

## DIAGNOSTIC ET RECTIFICATION DES ARRETS DE FERMENTATION

Linda F. Bisson

Department of Viticulture and Enology  
University of California, Davis – Etats-Unis

### Résumé

Les fermentations lentes et incomplètes ou les arrêts de fermentation des levures constituent des problèmes chroniques pour l'industrie vinicole à travers le monde. Ces problèmes de fermentation surviennent en raison de la présence de divers facteurs de stress dans l'environnement des levures et de leurs effets, dont certains sont inévitables et d'autres résultent de décisions de gestion de la fermentation inappropriées. Pendant que les levures s'adaptent à ces conditions de stress, les taux de fermentation s'ajustent pour maintenir la viabilité cellulaire. Si les conditions deviennent difficiles au point que la poursuite de l'activité métabolique entraîne la mort des cellules, celles-ci interrompent leur métabolisme et leur consommation en sucre, et entrent dans une phase spécifique de repos. Au cours d'une certaine période, ce processus d'adaptation au stress peut être inversé ou modifié, et les cellules encouragées à reprendre la fermentation ou pas. Le traitement efficace d'une fermentation lente ou arrêtée repose à la fois sur l'identification de la source de stress et sur les aptitudes à corriger le problème.

Le profil de fermentation donne une représentation du taux d'appauvrissement en sucre du jus ou du moût. Ce profil change face au stress et il est souvent possible d'établir les causes du problème les plus probables en déterminant la nature de la déviation d'un profil de fermentation normal. La connaissance de ce profil ainsi que des décisions de gestion de fermentation et des questions spécifiques de composition du fruit ou de la microflore du chai permet de réduire considérablement la fréquence des fermentations à problème. Néanmoins, la découverte d'un arrêt de fermentation intervient souvent après le moment auquel les conditions de stress peuvent être modifiées. Dans ce cas, la seule option restante pour le vinificateur est d'essayer de redémarrer la fermentation. Un redémarrage réussi des fermentations implique également de comprendre les mécanismes et les causes d'un arrêt de fermentation.

### Introduction

Les problèmes liés à la progression de la fermentation alcoolique apparaissent de manière sporadique au cours de la production du vin. Une fermentation lente des levures offre une rétention accrue des arômes volatiles, mais il est difficile de prédire la date à laquelle elle se termine, et l'espace nécessaire pour les cuves n'est pas nécessairement disponible pour une durée indéfinie. En fait, seule une partie des fermentations languissantes s'arrête, mais pour celles qui iront jusqu'à terme, le processus peut prendre des semaines voire des mois. Au cours de cette période, il faut bien s'assurer que le vin soit protégé contre l'oxydation, car il se peut que le vin ne soit pas suffisamment recouvert de dioxyde de carbone en cas de fermentation lente [3]. Les fermentations lentes permettent également aux organismes contaminants de s'installer dans le vin en partie fermenté. Il est très courant de voir des levures non-*Saccharomyces* telles que la *Candida*, la *Pichia* et la *Torulasporea*, se développer dans les vins en fermentation languissante. Les bactéries lactiques peuvent aussi se former dans ces conditions. La croissance de ces organismes risque d'accroître le stress sur les *Saccharomyces*, entraînant ainsi un arrêt de fermentation. Le manque de conditions anaérobies à la surface peut davantage favoriser la croissance aérobie des organismes contaminants, comme l'*Acetobacter*. Un film de surface formé par les levures peut également apparaître. Les caractères que produisent ces organismes, mais aussi l'acide acétique, les acides organiques et les aldéhydes, ne sont généralement pas désirables pour les vins de table. Pour empêcher la croissance de ces organismes, soit le vin doit être recouvert artificiellement par du CO<sub>2</sub>, de l'argon ou de l'azote, soit les taux de SO<sub>2</sub> libre et d'autres agents antimicrobiens doivent être particulièrement surveillés. Ainsi, en se

trouvant confronté à des fermentations languissantes, le vinificateur peut être amené à prendre des décisions spécifiques qui auront des effets sur le style et la qualité du vin.

Il s'avère souvent difficile d'établir la différence entre une fermentation tout simplement lente mais qui arrivera à son terme, et une fermentation déjà ou bientôt arrêtée. Les arrêts de fermentation sont exposés aux mêmes problèmes que ceux cités précédemment à propos des fermentations languissantes, mais le vinificateur doit prendre les initiatives nécessaires pour assurer l'achèvement du processus de consommation des sucres, à moins que l'on ne souhaite obtenir un vin dont les sucres résiduels soient élevés. Au cours d'une année typique, la fréquence des arrêts de fermentation en Californie est de l'ordre de 1 à 5 %. Certains cépages, comme le Chardonnay et le Zinfandel, semblent plus prédisposés à des arrêts que d'autres. Au cours d'une mauvaise année, la fréquence des arrêts de fermentation peut atteindre 20 %, et toucher une plus grande variété de cépages. Certains chais rencontrent davantage de problèmes d'arrêts de fermentation que d'autres se trouvant dans la même région. En moyenne, la fréquence des arrêts semble plus élevée dans les régions au climat froid que dans celles au climat chaud. Ces observations soulignent l'importance de l'état et de la composition du fruit dans la fréquence des arrêts de fermentation, de même que des décisions de gestion de la fermentation. L'influence des saisons est également très importante. Certaines années, de nombreux chais ont à la même période des difficultés à achever la fermentation. Dans ce cas, diverses techniques de vinification ont été utilisées ; il est clairement établi que l'influence de l'environnement sur le raisin constitue la cause première du problème. Parmi les nombreuses causes d'arrêts de fermentation [1, 2, 3, 12], il peut s'avérer difficile d'en déterminer une de manière exacte.

### **Diagnostic des problèmes de fermentation**

La première étape vers le diagnostic d'une fermentation à problème est de se familiariser avec les aspects du profil de fermentation normal pour tel chai ou telle vigne et avec les souches de levures [4]. Au cours d'une fermentation typique, le glucose sera fermenté plus rapidement que le fructose, en raison des différences d'affinités entre les transporteurs de sucres pour ces deux molécules-là. La fermentation des souches *Saccharomyces cerevisiae bayanus* est généralement plus rapide que celle des souches *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*, (Figure 1A, 1B) et les deux variants de *Saccharomyces* ont un profil différent des *Saccharomyces bayanus*. Il est important de savoir que les souches *Saccharomyces cerevisiae bayanus* diffèrent des *Saccharomyces bayanus*. Les deux se confondent facilement en raison de la ressemblance de leurs noms et de leurs environnements natifs.

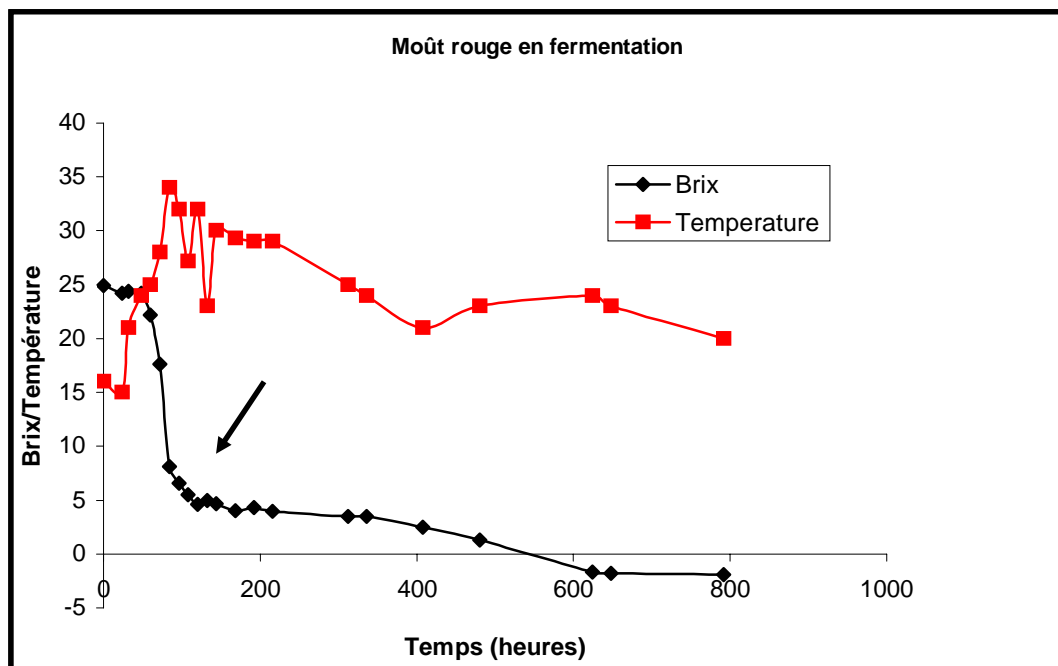


Figure 1A. Profil de fermentation type des souches *Saccharomyces cerevisiae*. La flèche indique le point de transition.

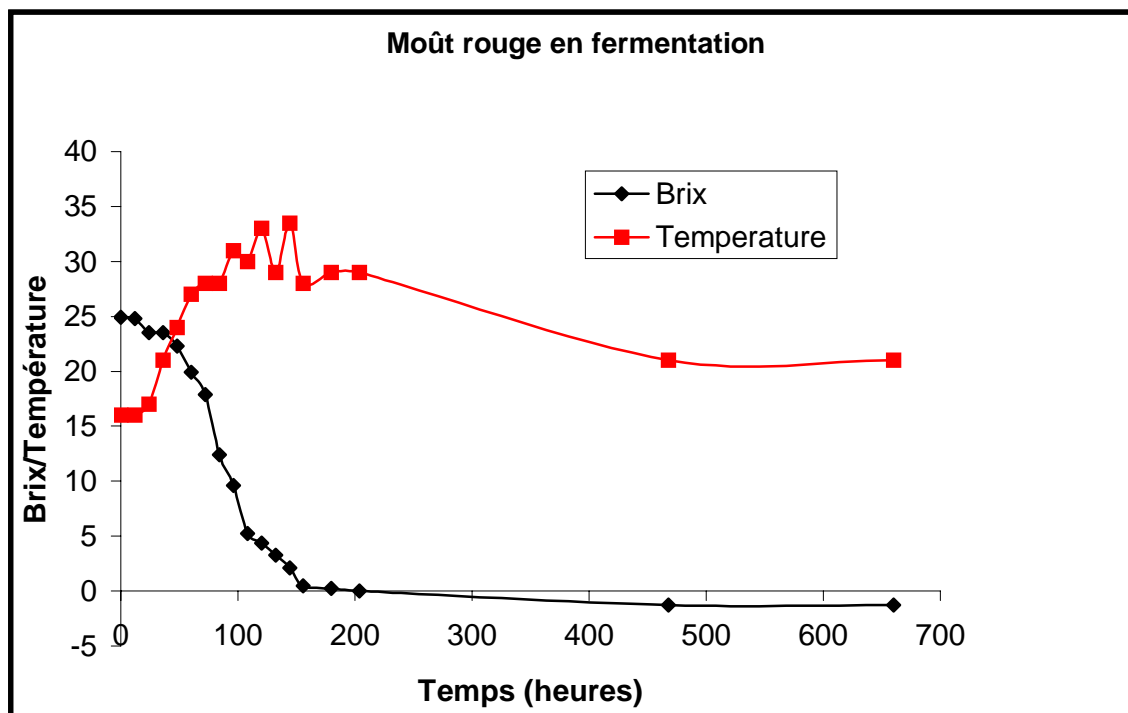


Figure 1B. Profil de fermentation type des souches *Saccharomyces bayanus*.

Il est nécessaire de contrôler la fermentation ordinaire afin qu'un profil normal puisse être développé pour les conditions spécifiques d'un chai ou d'une vigne en particulier. Il peut

s'avérer difficile de comparer la cinétique d'un moût à celle d'un autre, même si les paramètres des nutriments comme le taux d'azote sont connus. Il peut exister une gamme de profils de fermentation acceptables compatibles avec une fermentation achevée à partir du raisin de la même vigne. Ils ne peuvent être définis qu'à partir d'un ensemble de données historiques sur les profils de fermentation pour cette vigne ou ce raisin. Plus il y a d'informations disponibles, plus le vinificateur sera en mesure de différencier rapidement les fermentations normales de celles à problème.

Une souche décrite comme étant un fermenteur rapide dans un chai peut se révéler la plus lente dans un autre chai. Ce phénomène est dû non seulement aux différences de composition du jus, mais aussi aux différences de gestion de la fermentation et aux stratégies de traitement du moût ou du jus par les deux chais. Ces causes comprennent des facteurs tels que les techniques d'ensemencement, l'apport en nutriments (quantités et durée de l'ajout), le taux d'aération, la température de fermentation (moyenne et écarts), la composition du jus, l'utilisation de dioxyde de soufre, les protocoles sanitaires et les techniques de vinification telles que la macération à froid et l'extraction du chapeau à chaud, ces deux-là modifiant la composition de la flore microbienne en plus des souches de levures utilisées [5, 8, 9, 10].

Le diagnostic exact d'une fermentation à problème est essentiel afin d'achever la fermentation arrêtée mais également d'empêcher l'arrêt de se produire ultérieurement. Il existe quatre profils basiques de fermentations à problème (Figure 2) [4]. Dans le premier cas, un long retard est pris pouvant entraîner ou non des problèmes supplémentaires, en fonction des conditions de fermentation. Le second profil décrit une fermentation avec un long retard qui reste languissant tout au long de la fermentation. Ces fermentations n'atteignent jamais réellement un taux de progression « normal ». Les deux autres catégories de fermentation débutent normalement. Dans un cas, la fermentation ralentit progressivement car le taux de fermentation n'est tout simplement pas maintenu. Dans le second, un arrêt de fermentation brusque et inattendu se produit.

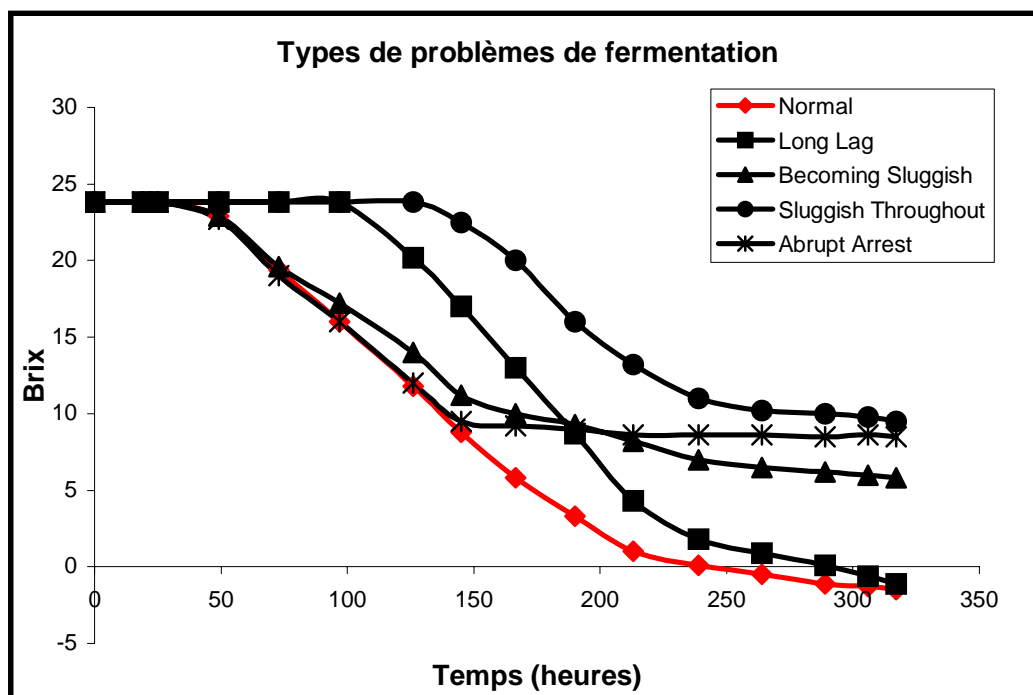


Figure 2. Types de problèmes de fermentation observés dans des conditions de production de type Californie.

### *Longue phase de latence*

La durée avant un départ de fermentation repose sur plusieurs facteurs. Au cours de cette période, la division cellulaire se produit et la biomasse cellulaire se construit. Au terme de cette période, entre  $5 \times 10^7$  et  $1 \times 10^8$  cellules/mL se forment habituellement. Plus il y a de cellules présentes, plus la fermentation se déroule rapidement. Si le vin connaît un long retard, une évaluation rapide de la population à l'aide d'un microscope ou de toute autre méthode permettant de compter les cellules sont de bons outils de diagnostic. Le vinificateur sera alors en mesure de déterminer si le retard est simplement lié à un nombre trop faible de cellules, ainsi que le temps nécessaire pour constituer une population de cellules saines. Si tel est le cas, une fois que cette population atteint son niveau maximal, la fermentation se déroulera normalement. De faibles populations au départ peuvent être dues à un nombre réduit de levures naturellement présentes sur le raisin si les moûts ne sont pasensemencés. Dans le cas contraire, les faibles populations peuvent alors être liées à une réhydratation inadaptée de la culture ou encore à la présence de conditions inhibitrices ou de composés toxiques dans le moût ou le jus. Si le moût a étéensemencé mais n'a pas démarré dans un délai de 24 à 48 heures, il peut être nécessaire de mettre les cellules en culture sur boîte de Pétri ou de réaliser des tests supplémentaires de viabilité plutôt que de compter simplement le nombre de cellules.

La température du moût ou du jus est une condition inhibitrice courante. Si le jus a subi un débouillage à froid avant l'inoculation ou si le moût a été soumis à une extraction à froid et que la cuve n'a pas été suffisamment chauffée, les levures peuvent connaître un choc thermique. De la même manière, si le moût ou le jus ont été soumis à une thermovinification ou bien à un traitement haute température courte durée HTST (High Temperature Short Time) pour inhiber la laccase ou d'autres activités enzymatiques ou microbiennes non désirées, mais pas suffisamment refroidis avant l'ajout des levures, un long retard peut avoir lieu. Il est important pour les techniciens de cave d'être formés et de comprendre les limites de la physiologie des levures pour éviter de créer des conditions ayant des effets néfastes sur la viabilité des levures.

Les conditions inhibitrices reposent sur des facteurs tels que la présence d'un dommage important des baies de raisin entraînant une élévation importante de la charge biologique du jus ou du moût. Les levures sont inhibées simplement en raison du niveau accru de compétition microbienne. Si le raisin est très abîmé, il se peut alors que les microbes sauvages aient consommé une grande partie des nutriments dont ont besoin les levures, ce qui donne un jus déficient. Dans d'autres cas, le retard n'est pas causé par le nombre total d'autres microbes mais par la présence d'organismes spécifiques qui peuvent produire des substances inhibitrices comme les acides organiques. Une erreur dans l'ajout de dioxyde de soufre a été fréquemment commise et les taux se trouvent élevés (plus de 100 mg/l). Dans ce cas, les levures auront du retard jusqu'à ce qu'elles soient capables de réduire le niveau de SO<sub>2</sub> lors de la détoxification.

Si les cuves sontensemencées à partir d'une cuve déjà en fermentation, il est important de prendre l'inoculum avant qu'il n'ait produit trop d'éthanol. Si la fermentation a accumulé plus de 7-8 % d'éthanol, les cellules se seront déjà adaptées à l'éthanol, et le choc résultant d'un remplacement dans une solution avec des niveaux élevés de sucres aboutira à un long retard pendant leur adaptation à de nouvelles conditions de croissance. La fréquence des longs retards peut habituellement être considérablement réduite en prêtant une attention particulière aux conditions d'ensemencement. La fermentation de la flore native peut ne contenir que 100 cellules/mL voire moins, selon les techniques sanitaires pratiquées dans le chai. Si le nombre de cellules de levures est faible, le long retard reflète simplement le temps supplémentaire nécessaire pour créer la population de levures. Dans ces cas, il est souvent difficile d'évaluer le nombre de levures car distinguer certaines levures sauvages des *Saccharomyces* au microscope l'est également. Un bon moyen de déterminer la densité de population des *Saccharomyces* par rapport aux autres levures est d'utiliser un milieu

différentiel comme l'agar-agar WL. Les levures non-*Saccharomyces* sont caractérisées par des morphologies de colonies très distinctes dans ce milieu et se différencient très facilement des *Saccharomyces*.

#### *Evolution lente tout au long de la fermentation*

La deuxième catégorie de profil de fermentation anormal est caractérisée par une longue phase de latence mais ne développe jamais réellement un taux de fermentation normal. Ces fermentations sont languissantes tout au long de leur déroulement. En général, cela signifie que les cellules n'ont pas atteint un niveau de biomasse élevé et qu'elles peuvent être présentes à des taux compris entre  $10^6$  et  $10^7$  cellules/mL voire inférieurs. Dans d'autres cas, le niveau de biomasse est normal mais le taux de fermentation par cellule a été réduit. Ce type de profil peut être obtenu lors de fermentations en laboratoire à l'aide de nutriments ayant une grande capacité de limitation, ou bien dans des conditions extrêmes de fermentation, avec des températures soit très élevées (30°C ou au-delà selon la souche) soit très basses (moins de 12°C). Ces fermentations peuvent habituellement être évitées par l'apport des nutriments appropriés, mais ce n'est pas toujours le cas. Il est courant en Californie d'ajouter des nutriments à n'importe quel jus ou moût que l'on soupçonne d'être déficient. Plus les taux de sucres dans le jus sont élevés au départ, plus le niveau des nutriments nécessaire pour achever une fermentation est élevé ; la teneur en éthanol prévue doit être aussi être étudiée.

Parfois, les fermentations sont languissantes tout au long du processus parce que la souche est un fermenteur lent. Dans ce cas, les niveaux de biomasse semblent normaux mais le taux de consommation en sucre par cellule est faible, ce qui entraîne une fermentation lente et peut être souhaitable dans certaines conditions de vinification. Ces types de profils de fermentation peuvent également apparaître dans les fermentations en souche mixte. Dans ce cas, la (ou les) souche(s) qui dominant la biomasse au début n'ont pas de bonne tolérance à l'éthanol et arrêteront la croissance et la fermentation. La plupart des microbes lorsqu'ils sont présents en culture pure se développeront à un nombre ou un quorum de cellules maximal spécifique. Une fois qu'une haute densité cellulaire a été atteinte, la croissance ne peut plus continuer. Si les souches non tolérantes à l'éthanol ont la capacité de contribuer au nombre « quorum » dans la fermentation, les souspopulations tolérantes à l'éthanol ne seront pas capables de se développer jusqu'à ce que cette population diminue en nombre. Les population non tolérantes se déposeront finalement au fond de la cuve, ce qui permettra ensuite aux autres cellules de se développer. Dans certains cas, la filtration du vin peut favoriser ce processus de dépôt.

Dans certains vignobles de Californie, les vignes ont été soumises à des conditions de stress élevé afin de réduire la vigueur et de maintenir le volume de vendange bas. Un raisin se trouvant sous un tel stress donne souvent des problèmes de fermentation languissante même avec apport nutritionnel important et l'utilisation de dioxyde de soufre ou d'autres agents permettant d'inhiber les microbes en compétition. Les effets néfastes sur la progression de la fermentation peuvent être dus à un déséquilibre des nutriments dans ces jus ou à la présence spécifique d'inhibiteurs de l'activité des levures.

#### *Ralentissement d'une fermentation initialement rapide*

Le profil de fermentation arrêtée le plus couramment observé dans des conditions de production en Californie semble normal lors du déclenchement, puis devient languissant et s'arrête. Ce cas de fermentation est le plus souvent lié à une tolérance réduite des levures à l'éthanol. Le taux de fermentation est normal jusqu'à ce que le taux d'éthanol atteigne une concentration inhibitrice. Une tolérance réduite à l'éthanol peut être due à plusieurs facteurs : un déficit en nutriments, un manque de facteurs de survie, des extrêmes de température ou de pH, l'utilisation d'une souche ayant une faible tolérance à l'éthanol, la présence d'inhibiteurs tels que l'acétate, les acides organiques ou gras ou l'acétaldéhyde, ou

encore la présence d'autres types d'inhibiteurs agissant sur le taux de fermentation. Eviter ces types de problèmes de fermentation peut s'avérer très difficile car la nature du facteur limitant la tolérance à l'éthanol doit être déterminée. Par exemple, si le problème est lié à l'accumulation d'acides gras inhibiteurs, un ajout d'azote n'aidera pas les cellules.

La tendance actuelle reposant sur une récolte tardive et un raisin caractérisé par un degré Brix élevé implique que les taux d'éthanol en fin de fermentation seront élevés. Il est conseillé d'effectuer un calcul des taux d'éthanol potentiels au début de la fermentation avant de décider quelle souche sera utilisée comme inoculum. La tolérance des souches commerciales varie entre 12 % (w/v) environ au minimum, et de 17 à 19 % d'éthanol au maximum. Il s'agit de tolérance à un pH normal (au-delà de 3,2) et de niveaux de température (20-28°C). Si le pH est inférieur ou si la température se trouve en dehors de cette gamme, la tolérance à l'éthanol de la souche sera réduite, parfois considérablement. Si une souche présentant une faible tolérance à l'éthanol a été utilisée, il faudrait alors anticiper l'arrêt.

Parfois, le stress imposé aux levures en fermentation ne conduit pas immédiatement à un arrêt mais agit plutôt sur la tolérance à l'éthanol, ce qui peut être le cas avec une exposition précoce à une température élevée lors de la fermentation. Une baisse de la température permet à la fermentation de reprendre à un taux paraissant normal, mais au fur et à mesure que les taux d'éthanol augmentent, la fermentation devient plus languissante. Si le taux de sucre est élevé, un niveau inhibiteur d'éthanol peut alors être atteint avant que tous les sucres n'aient été consommés. Les fermentations arrêtées de cette manière sont souvent très difficiles à redémarrer, ce qui est probable car les levures arrêtées ont envoyé des signaux à l'ensemble des cellules pour les avertir que la fermentation est arrêtée et que les conditions ne sont pas tolérables. Toute nouvelle levure se trouvant dans une nouvelle inoculation est également encouragée à s'arrêter. Sinon, les cellules arrêtées peuvent toujours être capables de contribuer au « quorum » si bien que tout nouvel inoculum ne grandira pas en raison d'une trop grande densité dans la culture des levures. Certains ont réussi à redémarrer une fermentation seulement après avoir éliminé la biomasse existante par une filtration douce.

### *Arrêt brusque*

La dernière catégorie d'arrêt de fermentation ayant été observée est caractérisée par un arrêt brusque de la consommation des sucres, qui accompagne habituellement une manipulation soit volontaire soit involontaire lors de la fermentation dans le chai. Une fois que les taux d'éthanol dépassent approximativement les 8 %, la capacité des cellules à s'adapter à de nouvelles conditions est limitée. Un arrêt brusque peut accompagner un choc de températures (élevées ou faibles), un changement du pH ou des taux de sucres en raison d'un ajout de jus, de moût ou d'un assemblage avec une autre cuve, une rectification de l'acidité, un stress provenant de l'inoculation de bactéries lactiques, ou une rectification du SO<sub>2</sub>. Parfois, ces opérations sont effectuées parce qu'une cuve est « presque prête » ou qu'elle nécessite davantage d'espace, mais il peut être difficile de connaître le niveau de stress existant de la levure et de pouvoir prédire si la manipulation aura des effets sur l'achèvement de la fermentation. D'après de nombreux vinificateurs, il est préférable d'effectuer l'ensemencement en bactéries lactiques avant que les levures n'achèvent la fermentation car cela permet aux deux organismes d'utiliser les sucres restants. Cela fonctionne de temps en temps et les deux fermentations s'achèvent, mais cela peut également aboutir à l'arrêt de la fermentation des levures en raison de l'introduction soudaine d'une population viable en compétition ou d'une quelconque rectification des conditions qui a été faite pour recevoir l'inoculum bactérien.

### **Les causes les plus courantes d'arrêt de fermentation**

L'accent mis pour comprendre les besoins nutritionnels des levures au cours de la fermentation a presque fait oublier que le déficit nutritionnel était une cause d'arrêt de fermentation [1, 5, 12, 13, 14, 15]. Il semblerait possible d'éviter également les principales causes restantes d'arrêt de fermentation : extrêmes de température, inhibition microbienne, souches de levures déficientes et décisions de gestion inadéquates. Néanmoins, certaines de ces situations peuvent être inévitables étant données les limites de la technologie et le débat entre ne pas conserver les levures dans des conditions de stress et choisir le style de vinification. Par exemple, il a été démontré que l'extraction du chapeau à chaud est importante pour l'évolution des composés phénoliques et des tanins. Les macérations à froid auraient également des effets positifs sur la qualité du vin, mais élèveraient parallèlement les charges microbiennes [8, 9, 10]. L'utilisation de nutriment encourage les organismes contaminants et peut nuire à l'évolution des arômes à partir de la dégradation des acides aminés. De nombreux paramètres doivent être pris en considération au moment de déterminer la stratégie optimum de gestion de la fermentation à adopter dans le chai. Il est préférable d'y réfléchir au préalable de manière à ce que la souche appropriée ou les conditions d'inoculation soient déterminées au début de la fermentation plutôt que d'essayer de corriger un problème qui s'est produit.

### **Les principales variables dans la gestion de la fermentation**

Plusieurs processus agissent sur la progression de la fermentation dans le chai [3, 4]. Ces techniques doivent être considérées dans leur globalité comme des variables dans la gestion de la fermentation plutôt que comme des opérations indépendantes, bien que les raisons d'effectuer une opération en particulier puissent ne pas être liées à la fermentation. En d'autres termes, si l'on veut éviter les problèmes de fermentation, il est important d'observer le processus dans son intégralité selon la perspective des micro-organismes impliqués.

L'une des variables les plus importantes agissant sur l'activité microbienne est le taux d'aération ou l'exposition à l'oxygène. L'oxygène est un facteur de survie important, permettant aux cellules des levures de synthétiser les stérols et les acides gras insaturés nécessaires pour la construction des membranes tolérantes à l'éthanol. D'autres organismes et l'enzyme polyphénol oxydase entrent en compétition avec les *Saccharomyces* pour l'oxygène disponible. L'utilisation de dioxyde de soufre limite cette compétition avec les *Saccharomyces*. Le temps d'aération est également important. Nos études ainsi que celles d'autres chercheurs ont démontré que l'exposition à l'oxygène atteint son efficacité maximale lorsque les cellules se développent activement et synthétisent activement les composants de la membrane [15], ce qui permet aux cellules de construire la membrane optimale dont elles auront besoin pour achever la fermentation. Des aérations à un stade plus précoce ou plus tardif peuvent permettre de stimuler les microbes en compétition dégradant ainsi les conditions pour les *Saccharomyces*.

Le mélange peut également être une variable importante. L'effet d'un mélange assisté dépend des dimensions de la cuve. En théorie, mélanger maintient les cellules de levures en suspension et offre une meilleure absorption des nutriment. Ces facteurs peuvent se révéler importants dans certaines situations, comme par exemple lorsqu'une fermentation vigoureuse ne se produit pas. En revanche, dans de nombreux cas, il n'est pas nécessaire de mélanger car le processus de fermentation lui-même donne un mélange adéquat. Le mélange sert réellement à équilibrer la température de manière à ce que la chaleur ne s'accumule pas, et ce dans le plus grand intérêt des levures même si cela peut aboutir à une extraction réduite. L'un des principaux avantages du mélange est qu'il est habituellement accompagné d'une aération. Les cellules des levures ont tendance à se déposer une fois qu'elles ne sont plus actives sur le plan métabolique. Si les cellules se déposent au fond de la cuve, il y a à l'évidence un problème nutritionnel, qui doit alors être corrigé plutôt que de simplement réactiver les cellules en les mélangeant.



Il est également important d'envisager le type de récipient servant à la fermentation comme un élément de la stratégie globale dans la gestion de la fermentation. L'acier inoxydable peut être refroidi plus efficacement, et bien qu'un biofilm se formera, ce matériau peut être assaini plus efficacement que le bois. Le bois peut être plus bénéfique si l'on souhaite en fait obtenir un biofilm. Un biofilm sain peut permettre de réduire le nombre d'organismes en compétition au cours d'une fermentation et d'assurer la dominance des *Saccharomyces*. L'utilisation du bois est également importante si le chai souhaite développer une microflore unique et spécifique.

Par ailleurs, les techniques d'ensemencement sont importantes. Non seulement le choix de l'organisme est prépondérant, mais le mode de préparation de l'inoculum est également essentiel. S'il est question d'utiliser des préparations commerciales, les instructions figurant sur l'emballage doivent alors être respectées. Certaines levures perdront leur viabilité si elles sont laissées en réhydratation dans de l'eau pendant trop longtemps, donc la mise en suspension des levures doit être utilisée rapidement. Il est en outre important de s'assurer que la température de réhydratation corresponde à celle recommandée. Les réhydratations froides ou chaudes réduisent aussi la viabilité. La suspension doit être mélangée de manière adaptée. Un mélange trop faible aboutit à une réhydratation lourde et inefficace alors qu'un mélange trop vigoureux peut aussi entraîner une perte de la viabilité des cellules. Si une cuve en fermentation est utilisée comme la source de l'inoculum, il devient alors important de s'assurer que la fermentation ne soit pas trop avancée dans cette cuve. Si elle se situe au-delà de 8 % d'éthanol, ces levures auront alors commencé à s'adapter à un taux d'éthanol supérieur. L'évolution vers une situation avec un faible taux d'éthanol et un taux élevé de sucre entraînera un retard car les cellules réadaptent leurs composants cellulaires à un nouvel environnement. S'il est question d'utiliser les levures d'une cuve en fermentation comme des inocula, il est alors important de s'assurer qu'elles ne présentent pas un déficit en un quelconque micro-nutriment. Les souches commerciales sont préparées dans des conditions apportant aux cellules de grandes quantités de vitamines et de cofacteurs qui peuvent s'achever au bout de plusieurs générations. Le vinificateur est alors sûr que même si le jus ou le moût manquent d'un nutriment essentiel, ce ne sera pas le cas de la souche. Néanmoins, si les cellules ont subi un pré-développement dans des conditions limitatives, un déficit en micro-nutriments pourrait apparaître. C'est également vrai pour la fermentation de la flore native. Les déficits en micro-nutriments peuvent être plus courants si une flore native est utilisée.

La température choisie pour la fermentation est à l'évidence très importante, car elle agit directement sur le taux d'activité enzymatique. Des fermentations à des températures plus élevées s'achèveront plus rapidement, à moins que la température n'atteigne un niveau suffisamment élevé pour devenir inhibitrice. La température d'autres techniques de production du vin peuvent également influencer le taux et la progression de la fermentation. Les macérations à froid favorisent la croissance d'organismes tolérant une faible température comme les levures *Metschnikowia* et *Hanseniaspora*. La concentration de ces levures peut augmenter considérablement pendant la macération à froid du moût, ce qui entraîne une compétition accrue pour les *Saccharomyces* et un appauvrissement possible en micro-nutriments. Permettre à la température du chapeau d'atteindre des niveaux élevés (40-50°C) peut fortement favoriser la croissance bactérienne et inhiber les levures.

Un ajout de nutriments est bien entendu important pour le développement et le maintien d'une population de levures saines. Néanmoins, il faut procéder avec précaution à un ajout de nutriments. Si le jus ou le moût contiennent déjà les nutriments nécessaires, un ajout excessif peut entraîner des fermentations rapides. En outre, si les levures laissent des nutriments après, le vin n'est alors pas stable contre les altérations microbiennes. Il faut procéder à un ajout avec certitude, seulement dans des situations où les jus présentent un contenu nutritionnel insuffisant. Les jus et les moûts présentant un degré Brix plus élevé nécessitent un taux d'azote supérieur pour l'achèvement de la fermentation. Le moment de

l'ajout est également important. Si l'azote est ajouté trop tardivement, ce qui signifie que le niveau d'éthanol est trop élevé, les levures ne tireront pas profit de l'ajout. Néanmoins, il est important de comprendre la dynamique des sous-populations de levures au moment d'ajouter les nutriments. Cette opération doit être effectuée de manière à ce que la population qui va achever la fermentation tire profit de l'ajout. Par exemple, dans certaines fermentations, diverses sous-populations dominent à différents moments. Un ajout précoce des nutriments favorise la croissance d'une souche qui domine, mais pourrait aussi retarder la mort de cette sous-population et ainsi la croissance de la population qui sera capable d'achever la fermentation. Les outils moléculaires deviennent maintenant disponibles permettant de contrôler les sous-populations de levures. Si dans un chai une grande population semble saine mais n'achève pas la fermentation, il faut alors envisager l'inoculation d'une souche commerciale robuste.

D'autres traitements du jus et du moût, tels que la macération à froid, le débourageage à froid ainsi que le moment et la nature des opérations de remontage, agiront aussi sur la progression de la fermentation [7, 11, 16]. Le maintien du jus ou du moût à une faible température favorise la croissance des levures non-*Saccharomyces* et peut appauvrir le moût en micro-nutriments en raison de la croissance d'autres organismes [10]. La manière dont est extrait le chapeau dans une fermentation du vin rouge (remontage, pigeage, irrigation par gicleurs) peut affecter le profil de température de la cuve de même que le niveau d'aération produit, agissant ainsi sur le déroulement de la fermentation. Les techniques de rectification de l'acidité et du pH peuvent également agir sur la progression de la fermentation. La fermentation sera plus rapide et plus complète avec des valeurs de pH élevées, mais la compétition microbienne sera également accrue.

Le contact des lies est une autre variable agissant sur la fermentation. La fermentation des levures est généralement plus rapide en présence des lies de raisin. Il peut y avoir plusieurs raisons à cela. L'augmentation de la teneur nutritionnelle, la rétention des tanins et des pigments polymériques par les lies – du coup moins fixés sur la surface des levures – la meilleure rétention de l'oxygène sous forme de bulles, la meilleure nucléation des bulles de dioxyde de carbone, un meilleur mélange, tous ces facteurs pouvant stimuler la fermentation. Outre le contact avec les lies, le taux de matières solides est également élevé. Des taux plus élevés de matières solides stimulent la fermentation des levures. Les matières solides pourraient fonctionner comme les lies à plusieurs niveaux. Une clarification excessive des jus a été fortement mise en corrélation avec les fermentations languissantes et lentes. Les matières solides contiennent des estérases, donc dans de nombreux cas, les vinificateurs souhaitent réduire les niveaux de matières solides afin de préserver les qualités aromatiques du vin.

Les techniques de vinification qui viennent d'être abordées sont souvent utilisées pour leurs effets positifs sur la qualité du vin. En effet, si le vinificateur considérait seulement les besoins nutritionnels des levures, les fermentations seraient rapides mais le vin serait de bien moindre qualité. Il est important d'établir un équilibre entre les techniques efficaces de vinification et les stratégies efficaces de gestion de la fermentation de manière à tirer le meilleur de ces deux paramètres. Si un vinificateur réalise une opération diminuant la viabilité des levures ou imposant un stress, il faut alors utiliser une souche tolérante à ces conditions pour la fermentation. Heureusement, il existe de nombreuses souches commerciales bien caractéristiques. Le choix des souches peut être optimisé pour les conditions spécifiques du chai.

### **Redémarrer une fermentation arrêtée**

Parfois, soit le stress des levures a été inévitable, soit une erreur a été commise ce qui a entraîné un arrêt de fermentation. Ces situations peuvent se produire malgré la meilleure volonté du vinificateur. Dans ce cas, il est important d'adopter une stratégie efficace pour redémarrer une fermentation arrêtée. Il est courant dans les chais qui ont recours à la fermentation par la flore spontanée pour une faible quantité du vin de les

ensemencer avec une souche commerciale. Si la fermentation de la flore spontanée commence à ralentir ou à poser des problèmes, on peut procéder à un ensemencement à partir de la cuve qui a été inoculée avec une souche robuste. De nombreux chais souscrivent à cette « assurance » lorsqu'ils ont recours à des conditions pouvant créer un stress important pour une souche de levure particulière qui apporte au vin les caractères aromatiques appropriés.

Si une souche robuste a été utilisée et que la fermentation s'est arrêtée, la redémarrer peut représenter un défi. Comme cela a été mentionné précédemment, il peut être nécessaire d'éliminer une partie de la biomasse de la souche arrêtée de manière à ce qu'un nouvel inoculum soit capable de se développer et de ne pas recevoir le signal informant qu'une densité cellulaire finale existe déjà dans l'environnement. Cette opération peut être effectuée par soutirage si les levures se sont déposées ou par une filtration modérée. Si le taux d'éthanol de la fermentation ayant besoin d'être redémarrée est élevé (au-delà de 8 %), le nouvel inoculum de levures devra alors être pré-adapté à l'éthanol. On peut y parvenir par un processus d'ensemencements répétés en série. Dans ce cas, une culture starter de levures s'adapte progressivement à la teneur en éthanol du vin en arrêt de fermentation. Les levures sontensemencées dans le jus qui est mélangé à 50/50 avec le vin en arrêt de fermentation. Cette fermentation peut passer à une teneur en éthanol supérieure à celle du vin en arrêt de fermentation ; elle est ensuite mélangée à 50/50 avec davantage de vin pouvant fermenter, puis de nouveau avec le vin en arrêt de fermentation à un ratio de 50/50. Ce processus réussit davantage si les conditions provoquant un arrêt en premier lieu sont connues et corrigées pour le second inoculum, par exemple en ajoutant des nutriments, en procédant à une aération ou en maintenant une température correcte. Un redémarrage réussi dépend du développement d'un inoculum actif et robuste adapté aux conditions du vin en arrêt de fermentation. Si l'inoculum est allé trop loin dans la phase stationnaire, c'est-à-dire s'il est toujours actif sur le plan métabolique, la fermentation risque de ne pas redémarrer après le nouvel ensemencement.

Finalement, plusieurs souches de levures sont commercialisées et ont été sélectionnées pour leur capacité à achever les fermentations arrêtées [6]. Ces souches ont de faibles besoins nutritionnels et une tolérance élevée à l'éthanol. Souvent, elles ont simplement besoin d'être réhydratées etensemencées dans le vin en arrêt de fermentation sans nécessité d'une adaptation préalable. Elles sont également plutôt tolérantes à la température. De telles souches peuvent être régulièrement utilisées comme des inocula tardifs si un arrêt est susceptible de se produire.

## Conclusion

Les vinificateurs disposent d'une quantité considérable d'informations sur les causes et les moyens d'éviter les arrêts de fermentation et les fermentations languissantes. En effet, si le stress des levures est évité, les fermentations devraient s'achever. Toutefois, cette réduction du stress est souvent en contradiction avec la production d'un vin de qualité. Il existe une nuance subtile entre imposer un stress qui aboutira à une complexité plus importante du produit final désiré et un stress qui entraînera un arrêt. Si un chai contrôle régulièrement les taux de consommation en sucre et dispose de connaissances justes sur la progression normale d'une fermentation, la nature du profil de fermentation peut apporter des informations considérables sur la cause de l'arrêt de fermentation. Il est possible de prévenir les causes d'arrêts de fermentation. Cependant, des facteurs que le vinificateur ne peut contrôler créent souvent un stress des levures aboutissant ainsi à une fermentation lente ou incomplète. Redémarrer une fermentation arrêtée peut représenter un défi, mais une bonne connaissance du processus d'adaptation des levures permet d'achever de nombreuses fermentations arrêtées.

Article publié dans le cadre de la formation *Tópicos de Actualización en Viticultura y Enología* (CEVIUC), tenue les 22 et 23 juillet 2004, à Santiago de Chile, Chili.

### Ouvrages cités

1. Alexandre, H., and C. Charpentier. Biochemical aspects of stuck and sluggish fermentation in grape must. *J. Ind. Microbiol. Biotech.* 20:20-27 (1998).
2. Allen, M. S., and P. W. Auld. Stuck Chardonnay ferments; Experience in the Hunter and Mudgee regions. *Aust. Grapegrower Winemaker* April, 1998:8-11 (1998).
3. Bisson, L. F. Stuck and sluggish fermentations. *Am. J. Enol. Vitic.* 150:1-13 (1999).
4. Bisson, L. F. and C. E. Butzke. Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. *Am. J. Enol. Vitic.* 51:168-177 (2000).
5. Boulton, R. B., V. L. Singleton, L. F. Bisson, and R. E. Kunkee. *Principles and Practices of Wine Making*, 604 pp. Chapman Hall, New York, (1996).
6. Colas, S. Une nouvelle levure seche active pour les reprises de fermentation alcoolique: RhoneL4473. *Guide de la Vinification Rhodanienne* 3:39-40.
7. Delfini, C., C. Cocito, S. Ravaglia, and L. Conterno. Influence of clarification and suspended grape solid materials on sterol content of free run and pressed grape musts in the presence of growing yeasts. *Am. J. Enol. Vitic.* 44:86-92 (1993).
8. Fleet, G. H., and G. M. Heard. Yeasts - Growth during fermentation. *In Wine Microbiology and Biotechnology*, G. H. Fleet (Ed.). pp 27-54. Harwood Academic Publishers, Australia. (1992).
9. Fleet, G. H., S. Lafon-Lafourcade, and P. Ribereau-Gayon. Evolution of yeasts and lactic acid bacteria during fermentation and spoilage of Bordeaux wines. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:11034-1038 (1984).
10. Heard, G. M., and G. H. Fleet. The effects of temperature and pH on the growth of yeast species during the fermentation of grape juice. *J. Appl. Bact.* 65:23-28 (1988).
11. Houtman, A. C., and C. S. Du Plessis. Nutritional deficiencies of clarified white grape juices and their correction in relation to fermentation. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 7:39-46 (1986).
12. Ingledew, W. M., and R. E. Kunkee. Factors influencing sluggish fermentations of grape juice. *Am. J. Enol. Vitic.* 36:65-76 (1985).
13. Jiranek, V., P. Langridge, and P. A. Henschke. Nitrogen requirement of yeast during wine fermentation. *In Proceedings of the Seventh Australian Wine Industry Technical Conference*, P. J. Williams, D. M. Davidson, and T. H. Lee (Eds.). pp 166-171. Australian Industrial Publishers, Australia. (1990).
14. Monteiro, F. F., and L. F. Bisson. Biological assay of nitrogen content of grape juice and prediction of sluggish fermentations. *Am. J. Enol. Vitic.* 42:47-57 (1991).
15. Sablayrolles, J.-M., C. Dubois, C. Manginot, J.-L. Roustan, and P. Barre. Effectiveness of combined ammoniacal nitrogen and oxygen additions for completion of sluggish and stuck fermentations. *J. Ferm. Bioeng.* 82:377-381 (1996). (1996).
16. Valero, E., M. C. Millan, J. C. Mauricio, and J. M. Ortega. Effect of grape skin maceration on sterol, phospholipid and fatty acid contents of *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* 49:119-124 (1998).