

OBSERVATIONS SUR LA CONSOMMATION DE L'OXYGÈNE PENDANT L'ÉLEVAGE DES VINS SUR LIES

OBSERVATIONS ON THE OXYGEN CONSUMPTION DURING MATURATION OF WINES ON LEES

Caroline FORNAIRON*, J.P. MAZAURIC***, J.M. SALMON** et 1
et M. MOUTOUNET***

*Société BOCCARD, Division Alimentaire et Pharmaceutique, 69007 Lyon (France)

**INRA, ISVVM-IPV, Unité de Recherche de Microbiologie et de Technologie des Fermentations, 12 place Viala, 34060 Montpellier (France)

***INRA, ISVVM-IPV, Unité de Recherche des Biopolymères et Arômes, 12 place Viala, 34060 Montpellier (France)

Résumé : Des lies de levures de vinification restées en contact avec un milieu hydro-alcoolique issues de la fermentation d'un milieu de culture synthétique ou de moûts de raisin, après la fin de la fermentation alcoolique, dans des conditions classiques d'élevage sur lies, possèdent une capacité à consommer de l'oxygène pendant une durée minimale de six mois d'élevage à 14°C. La consommation d'oxygène par ces lies apparaît très supérieure à celle attribuée aux autres constituants du vin. Cette consommation est fortement variable selon les souches utilisées. Elle décroît au cours de l'élevage et semble indépendante du milieu. Les résultats obtenus permettent de mieux comprendre l'influence des techniques de bâtonnage ou de micro-oxygénation au cours de l'élevage de vins sur lies.

Abstract : Traditional enological practices (« Bâtonnage » or « microoxygénation » techniques) during wine aging on yeast lees include limited repetitive additions of small amounts of oxygen to the wines. Such empirical practices are generally associated with a limited homogenisation of wine and lees. In this study, the potential relationship between oxygen consumption and the presence of wine lees during wine aging was investigated. Strong oxygen uptake rates by yeast lees were observed during wine aging at 14°C on total yeast lees obtained after fermentation of either synthetic medium or red and white grape musts. These specific oxygen utilization rates by yeast lees is always comprised between 3 and 11 $\mu\text{g O}_2 \text{ h}^{-1} 10^{-9}$ cells from the second to the sixth month of aging. The initial levels of specific oxygen utilization rates and the time-decay of these rates along wine aging were very dependent on yeast strains. However such oxygen utilization rates by yeast lees could be responsible for the total dissolved oxygen depletion from wines in less than 20 hours at 14°C during aging on total lees. Such results were of particular importance to evaluate the exact timing of oxygen additions during wine aging on lees. Further experiments had to be done to determine the biological or chemical nature of such oxygen consumption by lees. Such oxygen consumption by yeast lees may lead to final reaction products which may exert strong organoleptic effects on the final quality of wines.

Mots clés : Levures, *Saccharomyces cerevisiae*, élevage sur lies, consommation d'oxygène

Key words : Yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, lees, wine aging, oxygen demand

INTRODUCTION

L'oxygène est connu pour être un facteur important lors de l'élaboration des vins. Il peut intervenir positivement au cours de nombreuses étapes de cette dernière, mais il peut être aussi la cause de nombreuses oxydations néfastes à la qualité des vins en cas de dissolution excessive d'oxygène.

Les moûts de raisin sont généralement protégés des oxydations par le biais du sulfitage qui exerce un effet

réducteur à l'égard des quinones produites par oxydation enzymatique ou chimique. Le sulfitage est aussi utilisé pour ses propriétés antiseptiques ainsi que pour son pouvoir sélectif sur les micro-organismes. Une technique d'hyperoxygénation des moûts avant fermentation a été proposée afin d'oxyder les polyphénols du moût. MOUTOUNET *et al.* (1990) ont démontré que la quantité d'oxygène consommée pendant la préparation des moûts reste toujours inférieure à leur capacité maximale de consommation déterminée *in vitro*. Aussi, en apportant une quantité suffisante d'oxygène,

les composés formés par polymérisation précipitent et sont éliminés au moment du débouillage, ce qui permet d'assurer une meilleure stabilité physico-chimique des vins, notamment vis-à-vis de l'oxydation. En revanche, l'hyperoxygénation est inefficace dans le cas de moûts riches en glutathion et elle n'est pas pratiquée sur vins rouges. Les effets positifs et négatifs de l'hyperoxygénation ont été démontrés (BLANCK, 1990 ; DUBOURDIEU et LAVIGNE, 1990 ; ARTAJONA *et al.*, 1990). Cette technique, alternative au sulfitage, nécessite toutefois une certaine maîtrise technologique.

Lors de la fermentation alcoolique, l'apport d'oxygène peut être nécessaire à son bon déroulement. La consommation d'oxygène moléculaire par les levures, qui n'est pas assimilable à un métabolisme respiratoire, est décrite comme favorisant la biosynthèse de stérols et d'acides gras insaturés, constituants principaux de la membrane plasmique (ANDREASEN et STIER, 1953). Une étude récente a montré que ce type de consommation favorisait essentiellement la synthèse des stérols (SALMON *et al.*, 1998). SABLAYROLLES et BARRE (1986) ont estimé que les besoins en oxygène en vinification se situaient entre 10 et 20 mg l⁻¹ pour l'ensemble du cycle fermentaire. Les ajouts d'oxygène, très souvent couplés à des ajouts d'azote, permettent à la fois d'améliorer les cinétiques fermentaires, mais aussi de diminuer les risques d'arrêts de fermentations, en augmentant notablement la viabilité cellulaire en fin de fermentation (SABLAYROLLES, 1990).

Le rôle joué par l'oxygène pendant l'élevage des vins est loin d'être négligeable. Par sa pénétration graduelle et lente au cours de l'élevage en barriques, il permet de compenser le mécanisme de réduction qui s'opère au niveau des lies (CHATONNET *et al.*, 1991). Les besoins en oxygène, indépendamment de la présence de lies, ont été estimés à environ 30 mg l⁻¹ pour les vins blancs et à 80 mg l⁻¹ pour les vins rouges non élevés en barriques (SINGLETON, 1979, 1989 ; BOULET et MOUTOUNET, 1998). Pour palier l'absence de ce flux lent d'oxygène, lorsque le vin est élevé en cuve, un appareillage de micro-oxygénation a été mis au point de façon à apporter des quantités très faibles et régulières d'oxygène dissous sans que celui-ci ne s'accumule (MOUTOUNET *et al.*, 1995). Ce procédé permet d'élaborer des vins aux caractéristiques organoleptiques plus complexes.

Les lies jouent un rôle important dans l'élevage et le vieillissement de certains vins blancs. On essaie également d'adapter ce mode d'élevage aux vins rouges. Les lies sont principalement constituées des levures présentes en fin de fermentation alcoolique au fond des cuves mélangées à des sels tartriques, à des bactéries et à des débris organiques. Les lies possèdent un pou-

voir réducteur très important qui permet à certains vins d'être protégés des oxydations trop violentes. Il a été démontré que les lies libèrent des polysaccharides pariétaux, de l'azote ainsi que des acides gras et des acides nucléiques au cours de phénomènes d'autolyse (FEUILLAT, 1987 ; FERRARI, 1988 ; LLAUBÈRES, 1987 ; LEROY *et al.*, 1990). Dans certaines conditions, les lies sont aussi capables d'éliminer certains thiols volatils du vin en les adsorbant sur leur paroi grâce à la formation de ponts disulfure entre mannoprotéines pariétales et groupements thiols (LAVIGNE et DUBOURDIEU, 1996). Cette propriété permet de diminuer les forts goûts de réduit qui peuvent parfois apparaître en présence de lies. Les lies peuvent aussi participer aux stabilisations protéique et tartrique naturelles des vins (MOINE-LEDOUX et DUBOURDIEU, 1998). Enfin, les lies peuvent être aussi utilisées pour décolorer certains vins blancs tachés ainsi que pour diminuer l'astringence des tanins de certains vins rouges (VASSEROT et MAUJEAN, 1998).

D'un point de vue organoleptique, diverses études rendent les lies responsables d'un accroissement de la rondeur, du gras ainsi que du développement de certains arômes dans les vins élevés sur lies (BIOTEAU, 1998 ; FEUILLAT, 1992). Les lies permettraient à certains vins d'acquies un plus grand potentiel de garde (FEUILLAT, 1987). Peu d'études relatent toutefois la relation entre l'oxygène et les lies. Il s'établit un équilibre entre, d'une part la réduction en fond de barrique par les lies, et d'autre part, une oxydation à la surface de la barrique due à l'apport lent d'oxygène par le trou de bonde et par la porosité du bois. L'opération de bâtonnage, geste œnologique empirique, qui consiste à remettre en suspension les lies, est susceptible d'apporter de l'oxygène au vin. La conservation des vins et leur élevage sur lies impliquent donc un contrôle précis des quantités d'oxygène à fournir aux vins selon les effets recherchés.

Lors de l'expérimentation décrite dans cet article, nous avons clairement mis en évidence une capacité des lies de levure de vinification (*Saccharomyces cerevisiae*) à consommer de faibles quantités d'oxygène. Cette capacité semble variable suivant la souche de levure utilisée et décroît de manière sensible dès la fin de la fermentation alcoolique, tout en se maintenant de façon significative pendant au moins 6 mois d'élevage.

MÉTHODES

I- MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE

1) Souches de levures

Sauf indication contraire portée dans le texte, les souches de levures utilisées pour cette expérimentation sont des souches œnologiques de *S. cerevisiae* disponibles sous forme de levures sèches actives (L.S.A.). Les souches suivantes ont été utilisées : K1 (Lallemand), L2898 (ITV), Uvaferm uva (Lallemand), S6u (Lallemand), VL1 (Lallemand) et Fermivin (Gist Brocades).

2) Fermentations au stade du laboratoire

Le milieu de culture utilisé est un milieu synthétique (MS300) qui simule la composition moyenne d'un moût de raisin (BELY *et al.*, 1990). Avant ensemencement, le milieu de culture est purgé à l'argon pendant une demi-heure (teneur finale en oxygène inférieure à 1 mg l^{-1}). Les fermentations ont été réalisées dans des bonbonnes en verre d'une capacité de 20 l et bouchées à l'aide d'un tube capillaire laissant dégager le CO_2 , mais s'opposant à toute entrée d'air dans les conditions de l'expérimentation. Après ensemencement (20 g hl^{-1} de L.S.A.), le récipient est placé sans agitation dans une chambre thermostatée à 28°C , jusqu'à la fin de la fermentation.

3) Fermentations à l'échelle industrielle

Les vinifications sur moûts réels ont été effectuées à l'Unité Expérimentale d'Œnologie (INRA, Gruissan) en cuves inox de 5 hl. Les moûts utilisés ont tous été récoltés à maturité technologique au cours des vendanges 1997. Les cépages Ugni blanc et Chardonnay ont été vinifiés séparément en vendange pure. En ce qui concerne la vinification en rouge, un assemblage a été effectué à la cuve avec les proportions suivantes de différents cépages (en poids) : Marselan (60 p. cent), Arinarnoa (25 p. cent) et Caladoc (15 p. cent). Les vendanges ont été égrappées et encuvées fin août et sulfitées (5 g hl^{-1}). Les ensemencements ont été réalisés à l'aide de levures sèches actives à une dose de 20 g hl^{-1} . La fin de la fermentation alcoolique a été décelée le 2 septembre pour la vinification en rouge et entre le 18 et le 20 septembre pour les vinifications en blanc. La fermentation malolactique s'est terminée le 16 septembre pour la vinification en rouge.

4) Élevage des vins sur lies totales

La fin de fermentation alcoolique est mise en évidence par le dosage des sucres réducteurs dans le milieu de culture par réaction avec l'acide dinitrosalicylique (DNS) (MILLER, 1959). On a considéré que les fermentations étaient terminées si la concentration résiduelle en sucres du milieu était inférieure à 2 g l^{-1} . En ce qui concerne les fermentations à l'échelle industrielle, les cuves sont homogénéisées à la fin de la fer-

mentation alcoolique pour remettre en suspension les lies et effectuer un prélèvement représentatif. Chaque prélèvement est réparti en bouteilles de verre de 750 ml, fermées de façon étanche à l'oxygène de l'air et qui sont ensuite conservées en cave sans agitation à température constante ($t = 14 \pm 2^\circ\text{C}$) jusqu'à leur utilisation. Au moment de l'embouteillage, la teneur en oxygène dissous de tous les vins était inférieure à $0,1 \text{ mg l}^{-1}$. À ce stade, une numération des cellules de levures a été effectuée. Pour les fermentations au laboratoire, lorsque la fermentation est terminée, les bonbonnes, fermées de façon étanche, sont placées sans agitation dans une chambre thermostatée à 14°C .

II- TECHNIQUES ANALYTIQUES

1) Numération cellulaire

Les numérations cellulaires sont effectuées après sonication (30 s, 10 W) à l'aide d'un compteur électronique de particules Coulter Counter ZBI (Coulter Coultronics, Margency, France) équipé d'une sonde à orifice de $100 \mu\text{m}$.

2) Mesure de la viabilité cellulaire

La viabilité cellulaire a été mesurée par détermination du pourcentage de cellules revivifiables (UFC) après étalement sur milieu gélosé YEPD (Yeast Extract 10 g l^{-1} , Peptone 20 g l^{-1} , Glucose 20 g l^{-1}) d'une suspension de lies préalablement numérée. La lecture sur boîtes est effectuée après 48 heures d'incubation à 28°C .

3) Mesure des consommations d'oxygène sur vins réels

Pour chaque échantillon, deux bouteilles sont prélevées dans le local de stockage. La première est utilisée directement après remise en suspension des lies. Le surnageant de la seconde est prélevé de la bouteille pour être filtré sur filtre Millipore (porosité $0,8 \mu\text{m}$). Les lies restantes sont alors remises en suspension dans un volume de tampon citrate/malate $0,033 \text{ M}$ (pH 3,5) équivalent à celui du vin prélevé. Les divers prélèvements sont portés à saturation en oxygène par agitation à l'air et répartis en bouteilles étanches maintenues à la température constante de 20°C . Les courbes de consommation sont mesurées à l'aide d'un oxymètre à électrodes de Clark OXI 196 (WTW, Wissenschaftlich Technische Werkstätten, Weilheim, Allemagne). Les valeurs des vitesses initiales de consommation d'oxygène sont calculées après ajustement de la cinétique de consommation à l'aide du logiciel Sigmaplot (SPSS ASC GmbH, Erkrath, Allemagne).

TABLEAU I

Vitesses de consommation d'oxygène mesurée à 20°C d'un vin blanc (cépage Ugni blanc) conservé 6 mois à 14°C en présence de lies.

(populations : souche L2898, 3×10^8 cellules ml^{-1} ; souche Uvaferm, $1,7 \times 10^8$ cellules ml^{-1} ; souche S6u, 7×10^7 cellules ml^{-1}).

Table I - Oxygen uptake rates of a white wine (Ugni blanc variety) aged for 6 months on its total yeast lees at 14°C. Oxygen uptake rates were measured at 20°C.

(Yeast populations were 3×10^8 , $1,7 \times 10^8$, and 7×10^7 cells ml^{-1} for strains L2898, Uvaferm and S6u respectively.)

Echantillons	Souches utilisées					
	L2898		Uvaferm		S6u	
	$\mu\text{g l}^{-1} \text{h}^{-1}$	$\mu\text{g h}^{-1} 10^{-9}$ cellules	$\mu\text{g l}^{-1} \text{h}^{-1}$	$\mu\text{g h}^{-1} 10^{-9}$ cellules	$\mu\text{g l}^{-1} \text{h}^{-1}$	$\mu\text{g h}^{-1} 10^{-9}$ cellules
Vin sur lies	611,2	2,0	1193,7	7,0	314,2	4,5
Vin filtré (0,8 μm)	0,1	-	0,2	-	0,2	-
Lies seules ^a	542,2	1,8	899,7	5,3	226,4	3,2
Lies thermotraitées ^b	18,6	0,1	198,9	1,2	7,8	0,1

a : lies resuspendues à même densité dans un tampon citrate/malate 0,033 M (pH 3,5)

b : traitement à vapeur fluante pendant 40 minutes.

4) Mesure des consommations d'oxygène sur vins issus de milieux synthétiques

La méthodologie utilisée est celle décrite par SALMON *et al.* (1998). Les cellules sont récupérées par centrifugation (5 min, 500 g) et remises en suspension à une densité cellulaire d'environ 10^9 cellules ml^{-1} dans du tampon phalate (0,1 M, pH 4,5). Après saturation par l'oxygène de l'air en agitant manuellement, l'échantillon est introduit dans une cellule en verre d'une contenance de 1,8 ml, protégée de l'air ambiant par un capillaire, et régulée à une température de 30°C. Un agitateur magnétique assure l'homogénéisation du milieu au cours de la mesure. La mesure de la consommation d'oxygène par les cellules s'effectue à l'aide d'une sonde à oxygène YSI 5331 (Gilson, Middleton, USA) insérée latéralement dans la cellule en verre. La mesure de la vitesse de consommation d'oxygène est réalisée sous agitation constante pendant 20 minutes. La fréquence des mesures est de 10 secondes. La vitesse de consommation d'oxygène est calculée entre 600 et 1 000 secondes. Pour la mesure des vitesses de consommation d'oxygène en présence d'inhibiteurs des voies respiratoires, les cellules sont préincubées 5 minutes à 30°C avant la mesure proprement dite en présence d'antimycine A (0,18 μM), de SHAM (acide salicylhydroxamique, 3mM) et d'azide de sodium (5 mM).

RÉSULTATS

I- MISE EN ÉVIDENCE D'UNE CONSOMMATION D'OXYGÈNE PAR LES LIES DANS DES VINS EN COURS DE MATURATION SUR LIES

Différents vins récupérés en présence de lies au cours de leur vieillissement à 14°C (vins rouges et

TABLEAU II

Vitesses de consommation d'oxygène mesurée à 20°C d'un vin rouge (cépages Marselan, Arinarnoa et Caladoc) conservé 2 mois à 14°C en présence de lies (population : souche Fermivin, $1,4 \times 10^8$ cellules ml^{-1}).

Table II - Oxygen uptake rates of a red wine (Marselan, Arinarnoa and Caladoc varieties) aged for 2 months on its total yeast lees at 14°C. Oxygen uptake rates were measured at 20°C.

(Yeast population was $1,4 \times 10^8$ cells ml^{-1} of strain Fermivin.)

Echantillons	Souche utilisée Fermivin	
	$\mu\text{g l}^{-1} \text{h}^{-1}$	$\mu\text{g h}^{-1} 10^{-9}$ cellules
Vin sur lies	1197,5	8,6
Vin décanté	0,23	-
Vin filtré (0,8 μm)	0,53	-
Vin centrifugé	0,18	-

blancs) présentent une capacité importante de consommation d'oxygène comprise entre 500 à 1 000 μg d' O_2 par litre et par heure à 30°C (tableaux I et II). Cette capacité à consommer de l'oxygène, ramenée au nombre de cellules de levures présentes dans le vin, s'établit autour d'une dizaine de μg d' O_2 consommé par heure pour 10^9 cellules. De façon à prouver que la consommation d'oxygène était bien liée à la présence des levures, les capacités de consommation d'oxygène de ces mêmes vins ont été déterminées après application de divers traitements susceptibles de diminuer leur teneur en levures (décantation, centrifugation ou filtration sur filtre 0,8 μm). Dans tous les cas, l'aptitude des vins à consommer de l'oxygène décroît de façon notable après l'application d'un de ces traitements (tableaux I et II). La consommation d'oxygène attribuable aux seules lies représente près de mille fois la

consommation d'oxygène propre aux seuls constituants du vin. De façon corollaire, l'aptitude à consommer de l'oxygène des lies après remise en suspension à la même concentration dans un tampon malate/citrate (0.033 M ; pH 3,5) montre clairement que la consommation d'oxygène observée dans les vins conservés sur lies doit être attribuée principalement aux lies (tableau I). Le mélange de vins microfiltrés et de leurs lies permet de retrouver systématiquement des vitesses de consommation d'oxygène comparables à celles des vins initiaux (données non présentées). Cette capacité des lies à consommer de l'oxygène n'est pas dans ce cas attribuable à une quelconque activité respiratoire de levures au sein des lies, puisqu'un test de viabilité par repiquage sur milieu de culture complet (YEPD) de ces lies n'a pas permis de détecter de viabilité cellulaire. Un traitement thermique drastique des lies (traitement à vapeur fluante (100°C) pendant 40 minutes) permet de diminuer de façon sensible leur capacité à consommer de l'oxygène (tableau I). Des traitements plus courts à même température n'affectent que partiellement cette consommation d'oxygène (données non présentées).

II- ÉVOLUTION DE LA CONSOMMATION D'OXYGÈNE PAR LES LIES DANS LES VINS EN COURS DE MATURATION SUR LIES

1) Essai sur milieu synthétique

L'étude de l'évolution de la consommation d'oxygène par des lies de *Saccharomyces cerevisiae* pendant l'élevage sur lies a d'abord été effectuée après fermentation d'un milieu de culture synthétique par la souche *S. cerevisiae* K1, et conservation du milieu fermenté à 14°C sur la totalité de la biomasse levurienne produite en absence de contact avec l'oxygène de l'air. La capacité des cellules de levure à consommer de l'oxygène mesurée à 30°C chute rapidement dès la fin de la fermentation alcoolique pour atteindre un niveau constant après environ 1 000 heures (figure 1). Ce niveau s'établit aux alentours de 4 µg d'O₂ consommé par heure pour 10⁹ cellules. Dans ces conditions expérimentales, l'activité de consommation d'oxygène a pu être décelée jusqu'à 3 500 heures d'élevage du vin, soit durant près de cinq mois. L'évolution de la viabilité cellulaire au cours d'une telle expérience montre que la capacité des lies à consommer de l'oxygène après la fin de la fermentation alcoolique se maintient alors que la viabilité cellulaire devient progressivement nulle (figure 1). Une étude récente (SALMON *et al.*, 1998) a défini les diverses voies métaboliques responsables de la consommation d'oxygène par *S. cerevisiae* au cours de la fermentation alcoolique. Nous avons procédé à l'étude de l'effet de divers inhibiteurs des voies respiratoires sur la capacité des lies à consommer de l'oxygène (figure 2). Si la vitesse spé-

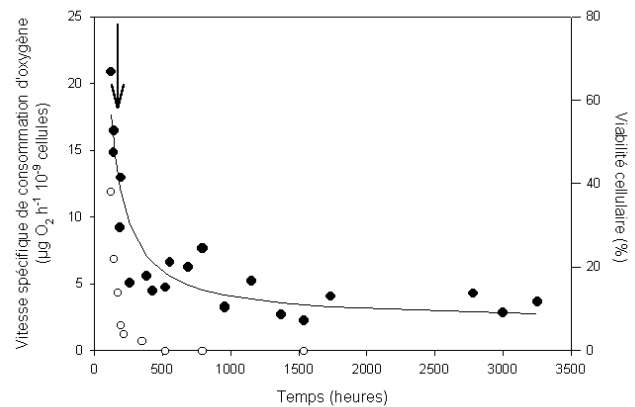


Fig. 1 - Evolution de la vitesse spécifique de consommation d'oxygène par *S. cerevisiae* K1 (●), et de la viabilité cellulaire (○) au cours d'un vieillissement sur lies totales à 14°C d'un milieu de fermentation synthétique MS300.

Mesures de consommation effectuées à 30°C. Données cumulées de deux expérimentations distinctes. Flèche noire : fin de la fermentation alcoolique.

Fig. 1 - Oxygen uptake rates by *S. cerevisiae* K1 (●) and cellular viability (○) during aging of a synthetic wine (MS300) on total yeast lees at 14°C.

Oxygen uptake rates were measured at 30°C. Experimental data originated from two distinct experiments. Black arrow : end of alcoholic fermentation.

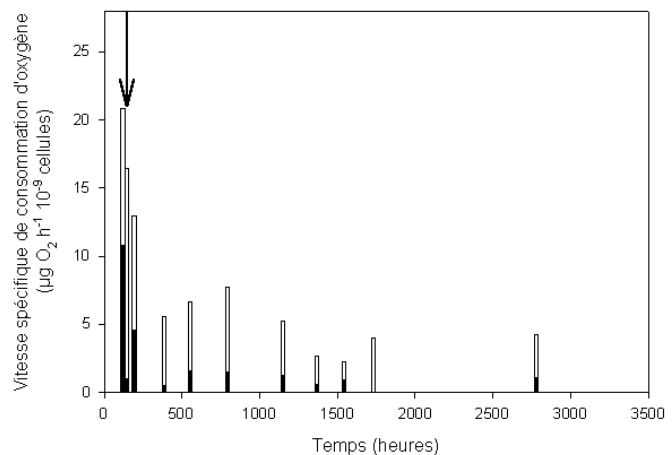


Fig. 2 - Sensibilité de la vitesse spécifique de consommation d'oxygène à l'ajout d'un mélange d'inhibiteurs affectant les voies respiratoires normales et alternatives chez *S. cerevisiae* (Antimycine A 0,18 µM ; SHAM 3 mM ; Azide de sodium 5 mM).

Mêmes conditions expérimentales que pour la figure 1. Flèche noire : fin de la fermentation alcoolique. Fraction de vitesse sensible (boîtes noires) ou insensible (boîtes blanches) à ce mélange d'inhibiteurs.

Fig. 2 - Sensitivity of oxygen uptake rates to several oxygen utilization inhibitors in *S. cerevisiae* (0.18 µM Antimycin A ; 3 mM SHAM ; 5 mM Sodium azide).

Same experimental conditions as described in figure 1. Black arrow : end of alcoholic fermentation. Black boxes : sensitivity, white boxes : non sensitivity.

cifique de consommation d'oxygène obtenue juste après la fin de la fermentation est attribuable pour 50 p. cent au fonctionnement de voies de respiration, la consommation d'oxygène n'est rapidement plus affectée par ces inhibiteurs. Une telle activité de consommation d'oxygène insensible à diverses classes d'inhibiteurs a déjà été signalée par SALMON *et al.* (1998).

2) Essai sur vins

L'évolution de la consommation d'oxygène par des lies de *S. cerevisiae* a été étudiée au cours de l'élevage de vins mené à 14°C sur la totalité de la biomasse levurienne produite au cours de la fermentation. Tout au long de la période d'élevage, ces vins ont été protégés de l'oxygène de l'air, et mis seulement en contact avec celui-ci au moment même de la mesure de consommation par les lies. Les résultats obtenus montrent une évolution globale des vitesses spécifiques de consommation d'oxygène par les lies, similaire à celle obtenue sur milieu synthétique (figures 3 et 4). Toutefois, une forte variabilité des intensités de consommation et de leur évolution au cours du temps est observée en fonction des souches de levures utilisées. Ces différences ne sont pas attribuables à la variabilité des moûts de raisin utilisés pour la fermentation car, pour trois des essais décrits sur la figure 3 (souches L2898, S6u et Uvaferm), le même moût de raisin a été utilisé (cépage Ugni blanc). Ces résultats montrent que la consommation d'oxygène observée est essentiellement due à la qualité des lies présentes pendant le vieillissement. Les résultats obtenus sur vins blancs (figure 3) ne diffèrent pas globalement de ceux obtenus sur vins rouges (figure 4). Au cours du vieillissement, on peut noter des différences considérables de consommation entre souches de levures ; ces différences sont plus particulièrement marquées durant les quinze premiers jours d'élevage (entre 0 et 500 heures après l'ensemencement), mais aussi après 4 mois d'élevage (soit 3 000 heures après l'ensemencement) (tableau III). Ce résultat reflète des différences initiales entre souches de levures à la fin de la fermentation, différences pouvant probablement influencer sur les potentialités de chacune de ces souches à participer à la maturation du vin. Il est aussi à remarquer que les lies conservées en présence de vin ont une activité de consommation d'oxygène qui se maintient plus longtemps et à un niveau plus élevé que celles conservées sur milieu synthétique (figures 1, 3 et 4).

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Les résultats présentés dans cet article permettent d'émettre l'hypothèse que les lies se comportent comme

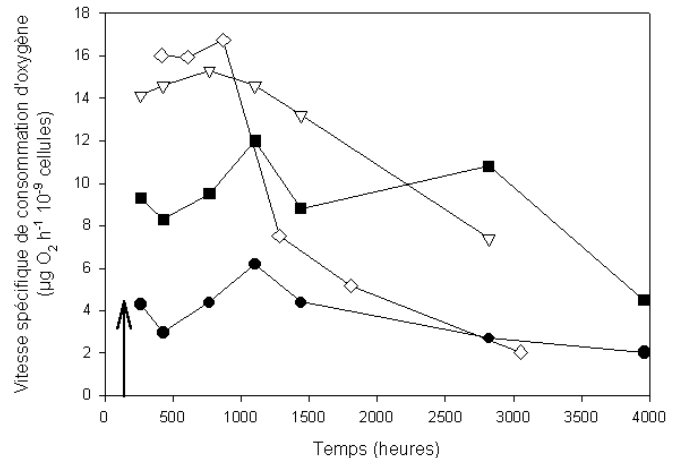


Fig. 3 - Evolution de la vitesse spécifique de consommation d'oxygène par différentes souches de *S. cerevisiae* au cours de vieillissement sur lies totales de divers vins blancs à 14°C.

Flèche noire : fin de la fermentation alcoolique. Mesures de consommation effectuées à 20°C. (●) : souche L2898 / cépage Ugni blanc, (■) : souche S6u / cépage Ugni blanc, (▽) : souche Uvaferm / cépage Ugni blanc, (◇) : souche VL1 / cépage Chardonnay.

Fig. 3 - Evolution of oxygen uptake rates by different *S. cerevisiae* strains during aging of white wines on total yeast lees at 14°C.

Black arrow : end of alcoholic fermentation. Oxygen uptake rates were measured at 20°C. (●) : strain L2898 / Ugni blanc variety, (■) : strain S6u / Ugni blanc variety, (▽) : strain Uvaferm / Ugni blanc variety, (◇) : strain VL1 / Chardonnay variety.

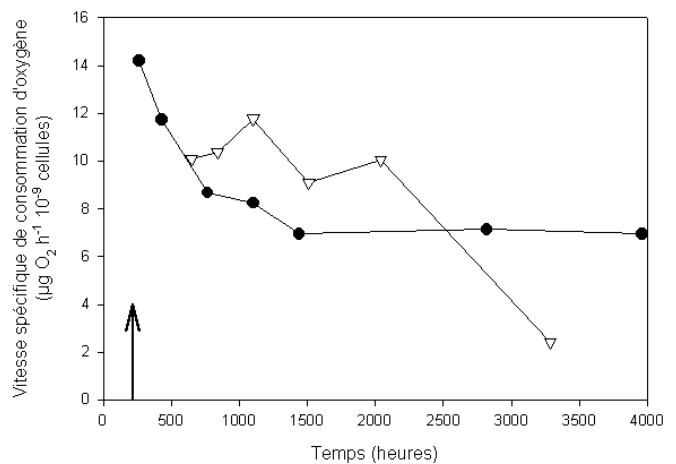


Fig. 4 - Evolution de la vitesse spécifique de consommation d'oxygène par différentes souches de *S. cerevisiae* au cours de vieillissement sur lies totales de divers vins rouges à 14°C.

Flèche noire : fin de la fermentation alcoolique. Mesures de consommation effectuées à 20°C. (●) : fermentation spontanée / cépage inconnu, (■) : souche Fermivin / cépages Caladoc, Arinarnoa et Marselan.

Fig. 4 - Evolution of oxygen uptake rates by different *S. cerevisiae* strains during aging of red wines on total yeast lees at 14°C.

Black arrow : end of alcoholic fermentation. Oxygen uptake rates were measured at 20°C. (●) : spontaneous fermentation / unknown variety, (■) : strain Fermivin / Caladoc, Arinarnoa and Marselan varieties.

TABLEAU III

Comparaison des vitesses spécifiques de consommation d'oxygénation mesurée à 20°C de diverses lies en fonction de leur temps de conservation à 14°C

Table III - Specific oxygen uptake rates of several lees on different wines during aging at 14°C. Oxygen uptake rates were measured at 20°C

Souche de levure	Milieu	QO2 ($\mu\text{g h}^{-1} 10^{-9}$ cellules)		
		après 500 heures	après 3 000 heures	% résiduel après 3 000 h
K1	synthétique	6,6	3,6	55
L2898	moût blanc	4,2	1,8	42
Uvaferm	moût blanc	14,4	7,2	50
S6u	moût blanc	9,0	9,0	100
VL1	moût blanc	16,2	1,8	11
Fermentation spontanée	moût rouge	11,4	7,2	62
Fermivin	moût rouge	10,2	3,0	32

un « capteur d'oxygène » dissous lors du vieillissement des vins sur lies en permettant de protéger les substances oxydables du vin contre l'oxydation. En effet, les expérimentations réalisées montrent que des lies de levures de vinification restées en contact avec le vin après la fin de la fermentation alcoolique dans les conditions classiques d'élevage sur lies possèdent une capacité à consommer de l'oxygène pendant au moins six mois. Cette consommation spécifique d'oxygène par les lies est observée aussi bien sur des lies issues de fermentations industrielles sur moûts de raisin que sur celles issues de fermentations menées à l'échelle du laboratoire sur milieux de culture synthétiques. La consommation spécifique d'oxygène par les lies semble dépendante de la nature de la souche de levure utilisée et indépendante du moût de raisin utilisé. La consommation spécifique d'oxygène reste toujours comprise entre 3 et 11 $\mu\text{g d'O}_2 \text{ h}^{-1} 10^{-9}$ cellules entre le deuxième et le sixième mois d'élevage, quelle que soit la souche de *S. cerevisiae* considérée. La consommation d'oxygène durant l'élevage sur lies peut être particulièrement importante pendant l'élevage en barrique ou lors de traitements susceptibles de favoriser un apport d'oxygène au vin (soutirages, micro-oxygénation) ou d'homogénéiser les lies (bâtonnage, remuage). Dans ces conditions, aux températures d'élevage des vins (14 à 18°C), la totalité de l'oxygène susceptible d'être dissous dans le milieu (entre 9,5 et 10,5 mg l^{-1} à saturation) peut être totalement consommée par les lies en 10 à 20 heures pour une population d'environ 10^{11} cellules l^{-1} .

Jusqu'à nos travaux, la capacité des lies à consommer l'oxygène n'avait pas été clairement démontrée. Seules les interactions entre composés phénoliques et oxygène étaient prises en compte pour interpréter les phénomènes de consommation d'oxygène pendant l'élevage des vins (VIVAS *et al.*, 1993 ; VIVAS et GLORIES, 1993). La prise en compte des interactions entre les lies et l'oxygène devrait donner un premier

élément quantitatif pour définir l'échéancier des ajouts d'oxygène lors de l'élevage de vins sur lies. Cet apport raisonné d'oxygène devrait être en conséquence géré différemment que pour l'élevage de vins clarifiés.

D'un point de vue plus général, les résultats obtenus dans cette étude posent le problème des réactions chimiques ou biologiques à l'origine de la consommation d'oxygène par les lies. Diverses études sont en cours pour clarifier ce point et notamment pour interpréter les différences observées entre souches. De plus, une étude spécifique est en cours pour caractériser les produits finaux des réactions mises en jeu, afin d'évaluer leurs conséquences sur l'arôme des vins obtenus.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDREASEN A. A. et STIER T. J., 1953. Anaerobic nutrition of *Saccharomyces cerevisiae*. I : Ergosterol requirement for growth in a defined medium. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **41**, 23-36.
- ARTAJONA J., BOBET R., MARCO J., SABAT F. et TORRES M.A., 1990. Expérience d'hyperoxygénation au Penedes. *Rev. Fr. Œnol.*, **124**, 65-67.
- BELY M., SABLAYROLLES J.M. et BARRE P., 1990. Description of alcoholic fermentation : its variability and significance. *Am. J. Enol. Vitic.*, **40**, 319-324.
- BIOTEAU C., 1998. L'élevage sur lies fait son retour. *Réussir Vigne*, **36**, 32-33.
- BLANCK G., 1990. Utilisation de l'hyperoxydation pour la valorisation des moûts de taille en Champagne. *Rev. Fr. Œnol.*, **124**, 50-57.
- BOULET J. C. et MOUTOUNET M., 1998. Élevage des vins. 3- Microoxygénation des vins. In : *Œnologie. Fondements scientifiques et technologiques*, ed. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 1044-1054.

- CHATONNET P., BOIDRON J.N. et DUBOURDIEU D., 1991. Incidence of fermentation and aging in oak barrels on the composition and quality of white wines. *Australian and New Zealand Wine Ind. J.*, **6**, 73-84.
- DUBOURDIEU D. et LAVIGNE V., 1990. Incidence de l'hyperoxygénation sur la composition chimique et la qualité organoleptique des vins blancs secs du Bordelais. *Rev. Fr. Oenol.*, **124**, 58-61.
- FERRARI G. et FEUILLAT M., 1988. L'élevage sur lie de vins blancs des Bourgogne. I - Etude des composés azotés, des acides gras et analyse sensorielle des vins. *Vitis*, **27**, 183-193.
- FEUILLAT M., 1987. L'élevage des vins blancs de Bourgogne. In : *Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie*, ed. Guimberteau G., n° spécial Connaissance Vigne Vin, 123-142.
- FEUILLAT M., 1992. Vins blancs vinifiés en fûts : l'interaction du bois et des lies. *Viti*, **170**, 103-104.
- LAVIGNE V. et DUBOURDIEU D., 1996. Mise en évidence et interprétation de l'aptitude des lies à éliminer certains thiols volatils du vin. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **30**, 201-206.
- LEROY M. J., CHARPENTIER M., DUTEURTRE B., FEUILLAT, M. et CHARPENTIER C., 1990. Yeast autolysis during champagne aging. *Am. J. Enol. Vitic.*, **41**, 21-28.
- LLAUBÈRES R. M., 1987. Rôle de la biomasse levurienne dans l'élevage des vins blancs en barriques. In : *Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie*, ed. Guimberteau G., n° spécial Connaissance Vigne Vin, 113-122.
- MILLER G.L., 1959. Use of dinotrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, **31**, 426-428.
- MOINE-LEDOUX V. et DUBOURDIEU D., 1998. Interprétation moléculaire de l'amélioration de la stabilité protéique des vins blancs au cours de leur élevage sur lies. *Rev. Oenol.*, **86**, 11-14.
- MOUTOUNET M., DUCOURNAU P., CHASSIN M. et LEMAIRE T., 1995. Appareillage d'apport d'oxygène aux vins. Son intérêt technologique. In : *Oenologie 1995 - 5^e Symp. Int. Oenol.*, ed. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 411-414.
- MOUTOUNET M., RIGAUD J., SOUQUET J.M. et CHEYNIER V., 1990. Influence de quelques paramètres sur l'oxydation des moûts de raisin. Interprétations technologiques. *Rev. Fr. Oenol.*, **124**, 32-37.
- SABLAYROLLES J.M. et BARRE P., 1986. Évaluation des besoins en oxygène de fermentations alcooliques en conditions œnologiques simulées. *Sci. Alim.*, **6**, 373-383.
- SABLAYROLLES J.M., 1990. Besoins en oxygène lors des fermentations œnologiques. *Rev. Fr. Oenol.*, **124**, 77-79.
- SALMON J.M., FORNAIRON C. et BARRE P., 1998. Determination of oxygen utilization pathways in an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae* during enological fermentation. *J. Ferment. Bioeng.*, **86**, 154-163.
- SINGLETON V.L., 1979. Oxidation of wines. I. Young white wines periodically exposed to air. *Am. J. Enol. Vitic.*, **30**, 49-54.
- SINGLETON V.L., 1989. Browning and oxidation of musts and wines. *Proc. 4th Ann. Midwest Regional Grape and Wine Conf.*, **4**, 87-93.
- VASSEROT Y. et MAUJEAN A., 1998. Optimisation des moûts champenois de Pinot noir par traitement décolorant avec des lies levuriennes. *Rev. Fr. Oenol.*, **170**, 59-62.
- VIVAS N. et GLORIES Y., 1993. Les phénomènes d'oxydoréduction liés à l'élevage en barrique des vins rouges : Aspects technologiques. *Rev. Fr. Oenol.*, **142**, 33-38.
- VIVAS N., ZAMORA F. et GLORIES Y., 1993. Incidence de certains facteurs sur la consommation de l'oxygène et sur le potentiel d'oxydoréduction dans les vins. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **27**, 23-34.

Reçu le 7 octobre 1998 ; révisé le 10 février 1999
 accepté pour publication le 4 mars 1999.
