La fermentation malolactique dans les vins :

De la théorie à la pratique

La fermentation malolactique: bactéries, fonctionnement, conséquences et pilotage

Emy HEGUIAPHAL – emy.heguiaphal@vignevin.com

Colloque EUROVITI – mercredi 18 janvier 2023



DE LA VIGNE ET DU VIN





La fermentation malolactique?

$$HO \longrightarrow H_3C-CH-C O + CO_2$$

Acide L-malique

Acide L-lactique

Facteurs influençant la fermentation malolactique Température

рΗ

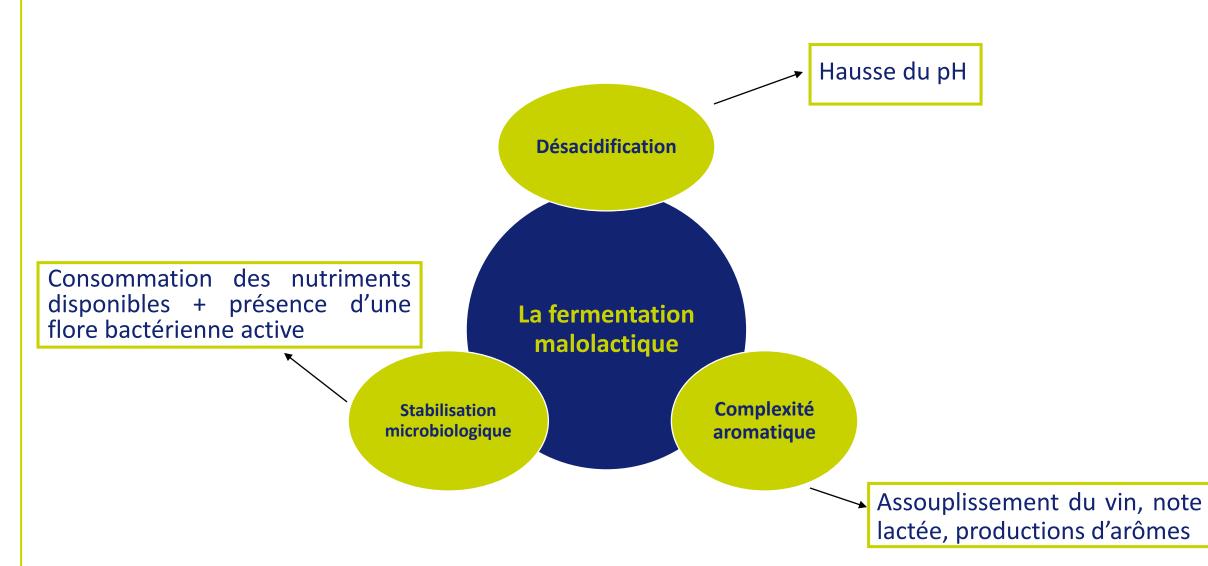
Concentration en SO₂

Concentration en éthanol

Concentration en acide L-malique, moment d'inoculation, interactions avec les levures, oxygène etc

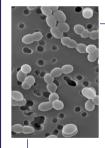


Intérêts de la FML?



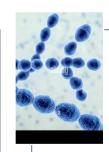


Les micro-organismes mis en jeu



Oenococcus oeni:

principale souche réalisant la FML en vin



Leuconostoc mesenteroides

<u>Hétérofermentaire</u> :

Production d'acide acétique en consommant les sucres



Lactoplantibacillus: plantarum, hilgardii, brevis etc



Pediococcus: acidilactici, damnosus, parvulus etc

Homofermentaire:

Peu ou pas de production d'acide acétique en consommant les sucres

→ La biodiversité des bactéries lactiques en vinification est multifactorielle, avec comme facteur principal le pH.



Pilotage de la FML : mode d'ensemencement

Bactéries commerciales

- Ensemencement de bactéries sèches actives sélectionnées
- Ajout d'une population à environ 10^E6 ufc/ml
- Risque d'altération limité

Pied de cuve

Indigène



Comment sélectionne-t-on une bactérie?





Prélèvements de vin en FML spontanée de tous les vignobles



Mise en culture, isolement et mise en collection des bactéries dans le CRB (Centre de Ressources Biologiques)



Caractérisation des souches de bactéries : génotypage et phénotypage



Comment sélectionne-t-on une bactérie?





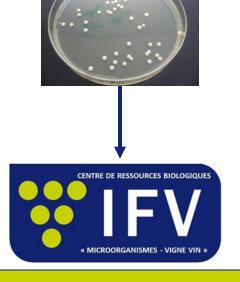
Prélèvements de vin en FML spontanée de tous les vignobles



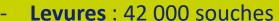
Mise en culture, isolement et mise en collection des bactéries dans le CRB (Centre de Ressources Biologiques)







Caractérisation des souches de bactéries : génotypage et phénotypage



Bactéries: 12 000 souches

Moisissures: 15 000 souches



Comment sélectionne-t-on une bactérie?





Prélèvements de vin en FML spontanée de tous les vignobles

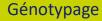


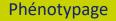
Mise en culture, isolement et mise en collection des bactéries dans le CRB (Centre de Ressources Biologiques)





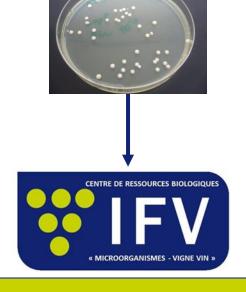








Caractérisation des souches de bactéries : génotypage et phénotypage



Levures: 42 000 souches

Bactéries: 12 000 souches

Moisissures: 15 000 souches



Caractérisation des bactéries lactiques : génotypage et phénotypage

- Génotypage : Détermination de la structure génétique d'un organisme
- Etude la diversité :
 - *Identification interspécifique* : la technique 16S ARDRA permet une identification des espèces
 - Identification intraspécifique : les techniques RAPD, ALFP ou encore VNTR permettent de différencier les souches à des degrés plus ou moins importants



Caractérisation des bactéries lactiques : génotypage et phénotypage

• Génotypage : Détermination de la structure génétique d'un organisme

• Etude la diversité :

- *Identification interspécifique* : la technique 16S ARDRA permet une identification des espèces
- Identification intraspécifique : les techniques RAPD, ALFP ou encore VNTR permettent de différencier les souches à des degrés plus ou moins importants

• Intérêt œnologique :

• Sélection de souches pour les levains malolactiques : critères de sélection génétique avec la détection de « gènes d'intérêt » ou de « gènes d'altération »



Caractérisation des bactéries lactiques : génotypage et phénotypage

• <u>Phénotypage</u> : caractérisation du phénotype, l'ensemble des caractères apparents d'un individu, correspondant à une réalisation du génotype.

EN PETIT VOLUME:

→ Screening d'une collection de bactéries pour mesurer la capacité fermentaire dans différentes conditions

→ Définition des fenêtres d'application en fonction des facteurs influençant

EN GRAND VOLUME:

Test de capacité fermentaire à partir de bactéries sèches sur plusieurs matrices





Echelle laboratoire

Pilotage de la FML : mode d'ensemencement

Bactéries commerciales

- Ensemencement de bactéries sèches actives sélectionnées
- Ajout d'une population à environ 10^E6 ufc/ml
- Risque d'altération limité

Pied de cuve

- Ensemencement de bactéries acclimatées à partir de lies
- Ajout d'une population active pour limiter la phase de latence
- Développement d'un protocole en Nouvelle Aquitaine (projet « Pied de cuve Malobio »)

Indigène



Pilotage de la FML : mode d'ensemencement

Bactéries commerciales

- Ensemencement de bactéries sèches actives sélectionnées
- Ajout d'une population à environ 10^E6 ufc/ml
- Risque d'altération limité

Pied de cuve

- Ensemencement de bactéries acclimatées à partir de lies
- Ajout d'une population active pour limiter la phase de latence
- Développement d'un protocole en Nouvelle Aquitaine (projet « Pied de cuve Malobio »)

Indigène

- Réalisation de la FML par bactéries indigènes présentes naturellement dans le vin (FML spontanée)
- Risque plus important d'altérations





Pilotage de la FML : <u>moment</u> d'ensemencement

(Oenococcus oeni et Lactoplantibacillus plantarum)

La co-inoculation :

inoculation des bactéries directement en moût au même moment que l'inoculation des levures ou entre 24 et 48h après



Pilotage de la FML : <u>moment</u> d'ensemencement

(Oenococcus oeni et Lactoplantibacillus plantarum)

La co-inoculation :

inoculation des bactéries directement en moût au même moment que l'inoculation des levures ou entre 24 et 48h après



L'inoculation « précoce » :

inoculation au 2/3 de la fermentation alcoolique



Pilotage de la FML : <u>moment</u> d'ensemencement

(Oenococcus oeni et Lactoplantibacillus plantarum)

La co-inoculation :

inoculation des bactéries directement en moût au même moment que l'inoculation des levures ou entre 24 et 48h après (Oenococcus oeni)

L'inoculation séquentielle :

inoculation en post fermentation alcoolique

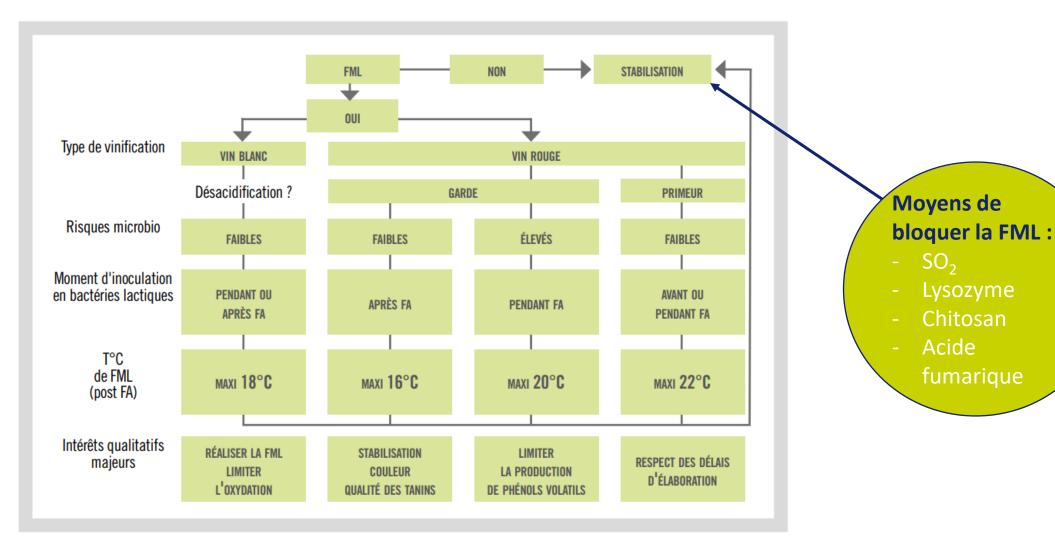


L'inoculation « précoce » :

inoculation au 2/3 de la fermentation alcoolique



Pilotage de la FML : conduite de la FML et maîtrise des risques microbiologiques selon le profil de vin recherché





Conséquences et déviations possibles

- <u>Piqure lactique</u>: production d'acide acétique (et mannitol) à partir des sucres
 - → Formation de quantité importante d'acide acétique et donc montée de l'acidité volatile lors de développement de bactéries dans un milieu riche en sucres (arrêt de fermentation, fermentation languissante, vins de liqueur etc).
 - → Donne un goût « piqué » et « fromagé »
- <u>Maladie de la tourne</u> : dégradation de l'acide tartrique en acide acétique, acide lactique et acide succinique
 - → Le vin s'affadit et devient gazeux en perdant sa fraicheur de son acidité (perte de couleur pour les rouges)
- <u>Amertume</u> : dégradation du glycérol en acroléine
 - > Formation de l'acroléine qui est un aldéhyde utilisé pour la fabrication de matières plastiques, de parfums etc
 - → Par réaction avec les polyphénols du vin essentiellement les anthocyanes, l'acroléine provoque l'apparition de saveurs amères



Conséquences et déviations possibles

- <u>Maladie de la graisse (ou maladie des vins « filants »)</u> : formation de glucane (exopolyssacharide)
 - → Augmentation de la viscosité du vin en le rendant filant et gras
- Goûts de souris : formation de N-hétérocycles à partir de la lysine et l'ornithine
 - → Formation de molécules détectables uniquement en bouche donnant un goût « pop corn » ou « charcuterie » ou « riz » ou « cage de rongeur »

- <u>Amines biogènes</u> : production d'amines biogènes à partir de la décarboxylation des acides aminés
 - → Production de molécules (putrescine histamine tyramine) ayant une incidence sur la santé (maux de têtes) ou pouvant créer un effet de « masque » aromatique



Conclusion

- Bien qu'étant une étape optionnelle en œnologie
 - →elle est indispensable dans certains itinéraires
- De plus, en fonction des paramètres de la matrice, elle peut soit se faire :
 - De manière spontanée par les bactéries indigènes
 - Ou alors être déclenchée par l'apport de microorganismes sélectionnés.
 - Ou par l'apport d'un pied de cuve préparé à partir de lies
 - → Malgré un ajout de bactéries sélectionnées, le déclenchement et la réalisation complète de la FML ne sont pas toujours garantis et peut, de plus, apporter des déviations.
- Evolution des pratiques :
 - Baisse de l'utilisation des intrants (plus particulièrement du SO₂)
 - Changement climatique (modification des matrices avec hausse du pH et du TAV notamment)
 - → La compréhension et la maitrise de la fermentation malolactique deviennent importantes afin de continuer à produire des vins de qualité.



Merci pour votre attention

Perspectives:

- Démarrage en 2023 d'un projet CASDAR :
- « VePi VICI ; Vers le Pilotage de la Fermentation Malolactique pour maitriser la Qualité des Vins et Cidres de demain »
- 1. Fiabiliser le déclenchement de la FML selon les conditions du moût initial et de fermentation alcoolique (FA) en adaptant le choix des bactéries, basé sur leur caractérisation génétique et phénotypique, ou en ajustant les conditions fermentaires (vins de bouche, cidres, vins de base de distillation),
- 2. Proposer des solutions pour piloter des FML de qualité en utilisant les acquis précédents pour opérer des choix de souches et technologiques.
- Volonté de travailler en région sur la thématique > si vous êtes intéressé, n'hésitez pas à nous contacter !











Emy HEGUIAPHAL
Institut Français de la Vigne et du Vin
Château de la Frémoire
44120 VERTOU

Tel: 06 76 42 94 14

Mail: emy.heguiaphal@vignevin.com





