

INCIDENCE DE LA COMPOSITION COLLOIDALE DES MOÛTS BLANCS SUR LEUR FERMENTESCIBILITÉ

Ch. OLLIVIER, Th. STONESTREET, Françoise LARUE et D. DUBOURDIEU

Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II
351, cours de la Libération, 33405 Talence Cedex (France)

INTRODUCTION

Le débouillage dans la vinification en blanc a déjà fait l'objet de nombreux travaux (RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975 ; SINGLETON et *al.*, 1975 ; WILLIAMS et *al.*, 1978 ; LAFON-LAFOURCADE et *al.*, 1980) mais peu d'auteurs se sont intéressés à la nature du trouble résiduel des moûts clarifiés et à son rôle dans la vinification.

Pourtant, il a souvent été remarqué que la turbidité des moûts après débouillage a une incidence majeure sur le déroulement de la fermentation alcoolique (GROAT et OUGH, 1978 ; HOUTMAN et DU PLESSIS, 1981 ; VAN ROYEN et TROMP, 1982 ; TROMP, 1983). Pour expliquer ce phénomène, on a jusqu'ici invoqué l'« effet support » pour la levure des « bourbes fines » ainsi que leur rôle nutritionnel. Aucune étude n'a porté sur les relations entre ces « bourbes fines » et certains produits secondaires de la fermentation alcoolique comme les acides gras dont le rôle inhibiteur sur la levure en vinification a été clairement démontré (LAFON-LAFOURCADE et *al.*, 1984).

Nous montrons, dans cette étude, que la composition colloïdale des moûts est un facteur important de leur fermentescibilité.

La composition colloïdale des moûts comprend l'ensemble des macromolécules (polysaccharides, protéines) solubles et en cours de floculation. Nous distinguerons donc, dans cette étude, les colloïdes solubles du « trouble colloïdal » appelés aussi « bourbes fines ».

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

I. — INCIDENCE SUR LA FERMENTATION ALCOOLIQUE DES SUBSTANCES PRECIPITABLES DES MOÛTS PAR L'ETHANOL (POLYSACCHARIDES) ET LE SULFATE D'AMMONIUM (PROTEINES).

Les précipitations à l'éthanol et au sulfate d'ammonium sont effectuées sur un moût issu d'une macération préfermentaire (DUBOURDIEU et *al.*, 1986) de 18 heures du cépage Sauvignon. Le moût, prélevé dans une cave, est conservé au laboratoire à - 4°C.

Les polysaccharides sont précipités d'un litre de moût par 5 volumes d'éthanol (USSEGLIO-TOMASSET, 1976). Le précipité, centrifugé, est lavé 2 fois par un mélange éthanol-eau (5/1).

Les protéines sont précipitées d'un litre de moût par addition de 560 g de sulfate d'ammonium (80 p. 100 de saturation).

Les deux précipités obtenus sont dialysés 24 heures sous courant d'eau afin d'éliminer les micromolécules, en particulier l'éthanol et le sulfate d'ammonium ayant servi aux précipitations. Les dialysats sont lyophilisés.

Trois lots sont ensuite constitués par supplémentation d'un jus de raisin commercial préparé par filtration et connu pour sa médiocre fermentescibilité.

La teneur en sucre du jus de raisin est portée, par addition de saccharose, à 210 g par litre.

- T est le lot témoin, il ne reçoit aucune supplémentation en macromolécules.
- EtOH est additionné du précipité éthanolique purifié, issu d'un litre du moût brut de Sauvignon.
- SA reçoit le précipité au sulfate d'ammonium purifié, issu d'un litre du même moût de Sauvignon.

Ces échantillons sontensemencés par 100 mg par litre d'une préparation de levure sèche UVAFERM CM (souche Montrachet 522). Les fermentations se déroulent à 19°C. On suit, au cours du temps, la dégradation des sucres et l'évolution de la population levurienne vivante par comptage des colonies sur moût gélosé.

II. — INCIDENCE DE LA COMPOSITION COLLOIDALE DU MOUT DEBOURBE SUR SA FERMENTESCIBILITE.

A partir de 10,5 litres d'un moût de Muscadelle issu d'une macération préfermentaire de 18 heures à 20°C, 7 lots de 1,5 litre sont constitués.

Le lot DG (débouillage grossier) est obtenu après débouillage grossier de 6 heures, à température ambiante.

Le lot DF (débouillage à froid) est obtenu après débouillage au froid à 5°C pendant 18 heures du lot DG ; ceci correspond à la technique de clarification mise en œuvre dans la cave dont le moût est originaire.

Le lot DE (débouillage enzymatique) est préparé à partir de DF par débouillage supplémentaire de 20 heures à 15°C en présence de 10 mg par litre d'une préparation d'enzyme pectinolytique commerciale.

Le lot C (centrifugé) est issu du lot DF par centrifugation au laboratoire à 10 000 rpm pendant 30 mn.

Le lot C + TC (centrifugé + trouble colloïdal) est obtenu par addition, au lot C, du trouble colloïdal recueilli par centrifugation. La teneur en trouble colloïdal de C + TC correspond au double de la teneur normale du lot DF.

Enfin, le lot C + M (centrifugé + macromolécules solubles) est obtenu par addition au lot C des macromolécules solubles concentrées par ultrafiltration du lot C lui-même. La teneur en macromolécules solubles du lot C + M est double de celle du lot C.

La teneur en sucre des différents lots est portée, par addition de saccharose, à 210 g par litre. Après ensemencements par une levure sèche LEVULINE ALS. (souche EG 8), à la dose de 100 mg par litre, les échantillons sont placés à 19°C. Au cours de la fermentation, on suit la dégradation des sucres et l'évolution de la population levurienne vivante et totale (LAFON-LAFOURCADE et JOYEUX, 1979).

III. — MISE EN EVIDENCE DE L'ADSORPTION DES ACIDES GRAS PAR LE TROUBLE COLLOÏDAL DU MOUT.

Le trouble colloïdal du lot DF (dont la turbidité est de 60 NTU) est recueilli par centrifugation et ajouté en quantité variable à un milieu modèle de composition suivante par litre : éthanol, 120 g ; saccharose, 20 g ; acide tartrique, 5 g ; acide hexanoïque, 5,6 mg ; acide octanoïque, 10,8 mg ; acide décanoïque, 4,3 mg. Le pH est ajusté à 3,4 par addition de soude.

Les quantités de trouble colloïdal ajoutées sont telles que les turbidités des 4 lots constitués soient respectivement 15, 31, 62 et 124 NTU mesurées au néphélomètre (SIGRIST).

Les prélèvements effectués après 24 heures de contact sont centrifugés. Les teneurs en acides gras des surnageants sont déterminés par chromatographie en phase gazeuse après extraction par l'éther-hexane selon les méthodes décrites par TORES-ALEGRE (1982).

IV. — DOSAGE DES MACROMOLECULES SOLUBLES.

Les macromolécules solubles (polysaccharides totaux et protéines) sont analysées par CLHP selon les techniques précédemment décrites (DUBOURDIEU et al., 1986).

V. — ANALYSE DU TROUBLE COLLOÏDAL.

La composition en polysaccharides neutres et acides est déterminée par les méthodes colorimétriques au phénol-sulfurique et au métaphényl-phénol sulfurique décrites par DUBOURDIEU (1982).

L'azote total est déterminé par la méthode KJELDALL ; on en déduit la teneur en protéines.

RÉSULTATS

I. — INCIDENCE SUR LA FERMENTATION ALCOOLIQUE DES MACROMOLÉCULES SOLUBLES DU MOUT (POLYSACCHARIDES, PROTEINES).

Le tableau I donne la composition, avant fermentation, en polysaccharides solubles totaux et protéines du lot de moût témoin (T) et des lots supplémentés en précipité éthanolique (EtOH) et en précipité au sulfate d'ammonium (SM).

TABLEAU I

Composition en macromolécules des moûts témoin (T) et supplémentés (SM et ETOH). Incidence sur la vitesse et le terme de la fermentation alcoolique.

	Identification des lots		
	T	SM	ETOH
Protéines (mg/l)	2	212	14
Polysaccharides totaux (mg/l)	159	164	291
Durée de la fermentation alcoolique (jours)	17	24	24
Sucre à l'arrêt de la fermentation (g/l)	13	3,6	1,0

Le lot SM est enrichi en protéines alors que sa teneur en polysaccharides est inchangée par rapport au lot témoin. Au contraire, le lot (EtOH) est essentiellement enrichi en polysaccharides.

La supplémentation des moûts en macromolécules apporte une nette amélioration de leur fermentescibilité mais l'épuisement des sucres n'est atteint que dans le lot (EtOH) additionné de polysaccharides.

Les faibles écarts, dans l'évolution des populations levuriennes vivantes (figure 1) au cours de la fermentation ne permettent pas d'expliquer les arrêts de fermentation observés.

Le rôle des colloïdes du moût sur la fermentation alcoolique est confirmé par l'expérience décrite ci-dessous.

II. — INCIDENCE DE LA COMPOSITION COLLOIDALE DU MOUT DEBOURBE SUR SA FERMENTESCIBILITE.

Le tableau II donne d'abord, pour les différents lots, la turbidité, les teneurs en polysaccharides solubles totaux et protéines ; il donne aussi la durée de la fermentation et la teneur en sucres réducteurs à l'arrêt de celle-ci.

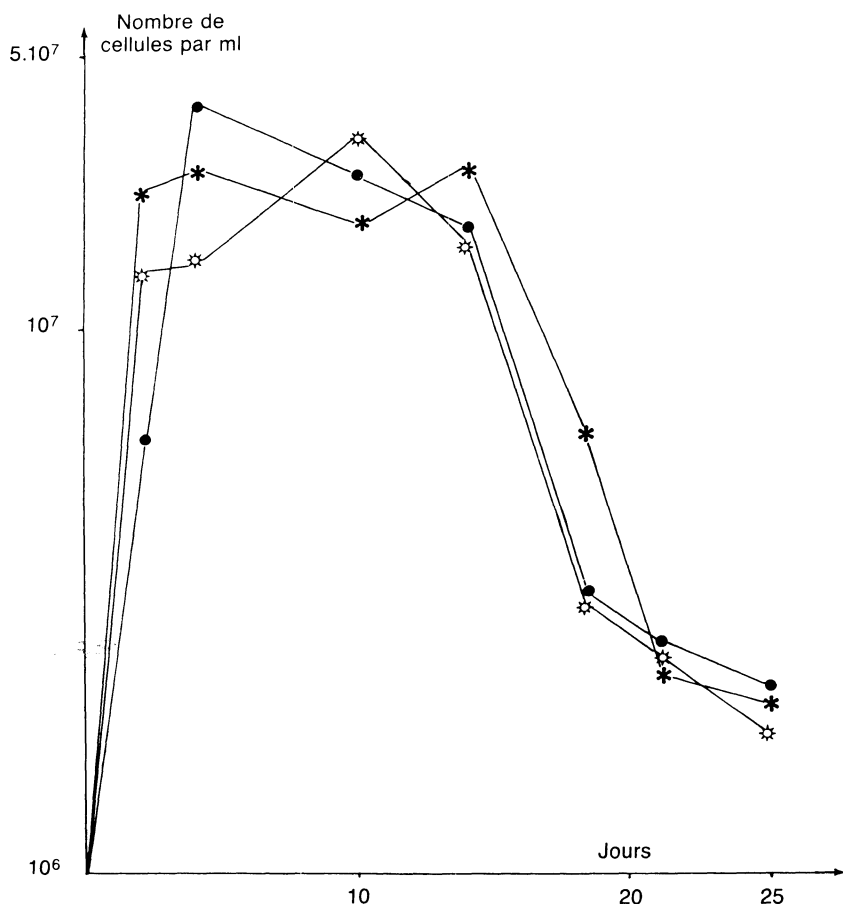


Fig. 1. — Évolution des populations vivantes au cours de la fermentation alcoolique.

* ETOH : mout + précipité à l'éthanol. ☼ SA : mout + précipité au sulfate d'ammonium. ● T. : mout témoin

TABLEAU II
Incidence de la composition colloïdale du moût débourbé
sur la durée et le terme de la fermentation alcoolique.

	Identification des lots					
	DG	DF	DE	C	C + TC	C + M
Turbidité (NTU)	280	62	1,5	2,6	120	6,8
Protéines (mg/l)	—	506	412	356	382	548
Polysaccharides totaux (mg/l)	344	323	218	318	323	540
Durée de la fermentation alcoolique (jours)	18	25	33	54	25	31
Sucre à l'arrêt de la fermentation (g/l)	1,2	2,0	2,0	2,7	2,0	1,9

La diminution de la turbidité des moûts entraîne un allongement de la durée de la fermentation alcoolique pouvant déboucher (dans le lot centrifugé C) sur un arrêt de la fermentation avant épuisement complet des sucres.

TABLEAU III

Incidence de la composition colloïdale du moût débourbé sur l'évolution des populations levuriennes totales et vivantes.

	Détermination (1)	Identification des lots					
		DG	DF	DE	C	C + TC	C + M
3°	CT	34	21	5,3	10	18	11
	CV	33	20	3,1	6,9	15	9,3
	SR	160	165	170	165	170	162
6°	CT	110	72	37	35	62	47
	CV	88	60	27	28	52	37
	SR	—	85	155	160	135	90
12°	CT	100	70	34	31	60	45
	CV	82	58	26	25	50	32
	SR	7,2	19,5	55,5	56,0	48,5	47,5
20°	CT	98	58	32	29	59	43
	CV	50	34	13	12	30	17
	SR	1,8	2,9	10,2	14,5	3,2	8,1
27°	CT		65	30	27	57	40
	CV		20	7	7	22	10
	SR		1,0	2,5	7,0	1,0	2,2
33°	CV			4,5	3,9		6,2
	SR			1,0	3,0		1,2
42°	CV				1,9		
	SR				2,8		
56°	CV				1,0		
	SR				2,7		

(1) CT : cellules totales (million/ml)
CV : cellules vivantes (million/ml)
SR : sucres réducteurs (g/l)

La supplémentation du lot C, soit en trouble colloïdal (lot C + TC), soit en macromolécules solubles (lot C + M) rétablit des conditions de fermentation proches de celles du lot DF.

Le tableau III rapporte l'évolution au cours de la fermentation alcoolique la teneur en sucres et des populations levuriennes vivantes et totales dans les différents cas. Dès le 3^e jour de la fermentation, l'incidence du trouble colloïdal est manifeste. Son élimination (lot C et lot DE) exerce

un effet dépressif sur les populations levuriennes. Au sixième jour, les teneurs en sucre des différents lots présentent des écarts importants ; l'activité fermentaire est plus élevée dans les lots pourvus en trouble colloïdal (DG, DF, C + TC) ou supplémenté en macromolécules solubles (C + M).

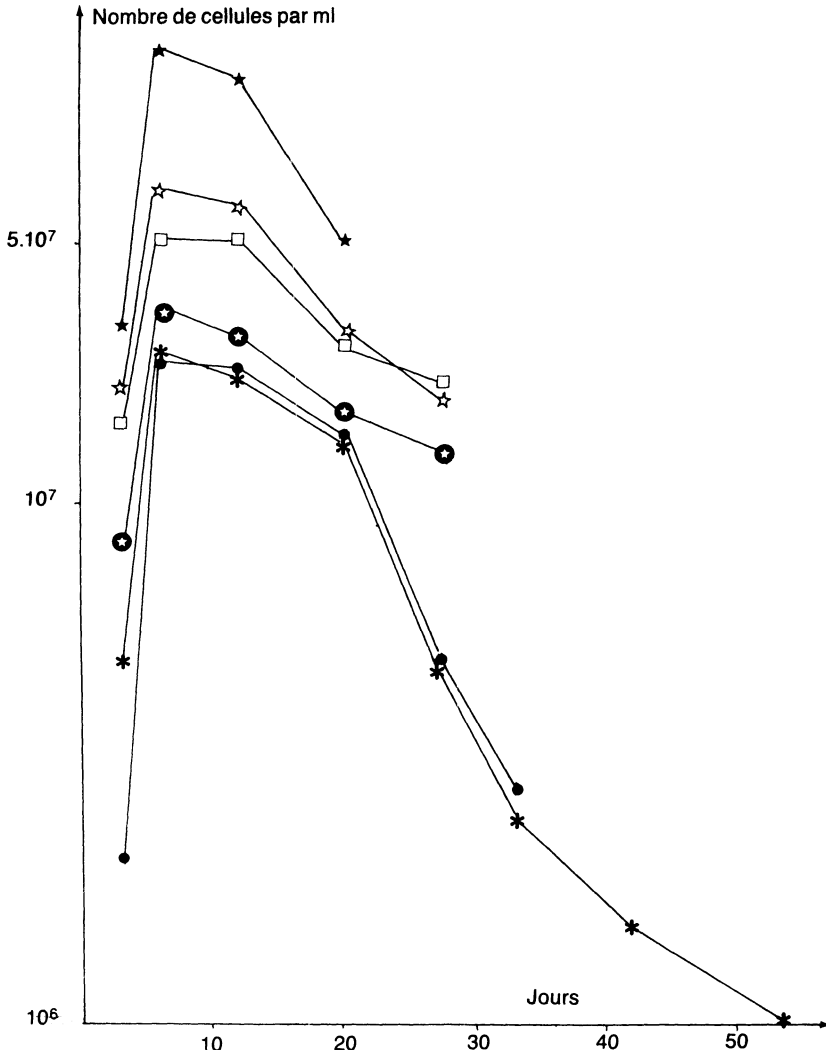


Fig. 2. — Évolution des populations vivantes au cours de la fermentation alcoolique.

- ☆ DF : moût débourbé à froid
- ★ DG : moût débourbé grossièrement
- C + M : moût centrifugé + macromolécules solubles
- DE : moût débourbé à froid + débouillage enzymatique
- ✱ C : moût centrifugé
- C + TC : moût centrifugé + trouble colloïdal

La figure 2 montre également qu'en fin de fermentation, la présence de trouble colloïdal dans le moût ou sa supplémentation en macromolécules maintient les populations viables à un niveau plus élevé. Ces substances agiraient donc aussi comme « facteur de survie » de la levure (LAFON-LAFOURCADE et *al.*, 1979).

III. — ADSORPTION DES ACIDES GRAS PAR LE TROUBLE COLLOIDAL DES MOUTS.

L'addition du trouble colloïdal à un milieu hydroalcoolique contenant des acides gras en C₆, C₈, C₁₀, provoque une nette diminution des quantités d'acide octanoïque et décanoïque restant en solution dans le milieu (Tableau IV). Pour une quantité de trouble colloïdal équivalent à 60 NTU (c'est-à-dire correspondant à celle du lot DF), l'adsorption des acides gras représente environ 20 p. 100 de la teneur initiale en acide octanoïque et 50 p. 100 de la teneur initiale en acide décanoïque. Cette capacité d'adsorption est comparable, dans le même milieu modèle, à celle de 0,5 g d'écorces de levures par litre (LAFON-LAFOURCADE et *al.*, 1984).

TABLEAU IV

Influence de l'importance du trouble colloïdal sur l'adsorption des acides gras après 24 heures de contact.

Les concentrations en acides gras sont exprimés en mg par litre.

Turbidité (NTU)	Acide hexanoïque	Acide octanoïque	Acide décanoïque
1	5,6	10,8	4,1
15	5,6	11,0	4,3
31	5,0	10,2	3,3
62	4,4	7,5	1,5
124	5,3	8,7	2,0

IV. — COMPOSITION DU TROUBLE COLLOIDAL.

Un culot de centrifugation issu de 100 ml de moût est analysé. La composition est la suivante : polysaccharides neutres, 20 p. 100 ; polysaccharides acides, 28 p. 100 ; matières minérales, 13 p. 100 ; azote protéique, 23 p. 100.

On remarque que la somme des polysaccharides neutres et acides représente plus de la moitié des constituants du trouble. L'azote protéique représente moins du quart. Ce résultat est à rapprocher des variations de fermentescibilité observées dans le premier essai qui montre une inci-

CONCLUSION

Ces observations montrent clairement que la composition du moût débourbé en macromolécules solubles et en trouble colloïdal joue un rôle déterminant sur le développement et le terme de la fermentation alcoolique en vinification en blanc sec. Dans le cas du trouble colloïdal nous donnons une interprétation de ce phénomène en démontrant que ces substances adsorbent certains produits secondaires du métabolisme levurien, inhibiteurs de la fermentation alcoolique. Ces résultats rejoignent l'ensemble des travaux de S. LAFON-LAFOURCADE (1986) sur l'importance des phénomènes d'inhibition dans les arrêts de fermentation. Par ailleurs, les travaux en cours suggèrent que certaines souches de *S. cerevisiae* sont plus sensibles que d'autres à la clarification des moûts. Elles sont moins bien adaptées à la vinification sur jus clairs.

Compte tenu du rôle des colloïdes sur le déroulement de la fermentation alcoolique, il conviendrait donc d'accorder une plus grande attention à la turbidité des moûts débourbés, facilement mesurable par néphélométrie. Il existe pour chaque cépage, une fourchette optimum de limpidité des jus assurant à la fois, une bonne fermentescibilité des moûts et la finesse de l'arôme variétal des vins. A priori, pour les cépages bordelais, 50 et 200 unités (NTU) semblent être les bornes extrêmes de cette fourchette. Mais il convient, en fonction de l'état de maturité et du cépage, d'affiner ces résultats. Ce travail est au programme de nos prochaines expérimentations.

Manuscrit reçu le 5 janvier 1987 ; accepté pour publication le 20 février 1987.

RESUME

La composition colloïdale des moûts, c'est-à-dire les macromolécules solubles et les « bourbes fines », joue un rôle déterminant sur le développement et le terme de la fermentation alcoolique en vinification en blanc sec.

La fixation des acides gras par les « bourbes fines » permet l'interprétation partielle du phénomène. Ces résultats montrent qu'il conviendrait, dans la pratique, d'accorder une plus grande attention à la turbidité des moûts débourbés ainsi qu'à leur teneur en macromolécules.

SUMMARY

Must colloïdal composition, ie soluble macromolecules and "racking light sediments" play an important role on the development and the finishing fermentation in white wine vinification.

The fatty acids fixed on the "racking light sediments" allow to explain partially this phenomenon. These results show that it would be convenient, in practical conditions, to pay a greater attention on the turbidity of racked musts and on their macromolecule contents.

ZUSAMMENFASSUNG

Die kolloidale Zusammensetzung des Mostes, d.h., die löslichen Macromoleküle und der "feine Schlamm", spielt eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung der alkoholischen Gärung in der Weißweinherstellung.

Die Bestimmung der Feltsäuren durch den "feinen Schlamm" erlaubt eine teilweise Deutung dieses Phänomens.

Diese Ergebnisse zeigen, daß folglich in der Praxis, der trüben Konsistenz des entschlammten Mostes und seinem Gehalt an Macromolekülen, in Zukunft mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden muß.

RESUMEN

La composición coloidal de los mostos, es decir macromoléculas solubles y burbas finas, desempeña un papel mayor en el desarrollo completo de la fermentación alcohólica de los vinos blancos secos.

La adsorción de los ácidos grasos sobre las burbas finas permite interpretar el fenómeno parcialmente. Eso demuestra la importancia que se le tendría que dar en la práctica a la turbidez de los mostos desfangados así como a la cantidad de macromoléculas.

RIASSUNTO

La composizione colloidale dei mosti, cioè le macromolecole solubili e le "feccie fini", tiene una parte determinata sullo sviluppo e il termine della fermentazione alcolica nella vinificazione dei vini bianchi secchi.

La fissazione degli acidi grassi per le "feccie fini" permette l'interpretazione parziale del fenomeno. Questi risultati mostrano che bisognerebbe, nella pratica, fare una più grande attenzione alla torbidità dei mosti decantati e al loro percentuale in macromolecole.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DUBOURDIEU D., 1982. Recherches sur les polysaccharides sécrétés par *Botrytis cinerea* dans la baie de raisin. *Thèse Doctorat d'Etat, Université de Bordeaux II.*
- DUBOURDIEU D., OLLIVIER Ch. et BOIDRON J.-N., 1986. Incidence des opérations préfermentaires sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins blancs secs. *Connaissance Vigne Vin*, **20**, n° 1, 117-139.
- GROAT M. et OUGH C.S., 1978. Effects of insoluble solids added to clarified musts on fermentation rate, wine composition and wine quality. *Am. J. Enol. Vitic.*, **29**, n° 2, 1121-119.

- HOUTMAN A.-C. et DU PLESSIS C.-S., 1981. The effect of juice clarity and several conditions promoting yeast on fermentation rate, the production of aroma components and wine quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **2**, 71-81.
- LAFON-LAFOURCADE Suzanne et JOYEUX Annick, 1979. Techniques simplifiées pour le dénombrement et l'identification des microorganismes vivants dans les moûts et les vins. *Connaissance Vigne Vin*, **13**, n° 4, 295-310.
- LAFON-LAFOURCADE Suzanne, LARUE Françoise et RIBÉREAU-GAYON P., 1979. Evidence for the existence of "survival factors" as an exploitation for some peculiarities of yeast growth, especially in grape must of high sugar concentration. *Appl. Envir. Microbiol.*, **38**, 1069-1073.
- LAFON-LAFOURCADE Suzanne, DUBOURDIEU D., HADJINICOLAOU D. et RIBÉREAU-GAYON P., 1980. Incidence des conditions de travail des vendanges blanches sur la clarification et la fermentation des moûts. *Connaissance Vigne Vin*, **14**, n° 2, 127-138.
- LAFON-LAFOURCADE Suzanne, GENEIX Catherine et RIBÉREAU-GAYON P., 1984. Inhibition of alcoholic fermentation of grape must by fatty acids produced by yeast and their elimination by yeast ghost. *Appl. Envir. Microbiol.*, **47**, 1246-1249.
- LAFON-LAFOURCADE Suzanne, 1986. Applied microbiology, *Experientia*, **42**, n° 8, 904-914.
- RIBÉREAU-GAYON P., LAFON-LAFOURCADE Suzanne et BERTRAND A., 1975. Le débourage des moûts de vendange blanche. *Connaissance Vigne Vin*, **9**, n° 2, 117-139.
- SINGLETON V.-L., SIEBERHAGEN, de WET P. et VAN WIK C.-J., 1975. Composition and sensory qualities of wines prepared from white grapes by fermentation with and without grape solids. *Am. J. Enol. Vitic.*, **26**, n° 2, 62-69.
- TORES-ALEGRE V.-M., 1982. Formation des acides gras et autres produits secondaires au cours de la vinification. Interprétation statique des résultats. *Thèse de 3^e Cycle, Université de Bordeaux II*.
- TROMP A., 1983. Influence de la souche de levure, des bourbes, de l'azote et de la température de fermentation sur la vitesse de fermentation et sur la qualité des vins. *Congrès International et de Vigne et du Vin de l'O.I.V., Le Cap*, 261-275.
- USSEGLIO-TOMASSET L., 1976. Les colloïdes glucidiques solubles des moûts et des vins. *Connaissance Vigne Vin*, **10**, n° 2, 193-198.

VAN ROOYEN P.-C. et TROMP A., 1982. The effect of fermentation time (as induced by fermentation and must conditions) on the chemical profile and quality of a *Chenin blanc* wine. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **30**, 278-283.

WILLIAMS J.-T., OUGH C.-S. et BERG H.-W., 1978. White wine composition and quality as influenced by method of must clarification. *Am. J. Enol. Vitic.*, **29**, n° 2, 92-96.