

UN NOUVEAU PROCEDE DE SELECTION DE LEVURES POUR LA REVELATION DE L'AROME VARIETAL DU SAUVIGNON BLANC

Charlotte Augustin¹, Stéphane Bonhomme², Marie-Laure Murat², Isabelle Masneuf³

¹Laffort Œnologie, BP 17, 33015 Bordeaux Cedex. Mail : caugustin@sarco.fr

²SARCO, BP 40, 33015 Bordeaux Cedex. Société d'Application, de Recherche et de Conseil Œnologique, filiale de recherche de la société Laffort Œnologie

³ENITA de Bordeaux, 1 cours du Général de Gaulle, CS 40201, 33175 Gradignan cedex

Introduction

L'arôme variétal du Sauvignon blanc a fait l'objet de nombreux travaux de recherche depuis plusieurs années ; trois composés aromatiques de type thiols volatils ont été identifiés comme participant en grande partie à l'arôme variétal du Sauvignon blanc. Il s'agit de la 4-mercapto-4-méthylpentan-2-one (4MMP), du 3-mercaptohexan-1-ol (3MH) et de l'acétate de 3-mercaptohexyle (A3MH), responsables des nuances de buis (4MMP, A3MH) et de genêt (4MMP), de pamplemousse (3MH) et de fruit de la passion (3MH, A3MH) dans les vins issus de ce cépage. Ces composés sont également présents dans les vins d'autres cépages blancs tels que Gewürztraminer, Riesling, Colombard, Petit Manseng (Tominaga *et al.*, 2000a) et également dans les vins rosés issus des cépages rouges Cabernet Sauvignon et Merlot (Murat *et al.*, 2001a), ainsi que Grenache et Syrah (Cacho, 2004 ; Murat, 2005). Deux composés soufrés (la 4MMP et le 3MH) existent dans le moût sous la forme de précurseurs non-volatils S-conjugués à la cystéine (Tominaga *et al.*, 1995, 1998a ; Murat *et al.*, 2001b). Les thiols volatils sont libérés au cours de la fermentation alcoolique à partir du S-conjugué à la cystéine correspondant, par l'action de la levure (Tominaga *et al.*, 1998a). Néanmoins le mécanisme de transformation du précurseur cystéinylé en arôme reste inconnu. Les souches de *Saccharomyces cerevisiae* n'ont à cet égard pas toutes le même potentiel de révélation des thiols (Murat *et al.*, 2001c ; Howell *et al.*, 2004). De même, la teneur dans le vin en arômes fermentaires (esters, alcools supérieurs produits au cours de la fermentation alcoolique) varie selon la souche utilisée (Rankine, 1967 ; Usseglio and Tomasset, 1967 ; Suomalainen, 1971).

Parallèlement, la meilleure connaissance de l'arôme des vins de Sauvignon blanc et l'application d'une technique classique de croisement ont permis de développer de nouvelles méthodes plus précises et plus efficaces de sélection et d'amélioration de souches de levures œnologiques. Le laboratoire SARCO et la Faculté d'Œnologie de Bordeaux ont ainsi utilisé le **breeding** : cette technique consiste à croiser deux levures, dans le but d'obtenir une levure « fille » possédant les performances de ses deux « parents » (cf Figure 1). Ainsi,

le croisement d'une levure aux capacités fermentaires avérées (cinétique fermentaire et résistance à l'alcool, faible production d'acidité volatile et de composés soufrés) avec une levure reconnue pour élaborer des vins de Sauvignon blanc typés et aromatiques, a conduit à l'obtention et à la commercialisation d'une nouvelle souche Z¹.

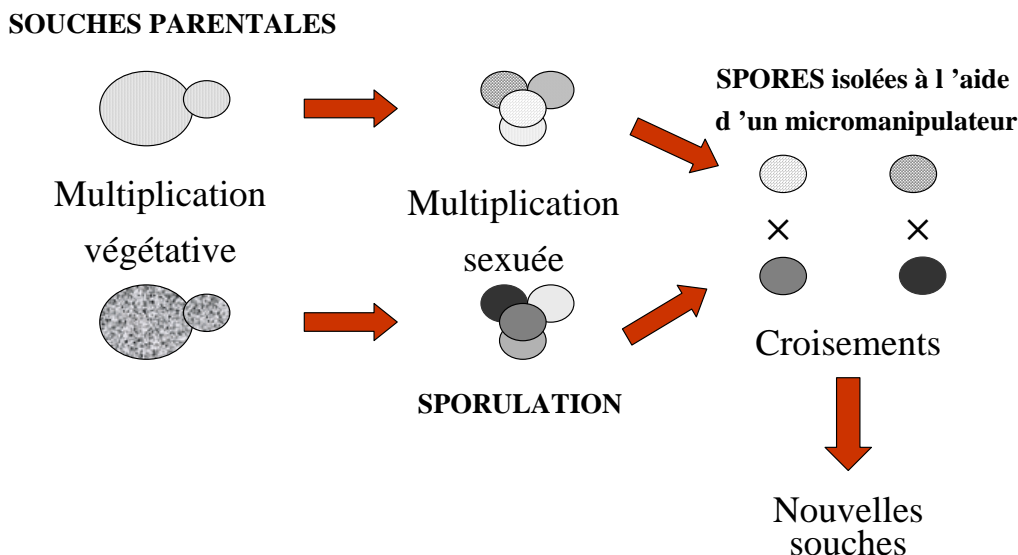


Figure 1 : Schéma d'obtention de nouvelles souches de levures œnologiques par la méthode des croisements ou « breeding ». Les souches parentales peuvent appartenir à la même espèce (*S. cerevisiae* ou *S. uvarum*) ou à deux espèces différentes (*S. cerevisiae* et *S. uvarum*).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'intérêt de la souche Z et de comparer avec d'autres souches ses performances fermentaires, ses capacités à révéler les composés aromatiques thiolés et l'appréciation finale de son vin.

Matériels et méthodes

Souches de levures utilisées. L'essai a mis en jeu sept souches de levures sèches actives : Y, Z, et cinq des souches du commerce principalement conseillées pour l'élaboration de vins de Sauvignon blanc typés et aromatiques, notées de A à E.

Protocole de l'essai. L'essai a été réalisé en 2005, au centre expérimental de Laffort Œnologie. Le moût provient d'un Sauvignon blanc de la région de Bordeaux. A réception, la vendange est pressée, enzymée, sulfitée à 5 g/hL, et placée en stabulation à froid (48h à 12°C). La turbidité du moût est ajustée à 50 NTU. Les cuves utilisées pour l'essai ont une contenance de 200 litres ; les sept modalités sont doublées. Toutes les opérations préfermentaires sont réalisées à l'abri de l'air (inertage du matériel au CO₂ et maintien

¹ Conformément à la déontologie d'Infowine, les noms commerciaux ont été supprimés de cet article

jusqu'au départ en FA). L'inoculation à 20 g/hL est réalisée le jour de l'encuvage. La fermentation est conduite à 16°C. Les vins sont sulfités une semaine après la fin de la fermentation ; ils sont ensuite élevés sur lies fines pendant deux mois, avec deux batonnages par semaine.

Caractéristiques du moût. Les caractéristiques du moût de départ sont présentées dans le tableau 1. La carence observée en azote assimilable est corrigée afin d'atteindre 180 mg/L.

	Sucres Réducteurs (g/L)	Acidité Totale (g/L H ₂ SO ₄)	pH	Turbidité (NTU)	Azote Assimilable avant correction (mg N/L)
Moût	213	3,8	3,24	120	101

Tableau 1 : Caractéristiques du moût

Suivi de la fermentation alcoolique. Pendant toute la durée de la fermentation, la densité et la température sont mesurées quotidiennement.

Un contrôle d'implantation des levures est réalisé vers 1,040 de densité. Pour cela, 100 µL de moût sont prélevés dans la cuve, et mis en culture sur boîte de Pétri. L'ADN de la biomasse totale est extrait et soumis à une analyse génétique par PCR (MiniCycler™, MJ Research) parallèlement à l'ADN des LSA inoculées. Une électrophorèse permet de comparer les profils obtenus sur biomasse totale à ceux des LSA et de contrôler l'implantation de celles-ci.

Analyses chimique et sensorielle des vins. Les analyses courantes et les dosages d'arômes sont réalisés sur vins finis après sulfitage. La teneur en thiols volatils des vins est déterminée selon la méthode décrite par Tominaga *et al.* (1998b) modifiée par le même auteur (2000b). Les teneurs en acétate d'isoamyle (AI), en acétate de phényl-éthyle (APE) et en phényl-2-éthanol (PE) sont déterminées selon la méthode décrite par Bertrand *et al.* (1978).

Une dégustation, à l'aveugle, est réalisée par un jury de 15 dégustateurs professionnels, habitués à déguster des vins de Sauvignon blanc. Un premier test de classement (appréciation globale : couleur, nez, bouche) est mis en œuvre pour les 7 vins (les répétitions par souche de levure sont alors assemblées). D'autre part, trois de ces échantillons sont à nouveau dégustés, séparément, et notés de 1 à 5 (5 étant le maximum) pour 6 descripteurs : intensité olfactive, typicité Sauvignon blanc, notes buis (descripteur de la 4MMP et de l'A3MH) et pamplemousse au nez (descripteur du 3MH), rondeur et longueur en bouche. Les trois échantillons choisis pour ce test descriptif sont ceux qui présentent les

teneurs les plus élevées en 4MMP et en A3MH à l'analyse ; un test de préférence sur ces trois vins est également demandé.

Analyse statistique des résultats. Le logiciel de traitement statistique Stata 9.0 est utilisé pour réaliser les analyses de variance et tests de Scheffer (dosage des thiols volatils et d'arômes fermentaires). Les tests de Kramer et de Friedmann sont réalisés pour le test de préférence à la dégustation.

Résultats

Contrôles d'implantation. Les contrôles d'implantation de levure réalisés sont positifs pour toutes les modalités (résultats non présentés). Ceci permet d'attribuer les différences des vins finis aux seules levures, toutes conditions étant égales par ailleurs.

Cinétique fermentaire. La fermentation s'est déroulée pour la majorité des souches en 10 jours ; seule une souche (souche D) a montré une phase de latence plus longue de 48 heures et a terminé deux jours plus tard (résultats non présentés).

Analyses courantes des vins. Pour les paramètres analysés, aucune différence significative entre les souches n'est mise en évidence. Le tableau 2 présente la moyenne des valeurs obtenues pour les différents vins.

	T.A.V. (%vol)	Sucres Réducteurs (g/L)	Acidité Totale (g/L H ₂ SO ₄)	Acidité Volatile (g/L H ₂ SO ₄)	pH	SO ₂ Total (mg/L)
Vin	13	1,24	4,9	0,19	3,10	53

Tableau 2 : Caractéristiques des vins finis (valeurs moyennes* des 14 modalités)

* Aucune différence significative entre les souches n'ayant été mise en évidence, la moyenne des valeurs obtenues pour les 14 vins est présentée.

Dosage des thiols volatils. Les teneurs en 4MMP des vins sont statistiquement significativement différentes (Figure 2 et Tableau 3).

Essai 2005	4MMP (ng/L) (IA)	3MH (ng/L) (IA)	A3MH (ng/L) (IA)
Souche Z	20,9 (26,1) ^a	274 (4,6) ^a	58 (14,5) ^a
Souche Y	7,5 (9,4) ^b	303 (5,0) ^a	56 (13,9) ^a
Souche A	8,5 (10,6) ^b	285 (4,7) ^a	53 (13,2) ^a
Souche B	6,3 (7,9) ^{bc}	220 (3,7) ^a	41 (10,1) ^a
Souche C	0,4 (0,5) ^d	202 (3,4) ^a	47 (11,7) ^a
Souche D	1,2 (1,5) ^d	188 (3,1) ^a	27 (6,6) ^a
Souche E	2,8 (3,4) ^{cd}	212 (3,5) ^a	43 (10,8) ^a

Tableau 3 : Teneur en Thiols Volatils et Indice Aromatique* des vins. Les valeurs présentées sont les moyennes des deux modalités. Les lettres ^a, ^b, ^c, ^d indiquent les valeurs statistiquement significativement différentes (test de Scheffer).

*L'Indice Aromatique (IA) permet d'évaluer l'impact aromatique d'un composé : c'est le rapport de la concentration du composé sur le seuil de perception propre à ce composé. Un indice aromatique supérieur à 1 témoigne de la participation de ce composé à l'arôme du vin.

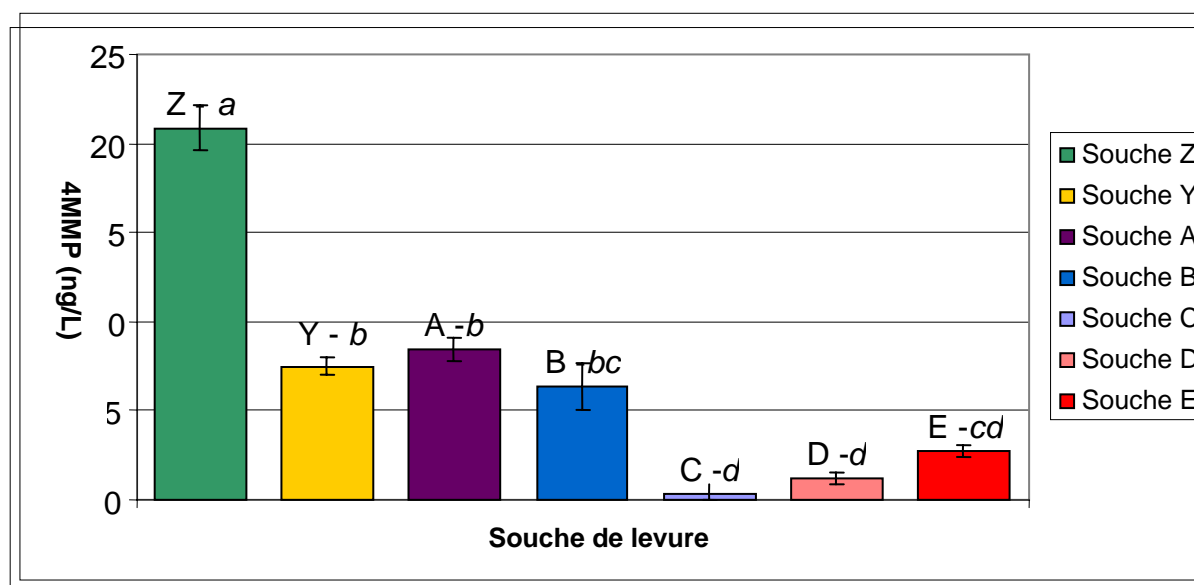


Figure 2 : Teneur en 4MMP (ng/L) des vins issus des différentes souches de levure. Les barres sur les colonnes indiquent l'écart type pour chaque duplicata et les lettres a, b, c, d indiquent les valeurs statistiquement significativement différentes (test de Scheffer).

Des statistiques réalisées sur les modalités en répétition permettent de mettre en évidence que la souche Z révèle significativement plus de 4MMP que toutes les autres souches de levures testées (Figure 2). Il est intéressant de noter que cette souche, issue du **breeding**, révèle mieux la 4MMP que les souches jusqu'alors sélectionnées dans ce but. Les souches A, Y et B respectivement présentent un pouvoir de révélation moindre et décroissant.

En ce qui concerne la révélation du 3MH et sa transformation en acétate, aucune différence significative entre les souches testées n'a pu être mise en évidence (Tableau 3). Les teneurs des vins en ces deux composés pour ce millésime sont par ailleurs assez

faibles. On peut toutefois noter que les vins issus des souches Z, Y et A respectivement sont les plus pourvus en A3MH (fruit de la passion).

Teneurs en arômes fermentaires. Dans les conditions de cet essai, on n'observe pas de différences dans les teneurs en AI, APE et PE des vins issus des souches testées (cf Tableau 4). Celles-ci sont tout à fait comparables en termes de production d'esters.

Notons que, d'une manière générale, la forte production d'esters n'est pas un caractère nécessairement recherché dans l'objectif d'un vin de Sauvignon blanc fruité et typé. Une production modérée (comme c'est le cas dans ces essais) peut en revanche apporter une certaine complexité.

Essai 2005	AI (mg/L) (IA)	APE (mg/L) (IA)	PE (mg/L) (IA)
Souche Z	1,1 (5,3) ^{bc}	0,8 (2,5) ^{bc}	37 (74,2) ^a
Souche Y	0,9 (4,3) ^{bc}	0,7 (2,4) ^{bc}	43 (66,7) ^a
Souche A	1,1 (5,5) ^{ab}	0,8 (2,6) ^{ab}	42 (84,7) ^a
Souche B	0,8 (3,9) ^c	0,7 (2,4) ^{bc}	50 (100,2) ^a
Souche C	0,9 (4,3) ^{bc}	0,7 (2,4) ^{bc}	37 (74,1) ^a
Souche D	0,8 (3,9) ^{bc}	0,6 (1,9) ^{bc}	38 (75,0) ^a
Souche E	0,8 (3,8) ^c	0,5 (1,8) ^c	46 (92,0) ^a

Tableau 4 : Teneur en Esters Fermentaires et Phényl-2-Ethanol, et Indice Aromatique des vins. Les valeurs présentés sont les moyennes des deux modalités, les lettres ^a, ^b, ^c indiquent les valeurs statistiquement significativement différentes (test de Scheffer).

Analyse sensorielle. Le test de préférence sur les 7 échantillons est significatif au seuil de 0,1 % (test de Friedmann). Il en ressort que le vin issu de la souche Z est nettement préféré (significatif à 1 %, test de Kramer). Sont ensuite préférés dans ce test les vins fermentés par la souche A et la souche Y, très proches l'un de l'autre. Enfin viennent les vins fermentés par les souches B, C, D et E. Ce classement des vins est très reproductible : les dégustateurs ont souvent noté les vins dans le même ordre que le classement général. Par exemple, le vin de la souche Z a été classé premier 10 fois sur 15, et le vin de la souche C a été classé 11 fois en cinquième position, ce qui correspond à leur classement final.

Il existe par ailleurs une corrélation statistiquement significative entre la somme des indices aromatiques pour la 4MMP et l'A3MH et le rang obtenu à la dégustation ($R^2 = 0,7673$ significatif à 2 %, cf Figure 3).

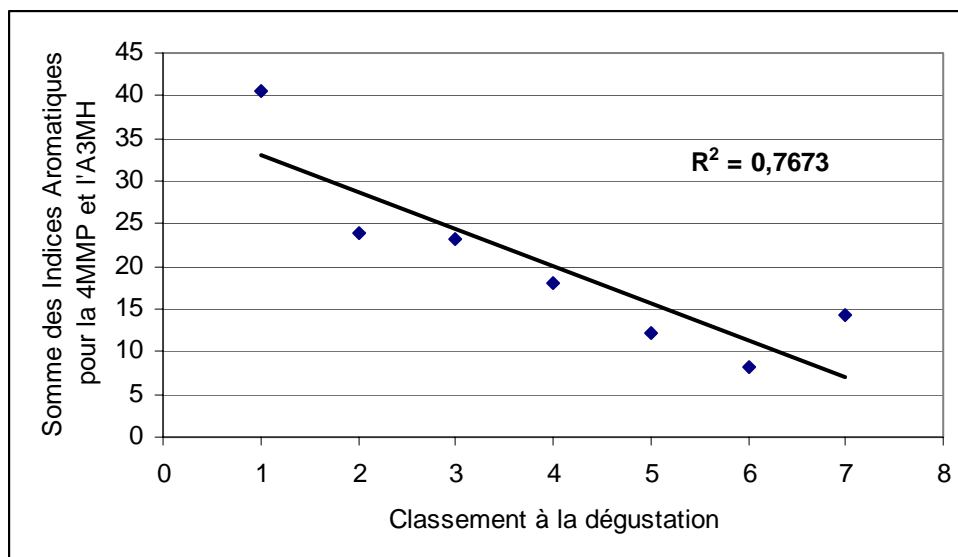


Figure 3 : Relation entre la somme des indices aromatiques pour la 4MMP et l'A3MH des vins et le classement des vins à la dégustation (Corrélation significative à 2%.)

Le test descriptif est réalisé avec les trois vins qui présentaient les teneurs en 4MMP et en A3MH les plus élevées ; il s'agit des vins issus des souches Z et Y, et de la souche A. Notons également que ces vins sont ceux qui ont été les mieux classés au test de préférence. La figure 4 montre les résultats de cette analyse descriptive. Le vin fermenté par Z est classé comme le plus typique et le plus intense olfactivement, très marqué par des notes de buis et de pamplemousse. Si les vins issus des souches A et Y apparaissent assez proches d'après cette analyse descriptive, le classement de ce test triangulaire est pourtant net (significatif à 1%, test de Kramer) : le vin issu de la souche Y est préféré au vin issu de la souche A. Les commentaires en bouche reviennent souvent sur le fruité et l'élégance du vin issu de la souche Y, ainsi que sur la rondeur du vin issu de la souche A. Le vin issu de la souche Z est à nouveau noté premier, décrit comme bien équilibré, vif et long en bouche.

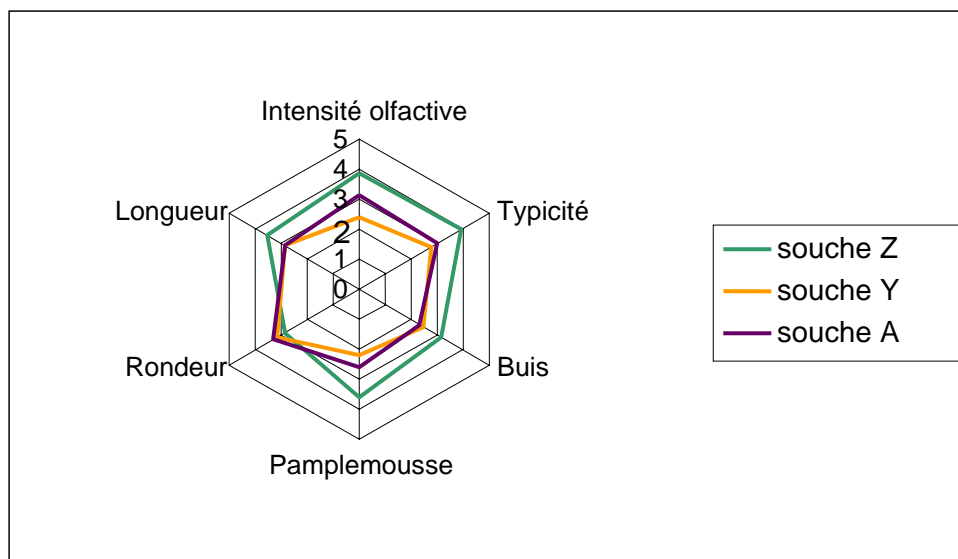


Figure 4 : Analyse sensorielle descriptive des trois vins les plus pourvus en 4MMP (15 dégustateurs)

Le classement de ce test triangulaire a été : 1^{er} : vin issu de la souche Z ; 2^e : vin issu de la souche Y ; 3^e : vin issu de la souche A (significatif à 1%, test de Kramer).

Conclusion

A l'issue de cet essai comparatif, il apparaît que, si toutes les souches font preuve d'un comportement fermentaire satisfaisant (fermentations achevées, acidité volatile limitée, vins sans défauts), elles ne sont pas équivalentes du point de vue des caractéristiques organoleptiques des vins obtenus. La dégustation prend en compte non seulement le critère aromatique mais aussi la sensation et la longueur en bouche. Le dosage et l'appréciation différente de ces vins issus de même moût ont mis en évidence, une fois encore, le rôle de la souche de levure sur la révélation des thiols volatils.

La souche Z est très nettement ressortie lors des dégustations et des analyses des vins (typicité, complexité, longueur et vivacité). Cette souche permet d'obtenir des vins dont les teneurs en 4MMP et en A3MH sont remarquables, composés en outre bien corrélés à l'appréciation du vin à la dégustation. Cette capacité à révéler la 4MMP confirme des résultats d'essais menés en 2004 dans le centre expérimental, qui n'ont pas été présentés ici par manque d'analyses statistiques, mais dans lesquels la Z se démarquait déjà. Par ailleurs, le vin issu de la souche Y a également été apprécié et remarqué à la dégustation (fruité et élégance) ; de même que le vin de la souche A, dans une moindre mesure (rondeur et longueur). Ces souches présentent elles aussi une bonne aptitude à révéler des thiols volatils, avec toutefois plus d'esters produits par la souche A. Notons que les différences de typicité des vins issus de chaque levure peuvent être valorisées lors de l'assemblage.

Le **breeding**, appliqué comme nouvelle technique de sélection de levures, démontre ici son intérêt : la souche Z est déjà très appréciée sur les moûts de Sauvignon blanc par de

nombreux vinificateurs, les essais menés ici apportent quelques éléments d'explication. Le **breeding** est également à l'origine de la sélection d'une nouvelle souche pour l'élaboration de vins rouges fruités. Ses résultats feront l'objet d'une publication ultérieure.

Références bibliographiques

- Bertrand A., Marly-Brugerolle C., Sarre C., 1978. Influence du débouillage des moûts et du sulfitage sur les teneurs en substances volatiles des vins et eaux-de-vie. *Com. Vigne Vin*, **12**, 35-48.
- Cacho J., 2004. Relation entre l'analyse physicochimique et sensorielle des vins rosés. *Rencontres Internationales du Vin Rosé*, 12-13.
- Cotrell T.H.E. MC and Lellan M.R., 1986. The effect of fermentation temperature on chemical and sensory characteristics of wines from seven white grape cultivars grown in New York State. *Am. J. Enol. Vitic.* **37**, 3, 190-194.
- Howell K.S., Swiegers J.H., Elsey G.M., Siebert T.E., Bartowsky E.J., Flette G.H., Pretorius I.S., De Barros Lopes M.A., 2004. Variation in 4-mercapto-4-methylpentan-2-one release by *Saccharomyces cerevisiae* commercial wine strains. *FEMS Microbiol. Letters*. **240**, 125-129.
- Killiam E. and Ough C.S., 1979. Fermentation esters- formation and retention as affected by fermentation temperature. *Am. J. Enol. Vitic.* **30**, 4, 301-305.
- Murat M.L., Tominaga T., Dubourdieu D., 2001a. Mise en évidence de composés clés dans l'arôme des vins rosés et clarets de Bordeaux. *J. Int. Sci. Vigne Vin*. **35**, n°2, 99-105.
- Murat M.L., Tominaga T., Dubourdieu D., 2001b. Assessing the aromatic potential of Cabernet Sauvignon and Merlot musts used to produce rosé wine by assaying the cysteinylated precursor of 3-mercaptohexan-1-ol. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 11, 5412-5417.
- Murat M.L., Masneuf I., Darriet P., Lavigne V., Tominaga T., Dubourdieu D., 2001c. Effect of the *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains on the liberation of volatile thiols in Sauvignon blanc wines. *Am. J. Enol. Vitic. Vol.* **53**, n°2, 136-139.
- Murat M.L., 2005. Acquisitions récentes sur l'arôme des vins rosés. Partie 1 : Caractérisation de l'arôme, étude du potentiel aromatique des raisins et des moûts. *Revue des Œnologues*, n°117, 27-30.
- Rankine B.C., 1967. Formation of higher alcohols by wine yeasts, and relationship to taste and thresholds. *J. Sci. Food Agric.* **18**, 181-198.
- Suomalainen H., 1971. Yeast and its effect on the flavour of alcoholic beverages. *J. Inst. Brew.* **77**, 164-177.
- Tominaga T., Masneuf I., Dubourdieu D., 1995. A S-cysteine conjugate, precursor of aroma of white sauvignon. *J. Int. Sci. Vigne Vin*. **29**, 227-232.
- Tominaga T., Peyrot des Gachon C., Dubourdieu D., 1998a. A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc: S-Cysteine Conjugates. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 5215-5219.
- Tominaga T., Murat M.L., Dubourdieu D., 1998b. Development of a method for analyzing the volatile thiols involved in the characteristic aroma of wines made from *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1044-1048.
- Tominaga T., Baltenweck-Guyot R., Peyrot des Gachon C., Dubourdieu D., 2000a. Contribution of volatile thiols to the aromas of white wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *Am. J. Enol. Vitic.* **51**, n°2, 178-181.
- Tominaga T., Blanchard L., Darriet P., Dubourdieu D., 2000b. A powerful aromatic volatile thiols, 2-furanmethanethiol, exhibiting roast coffee aroma in wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 1799-1802.
- Torija M.J., Beltran G., Novo M., Poblet M., Guillamon J.M., Mas A., Rozès N., 2003. Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *Int. J. Food Microbiol.* **85**, 127-136.
- Usseglio, Tomasset L., 1967. L'alcol b-feniletílico nei vini. *Riv. Viticol. Enol.* **20**, 10-35.