

INCIDENCE DE LA TEMPÉRATURE ET DU pH SUR LA PRODUCTION D'ACIDE MALIQUE PAR *Saccharomyces Cerevisiae*.

G.A. FARRIS, F. FATICHENTI et P. DEIANA

Instituto di Microbiologia agraria e tecnica,
Università, via de Nicola, 07100 Sassari (Italie)

Résumé : *Dans ce travail on étudie la formation d'acide malique par deux souches différentes de Saccharomyces cerevisiae cultivées sur substrat synthétique en conditions anaérobies, en fonction de différentes valeurs de température et pH.*

Les deux souches produisent environ 1 g/l d'acide malique à 25°C et à pH 4,2.

L'opportunité d'utiliser ces souches pour la fermentation des moûts des régions chaudes est discutée.

INTRODUCTION

La capacité qu'ont les levures du genre *Saccharomyces* de produire de l'acide malique à partir du glucose est connue depuis longtemps (BATTACHARAJEE et al., 1968), (LLAGUNO, 1979). Il est possible de tirer parti de cette propriété pour la production de vin dans les régions chaudes où la quantité d'acide malique des moûts est souvent faible.

Suite à des travaux précédents sur ce sujet (FATICHENTI et al., 1978, 1981, 1984) nous portons ici les résultats de deux essais conduits au moyen de deux souches de *Saccharomyces*, sur le milieu synthétique, dans le but de préciser les valeurs de température et du pH pour lesquelles la production d'acide malique est maximale.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Souches de levures. Les deux souches de levures utilisées avaient au préalable été isolées à partir de moûts de raisin de la Sardaigne et sélectionnées sur la base de leurs caractéristiques œnologiques les plus importantes. Elles avaient aussi déjà été utilisées dans le travail cité plus haut (FATICHENTI et al., 1984). Il s'agit des souches 1083 et 1141 de la Collection de levures œnologiques de notre Institut.

Substrat. On a utilisé un unique substrat constitué, par litre, de glucose (180 g) et de Yeast Nitrogen Base (7 g), stérilisé par filtration sur membrane Millipore de 0,22 µm. Les essais ont été réalisés en anaérobiose, sur 450 ml de milieu placés dans des matras de 500 ml non agités.

Inoculums. Chaque souche a été précultivée en agitation pendant 48 heures, dans des éprouvettes contenant le même substrat. Les suspensions cellulaires utilisées pour les inoculums ont été obtenues en lavant par deux fois les cultures dans NaCl 0,15 M. Les inoculums ont été faits dans chaque matras de façon à assurer une concentration initiale de cellules égale à $2,5 \cdot 10^6$ cellules par ml. L'incidence de la température et du pH a été étudiée au cours de deux essais différents avec, pour chacun trois répétitions. Dans le premier essai, on a testé l'incidence de cinq températures ($10^\circ - 15^\circ \text{C} - 20^\circ \text{C} - 25^\circ \text{C} - 30^\circ \text{C}$) pour un même pH égal à 3,6; dans le deuxième essai, l'incidence de cinq valeurs du pH a été testée (3,0 - 3,3 - 3,6 - 3,9 - 4,2) à une même température, 20°C . Dans chaque cas, le pH est maintenu constant en tamponnant le milieu de culture au moyen d'une solution citrate-phosphate. Les analyses des échantillons ont été faites, respectivement, 1, 3, 7, 10 et 15 jours après ensemencement. A chaque analyse, on dose l'acide malique par voie enzymatique (Boehringer), l'alcool par méthode pondérale poids de CO_2 libéré, et on effectue une numération directement au microscope.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Incidence de la température : Comme le montrent les résultats de cet essai (figure 1a et 1b), la température optimale pour la production d'acide malique est de 25°C . Des températures inférieures ou supérieures diminuent nettement l'aptitude des levures à produire de l'acide malique. La principale différence entre les souches étudiées ne réside pas dans la teneur en acide malique produit, sensiblement équivalente, mais dans le temps de production. La souche 1083 étant beaucoup plus rapide que la souche 1141 (3 jours contre 7). Ces différences se retrouvent également dans la production d'alcool (données qui, pour simplifier, n'ont pas été reportées dans les figures). En effet, la souche 1083 épuise tout le sucre disponible entre les 3^e et 8^e jour tandis qu'au terme de l'expérience (quinze jours) la souche 1141 n'a pas encore métabolisé tous les sucres.

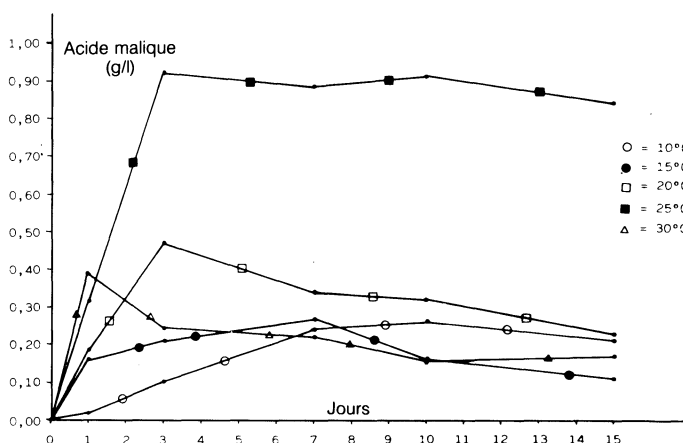


Fig. 1a. — Incidence de la température, à pH constant (3,6) sur la production d'acide malique par *Saccharomyces cerevisiae*, souche 1083.

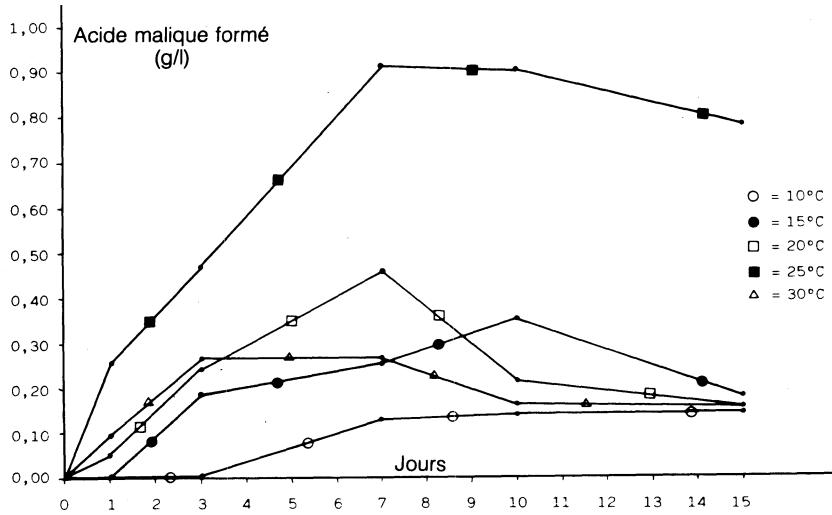


Fig. 1b. — Incidence de la température, à pH constant (3,6) sur la production d'acide malique par *Saccharomyces cerevisiae*, souche 1141.

Incidence du pH : Les résultats de ces essais (valeurs des 3 répétitions) sont reportées dans les figures 2a et 2b. C'est à pH 4,2 que la production d'acide malique est maximale. Les différences entre souches sont moins importantes que dans l'essai précédent ce qui s'explique probablement par le fait que les levures ont travaillé à 20°C. Dans cet essai l'acide malique formé semble diminuer plus rapidement que dans l'essai à pH constant. Dans ce cas aussi, la souche 1083 se révèle plus rapide que la souche 1141, mais la différence reste la même c'est-à-dire 3 jours contre 7. La différence de vitesse de production de l'acide malique est donc un caractère lié à la souche.

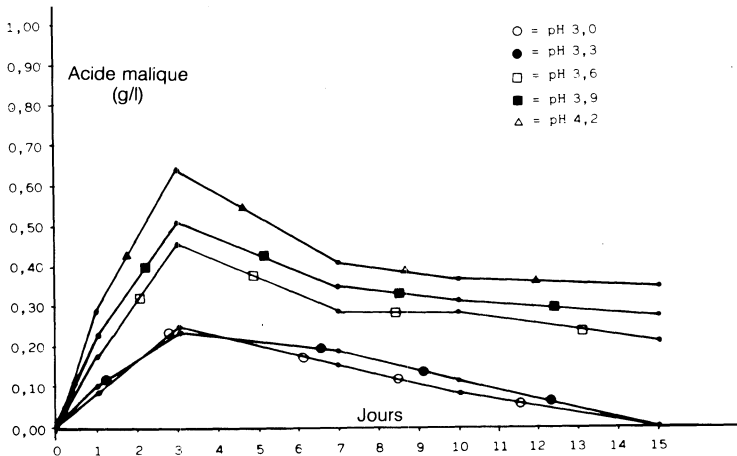


Fig. 2a. — Incidence du pH, à température constante (20°C) sur la production d'acide malique par *Saccharomyces cerevisiae*, souche 1083.

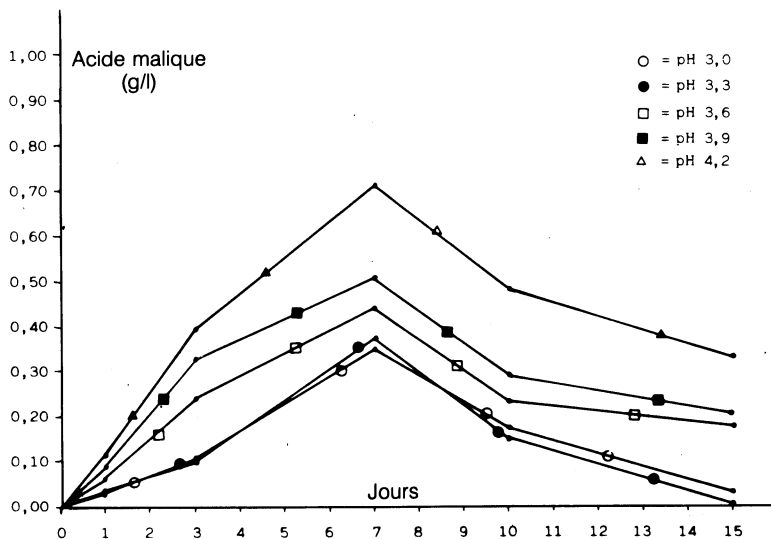


Fig. 2b. — Incidence du pH, à température constante (20°C), sur la production d'acide malique par *Saccharomyces cerevisiae*, souche 1141.

Ces résultats confirment nos résultats précédents obtenus également en milieu synthétique mais avec d'autres levures, (FATICENTI et al., 1984). Les deux souches étudiées ici sont capables de produire jusqu'à presque 1 g/l d'acide malique dans les conditions optimales de température et de pH (respectivement : 25°C et 4,2). Si cette valeur de pH n'est pas celle d'un moût en fermentation, pour des valeurs inférieures, la production d'acide malique demeure encore importante pour des valeurs plus faibles. Le destin de cet acide malique d'origine microbienne n'est certainement pas différent de celui de l'acide malique constitutif du moût et, comme lui, est destiné à être métabolisé par des levures elles-mêmes et par des bactéries malo-lactiques. Il n'en demeure pas moins d'un réel intérêt dans la vinification des moûts ayant une acidité malique insuffisante, parce qu'il contribue à maintenir la teneur en acide malique du vin jeune au même niveau au moins que celle du moût d'origine.

Manuscrit reçu le 5 février 1988 ; accepté pour publication le 3 septembre 1988.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BATTACHARAJEE J.K., MARAGOUKAKIS M.E., STRASSMORN M., 1968. Identification of malic acid from yeast *J. Bacteriol.*, **95**, 495-497.
- FATICENTI F., FARRIS G.A., DEIANA P., CECCARELLI S., 1978. Comportamento di cinque stipti di *Sacch. cerevisiae* durante la fermentazione alcolica al variare della temperatura e del pH. *Riv. Vitic. Enol. Conegliano*, **31**, 258-275.
- FATICENTI F., FARRIS G.A., DEIANA P., CECCARELLI S., SERRA M., 1981. Commercial trial of winemaking using two selected starters of *Sacch. cerevisiae* which do not reduce malic acid content. *Am. J. Enol. Vitic.*, **32**, 236-240.

FATICHENTI F., FARRIS G.A., DEIANA P., CECCARELLI S., 1984. Malic acid production and consumption by selected strains of *Sacch. cerevisiae* under anaerobic and aerobic conditions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **19**, 427-429.

LLAGUNO C., 1979. Équipement enzymatique des levures. *Bull. O.I.V.*, **52**, 716-732.