen in Grapes and Wine*, Seattle, Washington, US, 156-164.