

OBSERVATIONS SUR LE METABOLISME DES BACTERIES LACTIQUES DANS LES MOÛTS DE RAISINS ALTERES.

Maria Vitoria SAN ROMAO

avec la collaboration de A.P. de COSTE BELCHIOR, M.F. SILVA ALEMAO
et A. GONÇALVES BENTO.

Estação Vitivinícola Nacional, Dois Portos, Portugal.

INTRODUCTION

On possède peu d'informations sur le métabolisme des bactéries lactiques dans les moûts de raisins pourris.

Le développement préalable de *Botrytis cinerea* sur le moût de raisin favorise la croissance des bactéries lactiques et stimule la fermentation lactique des sucres (SAN ROMAO et LAFON-LAFOURCADE, 1979). Le champignon sécrète dans le moût d'importantes quantités de glycérol (RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975) ; ce polyol est un activateur des bactéries lactiques (LUCMARET, 1980).

L'incidence du développement des bactéries acétiques est variable selon l'âge de la culture et les espèces acétiques et lactiques mises en œuvre ; mais on observe généralement une stimulation des fermentations lactiques aux dépens des sucres et de l'acide malique, notamment dans les cultures acétiques jeunes (JOYEUX, 1983).

Cependant, sur les raisins de vendanges altérées (pourriture vulgaire), on trouve d'autres parasites : *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*. Il est probable que les sécrétations de chacun interviennent dans la composition du moût.

Dans ce travail, on a utilisé des moûts extraits de raisins altérés et sains. On a comparé le métabolisme de quatre souches de bactéries lactiques appartenant à des espèces différentes dans les deux sortes de moûts de même teneur en sucre et de même pH.

Pour tenter d'interpréter ces résultats, l'étude a été poursuivie dans un milieu synthétique additionné ou non des polysaccharides isolés des moûts de raisins pourris et de glycérol.

TABLEAU I

Métabolisme des bactéries lactiques dans les moûts extraits de raisins sains et de raisins pourris.

		Substrats dégradés			Substances formées	
		Sucre (g/l)	Acide gluconique (g/l)	Acide citrique (g/l)	Acide lactique (g/l)	Acide acétique (g/l)
<i>Leuconostoc</i> <i>Gracile</i>	Mout sain	10,1	0,03	0,10	7,68	0,12
	Mout pourri	58,4	0,88	0,10	6,10	0,12
<i>Lactobacillus</i> <i>hilgardii</i>	Mout sain	10,5	0,05	0	8,93	0,17
	Mout pourri	25,8	0	0	9,17	0,16
<i>Pediococcus</i> <i>cerevisiae</i>	Mout sain	7,1	0,005	0,04	5,62	0,14
	Mout pourri	18,1	0,24	0,12	7,11	0,09
<i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i>	Mout sain	50,2	0,07	0,05	8,91	0,035
	Mout pourri	18,7	0	0,09	10,02	0,14

Composition initiale par litre :

- 1) mout sain : acide malique : 2,5 g ; acide gluconique : 0,11 g ;
acide citrique : 0,28 g ; acide acétique : 0,02 g.
- 2) mout pourri : acide malique : 2,5 g ; acide gluconique : 0,95 g ;
acide citrique : 0,30 g ; acide acétique : 0,15 g.

MATERIELS ET METHODES

Les souches bactériennes expérimentées sont : *Leuconostoc oenos* GM, *Pediococcus cerevisiae* Ja₂, *Lactobacillus plantarum* A 8014, *Lactobacillus hilgardii* BC₂.

Les moûts sont extraits, par deux pressurages successifs à 3 kg/cm², de raisins soigneusement choisis, sains et altérés. Ils sont amenés au même pH (3,5) et à la même concentration en sucre (184 g/l). L'inoculation est effectuée à raison de 10⁶ bactéries vivantes par ml ; on laisse incuber à 25° C.

Les polysaccharides des moûts extraits de raisins pourris sont isolés par précipitation à l'éthanol à 85 p. 100 après élimination des glucanes par traitement du moût à 50 p. 100 vol. éthanol et élimination de l'insoluble (DUBOURDIEU, 1978). Le précipité, recueilli par centrifugation, est ajouté à concentration trois fois plus forte que dans le moût d'origine, dans le milieu synthétique (par litre : glucose 10 g ; acide DL-malique 5 g ; extrait de levure 5 g ; acides aminés de caséine 5 g ; pH 4,5)

A l'arrêt des fermentations lactiques, on dose les sucres réducteurs et l'éthanol par méthode chimique, les acides malique, lactique L (+) et D (—), gluconique, citrique, le glycérol, les glucose et fructose, par méthodes enzymatiques (BERGMEYER, 1974).

Le mannitol a été mis en évidence par la technique de PEYNAUD et DOMERCQ, citée par RIBÉREAU-GAYON et *al.*, (1961). On fait évaporer à température ambiante 10 ml de milieu fermenté ; après 48 h, des paillettes caractéristiques apparaissent visibles à l'œil nu.

RESULTATS

Dans le moût de raisins pourris, à l'arrêt des fermentations lactiques, *Leuconostoc oenos*, *Lactobacillus hilgardii* et *Pediococcus cerevisiae*, ont transformé 2,5 à 5 fois plus de sucre que dans le moût sain ; le phénomène est inversé dans le cas de *Lactobacillus plantarum* (tableau I). Egalement quelques centaines de mg d'acide gluconique par litre et quelques dizaines de mg d'acide citrique par litre supplémentaires sont dégradés ; il se forme moins d'acide acétique et d'éthanol et davantage de glycérol. L'acide malique est totalement épuisé par les quatre souches bactériennes dans les deux types de moût.

La teneur en acide lactique L (+) et D (—), provenant des sucres, ramenée à 100 g de sucre fermenté, par litre, est totalement différente dans chacun des moûts. Elle est de 2 à 7 fois plus grande dans le moût sain ensemencé par *Leuconostoc oenos*, *Lactobacillus hilgardii* et *Pediococcus cerevisiae*, et inversement en ce qui concerne les moûts inoculés par *Lactobacillus plantarum* (tableau II).

TABLEAU II

**Principaux produits formés pour 100 g de sucre dégradé
par les bactéries lactiques, dans les moûts sains et dans les moûts pourris.**

		Acide lactique (g/l)	Acide acétique (g/l)
<i>Leuconostoc gracile</i>	Moût sain	76,03	1,21
	Moût pourri	10,44	0,20
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	Moût sain	85,05	1,58
	Moût pourri	35,55	0,62
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	Moût sain	79,17	2,00
	Moût pourri	39,28	0,51
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Moût sain	17,75	0,69
	Moût pourri	53,59	0,74

Dans les moûts pourris, on observe, après évaporation du liquide, la formation d'un important précipité cristallin, caractéristique du mannitol.

Dans une autre série d'essai, on a étudié la croissance et le métabolisme des mêmes souches bactériennes dans le milieu synthétique additionné ou non du précipité polysaccharidique extrait du moût de raisins pourris.

En présence de précipité la population maximale de *Leuconostoc oenos* et *Pediococcus cerevisiae* (fig. 1) est atteinte plus rapidement, mais n'est pas modifiée dans sa valeur ; celle de *Lact. hilgardii* est fortement accrue ; celle de *Lact. plantarum* n'est pas affectée.

La quantité de sucre fermenté est supérieure de 33 à 50 p. 100, la formation d'acide acétique plus faible (tableau III).

Mais, contrairement à ce qui a été observé dans le moût de raisin, la formation d'acide lactique total provenant du sucre, ramenée à 100 g de sucre fermenté par litre, est plus élevée que dans le milieu dépourvu de précipité (tableau IV).

DISCUSSION

Ces résultats soulignent l'incidence de la composition du moût à l'égard du métabolisme des bactéries lactiques du vin. Ils confirment la

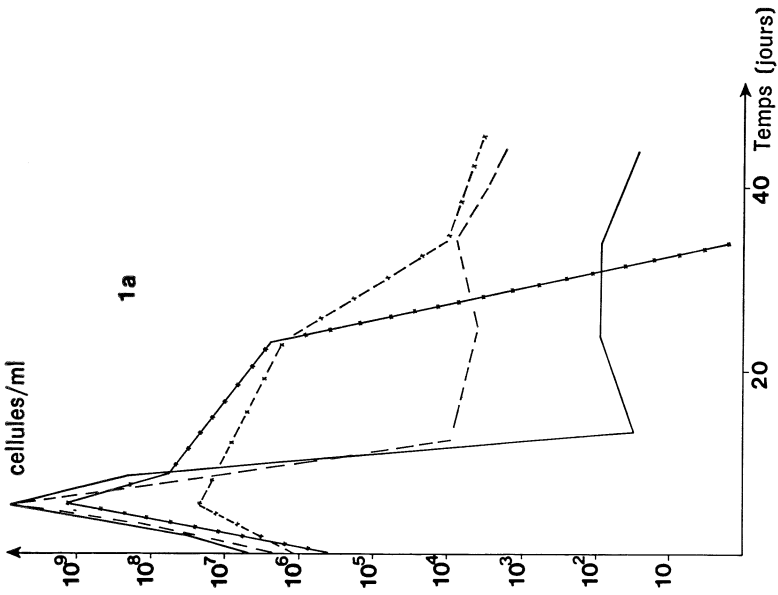


Fig. 1 a — *Lactobacillus plantarum* en l'absence de précipité
Lactobacillus plantarum en présence de précipité
Lactobacillus hilgardii en l'absence de précipité
Lactobacillus hilgardii en présence de précipité.

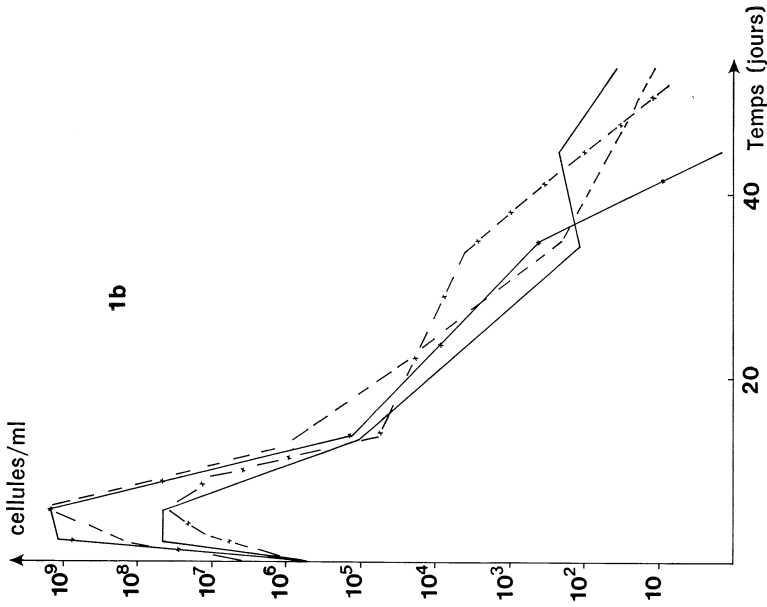


Fig. 1 b — *Leuconostoc gracile* en l'absence de précipité
Leuconostoc gracile en présence de précipité
Pediococcus cerevisiae en l'absence de précipité
Pediococcus cerevisiae en présence de précipité.

Fig. 1a et 1b. — Evolution des populations de bactéries lactiques en milieu synthétique additionné ou non de précipité alcoolique extrait de moût pourri.

TABLEAU III

Métabolisme des bactéries lactiques dans un milieu synthétique avec et sans extrait alcoolique obtenu à partir d'un moût de raisins pourris.

		Sucre dégradé (g/l)	Acide lactique formé (g/l)	Acide acétique formé (g/l)
<i>Leuconostoc gracile</i>	cpp	9,71	8,70	0,34
	spp	6,12	5,04	0,36
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	cpp	9,80	9,01	0,35
	spp	6,53	5,33	0,15
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	cpp	9,80	8,77	0,19
	spp	5,72	4,36	0,20
<i>Lactobacillus plantarum</i>	cpp	9,57	8,75	0,19
	spp	4,77	3,29	0,27

cpp : avec extrait alcoolique ; spp : sans extrait alcoolique.

TABLEAU IV

Principaux produits formés à partir de 100 g de sucre par litre dégradé par les bactéries lactiques, dans le milieu synthétique, additionné ou non d'extrait alcoolique.

		Acide lactique (g/l)	Acide acétique (g/l)	Ethanol (g/l)
<i>Leuconostoc gracile</i>	cpp	89,56	3,52	2,16
	spp	82,32	5,95	0,16
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	cpp	91,98	3,61	0,56
	spp	81,56	2,50	0,78
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	cpp	89,53	1,95	—
	spp	76,19	3,50	—
<i>Lactobacillus plantarum</i>	cpp	91,41	1,99	—
	spp	68,91	5,62	—

cpp : avec extrait alcoolique ; spp : sans extrait alcoolique.

stimulation de l'activité fermentaire de ces microorganismes dans les moûts extraits de raisins parasités par *Botrytis cinerea* et altérés. Sur-tout, ils mettent en évidence une déviation métabolique importante : dans le moût de raisins pourris, une grande partie des sucres fermentés par *L. œnos*, *Lact. hilgardii* et *P. cerevisiae* est transformée en les produits habituels (acide lactique, éthanol, acide citrique) mais surtout en mannitol.

Le précipité polysaccharidique est bien à l'origine de la stimulation bactérienne. Mais dans le milieu synthétique ne contenant que du glucose, au contraire, la formation d'acide lactique est accrue.

Ces observations suggèrent que les sécrétions des parasites des raisins pourris favorisent la réduction du fructose en mannitol par certaines bactéries lactiques ; ce sucre servant d'accepteur d'électrons, la dégradation de pentose phosphate en sa présence est plus énergétique. Ceci pourrait expliquer en partie la stimulation de la croissance dans ce type de moût.

Ces observations expliquent la sensibilité des moûts extraits de vendanges en mauvais état sanitaire à la piqûre lactique et à la maladie des vins appelée mannite.

L'interprétation complète de ces résultats nécessite une étude précise du métabolisme des bactéries lactiques dans les moûts ayant servi de culture aux différents parasites fongiques intervenant dans l'altération des raisins.

Manuscrit reçu le 22 avril 1985 ; accepté pour publication le 29 mai 1985.

RÉSUMÉ

Dans les moûts de raisins pourris, recueillis dans les conditions de la pratique, le métabolisme des bactéries lactiques est dévié ; on observe une accumulation de mannitol aux dépens du fructose.

SUMMARY

In the must extracted from grapes infected by parasitic fungi, the lactic acid bacteria metabolism is modified. Under this condition an accumulation of mannitol is observed from fructose.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Stoffwechsel der Milchsäurebakterien wird in den Most fauler Trauben, die in der Praxis gepflückt werden, umgeleitet. Eine Mannitol Anhäufung zum Nachteil der Fruktose ist zu beobachten.

RESUMEN

En los mostos de uvas contaminadas por mohos el metabolismo de las bacterias lácticas puede desviarse. Se observa entonces, la formación de un polialcohol, el manitol, a partir de fructosa.

RIASSUNTO

Nei mosti d'uva marcia, raccolti nelle condizioni della pratica, il metabolismo delle batterie lattiche é deviato ; osserviamo un'accumulazione di mannite al posto del fruttosio .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERGMEYER U., 1974. Methods of enzymatic analysis. *Academic Press, London.*
- DUBOURDIEU D., 1978. Etude des polysaccharides sécrétés par *Botrytis cinerea* dans la baie de raisin. Incidence sur les difficultés de clarification des vins de vendanges pourries. *Thèse Docteur-Ingénieur, Université de Bordeaux II.*
- JOYEUX A., 1983. Analyse microbiologique des raisins, des moûts et des vins — Application à l'étude des bactéries acétiques. *Thèse d'Université, Université de Bordeaux II.*
- LUCMARET V., 1980. L'acidité volatile des vins liquoreux. *Thèse de 3ème cycle, Université de Bordeaux II.*
- RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E., 1961. *Traité d'œnologie, vol. 2, 464, Dunod, Paris.*
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1975. *Sciences et techniques du vin, vol. 2, Dunod, Paris.*
- SAN ROMAO M.V. et LAFON-LAFOURCADE S., 1979. Premières observations sur l'action de *Botrytis cinerea* cultivé sur moût de raisins à l'égard du métabolisme des bactéries lactiques dans les moûts et dans les vins. *Vitis, 18, 155-160.*