

---

## LA FERMENTATION MALOLACTIQUE DANS LES VINS

Michèle Guilloux-Bénatier<sup>1</sup>

Le développement des bactéries lactiques dans le vin assure la fermentation malolactique (FML):



FML: étape essentielle de l'élaboration des vins:

- assouplissement gustatif par perte d'acidité
- amélioration de la stabilité microbiologique
- augmentation de la complexité aromatique du vin et stabilisation de la couleur des vins rouges

Fermentation encore souvent mal maîtrisée notamment dans les vins acides et/ou alcoolisés.

Cas des vins blancs des régions septentrionales comme la Bourgogne:

pH (3,1-3,3), Ethanol (13-14%)

Populations bactériennes souvent faibles dans le vin en fin de fermentation alcoolique (10 - 10<sup>3</sup> UFC/mL).

Espèce majoritaire: *Oenococcus oeni*.

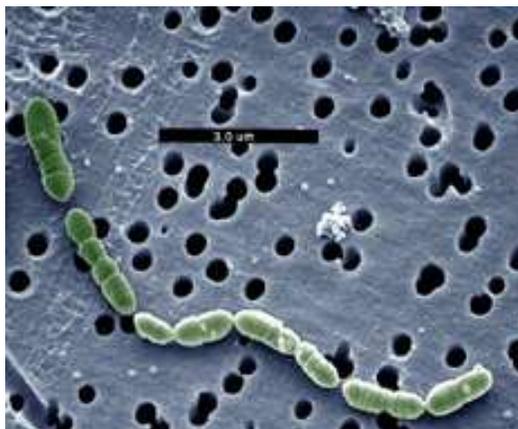


Fig.1. *Oenococcus oeni*.

---

<sup>1</sup> Institut Universitaire de la Vigne et du Vin "Jules Guyot", Dijon, France

Or, la FML n'est possible qu'avec une population suffisante d'environ 106 UFC/mL.

**Multiplification des bactéries nécessaire**

- ⇒ connaissance des facteurs jouant sur leur développement
- ⇒ connaissance des besoins énergétiques et nutritifs des bactéries

**Maîtrise du développement bactérien**

- ◆ Facteurs physico-chimiques: pH, Ethanol, Température, SO2
- ◆ Techniques de vinification: macération carbonique, clarification, macération pelliculaire, élevage sur lies
- ◆ Pratiques œnologiques: écorces de levures, bactéries sélectionnées
- ◆ Interactions pouvant exister notamment avec les levures assurant la fermentation alcoolique:



- Production de métabolites inhibiteurs
- Diminution des éléments nutritifs du milieu
- Libération de composés activateurs

**Travaux de Recherche menés actuellement à Dijon sur le métabolisme azoté**

**Pourquoi sur *Oenococcus oeni* ?**

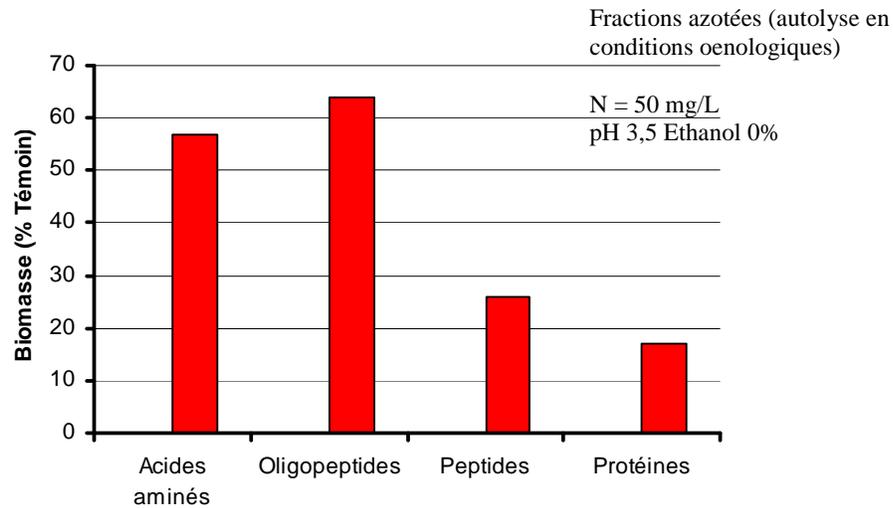
- Ce sont les bactéries les plus intéressantes pour réaliser la FML car peu de défauts sensoriels peuvent leur être attribués
- Les starters malolactiques sont tous réalisés avec cette espèce
- Toutes les autres espèces sont indésirables même si tous les bacilles et pédiococques ne sont pas considérés comme des germes d'altération

**Pourquoi métabolisme azoté bactérien ?**

	Moût	Vin fin FA	Elevage
N total (mg N/L)	100 - 1100	70 - 800	↑
NH4+ (mg N/L)	20 - 250	- de 10	
Acides aminés (% N total)	60 - 80	40 - 60	↑
Peptides (% N total)	1 - 4	30 - 50	↑
Protéines (% N total)	2 - 5	2 - 3	↑

### Quelles formes d'azote utilisables par *Oenococcus oeni* ?

- Forme minérale  $\text{NH}_4^+$ : non utilisable
- Forme organique: utilisable mais efficacité différente



⇒ Existence chez *Oenococcus oeni* d'activités enzymatiques: protéase extracellulaire et peptidases

⇒ Leur teneur est:

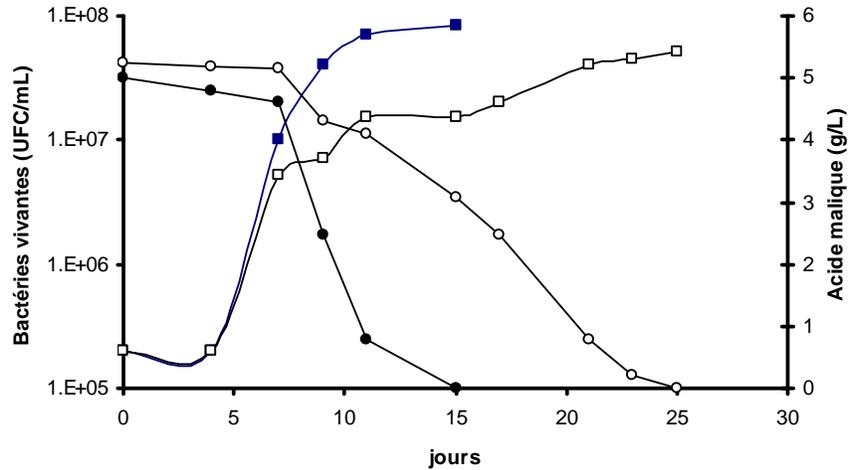
- variable selon la souche bactérienne
- fonction de la nature de la source azotée du milieu
- et aussi fonction de la richesse en azote du milieu

### Quels besoins quantitatifs en azote organique ?

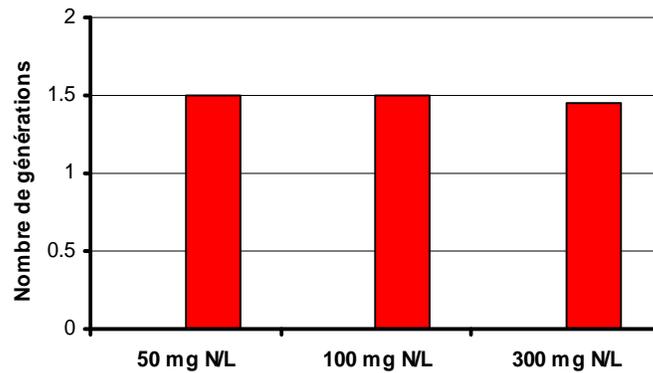
Besoins quantitatifs faibles car les teneurs en azote des milieux fermentés sont faibles mais elles s'avèrent cependant suffisantes pour assurer des biomasses comparables à celles obtenues dans des vins en cours de fermentation malolactique.

Concentrations en azote (mg N/L) des vins obtenus après FA des 2 levures:

- levure sauvage: 69
- levure protéase: 27



● : Levure sauvage    □ : Levure mutante (protéase -)  
pH 3,5, Ethanol 10%



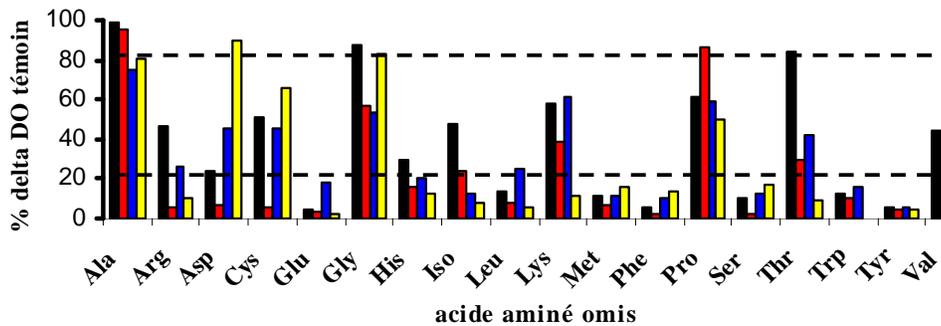
### Quels besoins quantitatifs en acides aminés ?

- ⇒ Besoins faibles car croissance avec seulement 50 mg N/L
- ⇒ Pas d'amélioration si la concentration augmente

Protocole: Technique de l'omission d'un acide aminé du milieu de culture et comparaison de la biomasse obtenue par rapport à celle obtenue pour le milieu dit témoin contenant tous les acides aminés;

#### Interprétation:

- si croissance > 80% de celle du témoin: acide aminé **indifférent**
- si croissance < 20% de celle du témoin: acide aminé **essentiel**
- si croissance > 20% mais < 80% de celle du témoin: acide aminé **nécessaire**

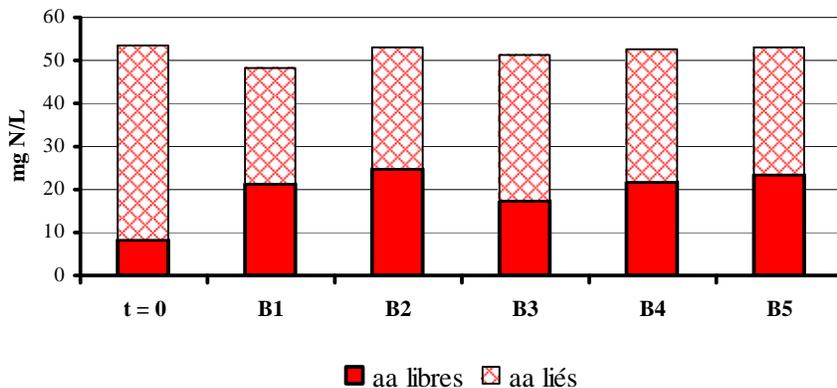


(Résultats obtenus pour 4 souches de *Oenococcus oeni*)

- Les souches sont **particulièrement exigeantes** car 7 à 13 acides aminés sont essentiels
- Seuls 3 acides aminés: alanine, glycine et proline ont peu d'effet sur la croissance des souches
- 6 acides aminés sont essentiels pour toutes les souches : acide glutamique, méthionine, sérine, phénylalanine, tryptophane et tyrosine.

**Quels besoins quantitatifs en peptides ?**

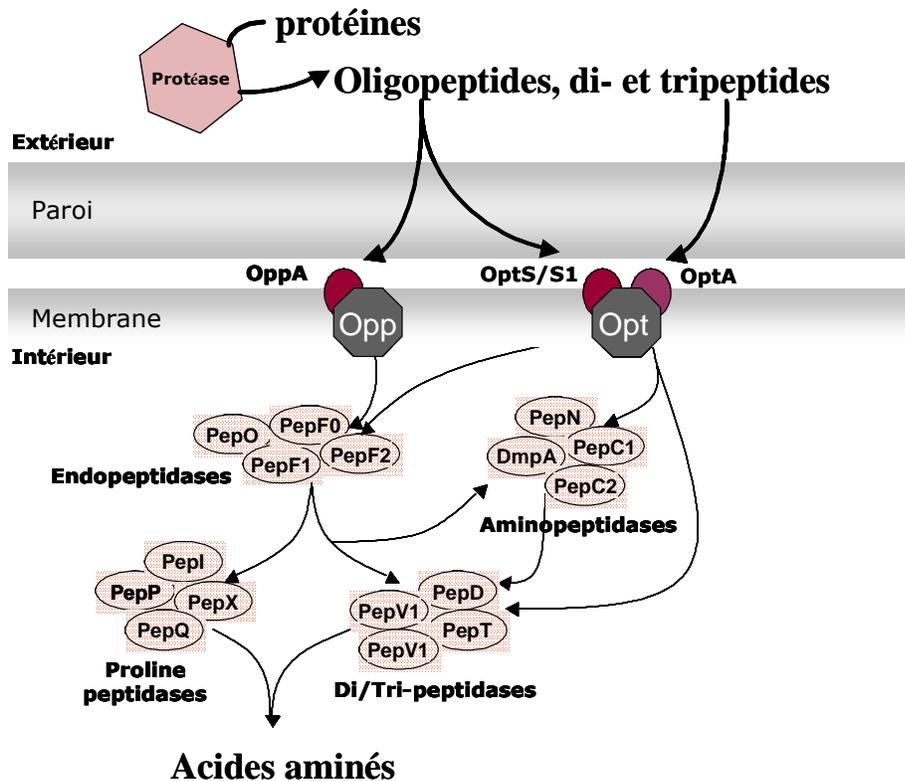
- ⇒ Besoins faibles car croissance possible avec une consommation de seulement 10 à 15 mg N/L provenant des peptides
- ⇒ Un peptide peut remplacer le manque d'un acide aminé essentiel dans le milieu mais cela dépend du peptide présent.



Consommation d'azote après 24 h de culture dans un milieu contenant des peptides de levures (500 Da - 10 000 Da), pH 5,3 Ethanol 0%

- Leu	-
- Leu + Leu-Leu	+
- Leu + Leu-Leu-Leu	+
- Leu + Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu	-
- Phe	-
- Phe + Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu	-
- Phe + Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe	+

**Gènes potentiellement impliqués dans le métabolisme azoté:**



**Etudes en cours:**

- Suivi de l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme azoté en fonction de la nature de la source azotée
- Quantification des activités enzymatiques mises en jeu
- Transport des peptides