

# ÉTAT DES CONNAISSANCES SCIENTIFIQUES ACTUELLES SUR LE PHÉNOMÈNE D'AUTOLYSE DES LEVURES ET L'ÉLEVAGE DES VINS SUR LIES

## NEW TRENDS ON YEAST AUTOLYSIS AND WINE AGEING ON LEES: A BIBLIOGRAPHIC REVIEW

Caroline FORNAIRON-BONNEFOND<sup>1</sup>, Carole CAMARASA<sup>2</sup>,  
M. MOUTOUNET<sup>3</sup> et J.-M. SALMON<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Société BOCCARD, Division Alimentaire et Pharmaceutique, 75, rue de Gerland,  
69007 Lyon (France).

<sup>2</sup>Équipe Microbiologie et de Technologie des Fermentations,

<sup>3</sup>Équipe Biopolymères et Arômes.

Unité Mixte de Recherches INRA / ENSAM / UMI Sciences pour l'œnologie,  
2 place Viala, 34060 Montpellier (France).

**Résumé :** En œnologie le vin peut être maintenu lors de l'élevage en présence de ses lies (levures et débris végétaux) qu'elles soient issues de la première ou de la seconde fermentation. Bien que, dans la pratique, peu de règles soient bien établies pour la mise en place de tels élevages, de nombreux travaux scientifiques ont pourtant eu lieu sur les nombreuses facettes de cette opération technologique. Toutefois, la multiplicité des modèles expérimentaux utilisés dans ces études ne rend pas forcément facile une appréciation globale des divers phénomènes biologiques mis en jeu. Cette revue bibliographique a été entreprise dans le but de détailler de façon la plus exhaustive possible la majorité des travaux scientifiques réalisés sur les lies de vin, en insistant notamment sur les macromolécules directement relarguées au cours de l'autolyse des levures, mais également en présentant les aspects techniques d'une telle pratique.

**Abstract :** In enology, lees are mainly used in the traditional practice of « sur lies » wine ageing, which consists of carrying on the contact between wine and lees (yeasts and vegetal residues) during ageing. Lees come either from first or second fermentation, and could be used for white or red wines elaboration. Such an enological practice remains yet empirical. In the present paper, the state of art was investigated in order to collect and analyze most of the scientific works realized on wine lees. It includes also technological points relevant from such a practice. A clear definition of wine lees from legal and technological points of view was given in the first part of the present paper. A second part described the mechanisms of autolysis and focused more precisely on each class of identified autolysis products. Many scientific works had indeed revealed the yeast autolysis phenomenon occurring during such a way of wine ageing. All these works remained mainly based on identification of yeast macromolecules released in the wine during the autolysis phenomenon. However, the experimental methodologies followed by the different authors are variable, and most of the obtained results were difficult to extrapolate to actual wine ageing on lees. Only few works dealt with the physicochemical properties of such lees during autolysis, specially towards oxygen, polyphenols and other wine compounds. A compilation of recent data obtained on these peculiar topics was then given. In a third and last part, the effect of ageing wine on lees was approached from a technical point of view.

**Mots clés :** levures, autolyse, *Saccharomyces cerevisiae*, élevage sur lies.

**Key words :** yeast, autolysis, *Saccharomyces cerevisiae*, lees, wine ageing on lees.

## INTRODUCTION

L'objectif de cette revue bibliographique est de présenter l'ensemble des données existant actuellement au niveau scientifique sur le phénomène d'autolyse des lies de levures, afin d'en appréhender l'impact potentiel sur l'élevage de vins sur lies. Cet impact sera analysé par rapport aux modifications de l'état physiologique des lies, mais aussi en interprétant les

modifications tant au niveau organoleptique que technologique subies par le milieu lors de cette autolyse.

L'élevage des vins sur lies se pratique traditionnellement depuis longtemps pour l'élevage de grands crus de vins blancs. Pourtant, un regain d'intérêt pour cette option technologique est également constaté pour les vins rouges, depuis plusieurs années. Ce mode d'élevage consiste à faire vieillir les vins en présence de leurs

lies (levures issues de la fermentation alcoolique et débris végétaux résiduels du moût). L'apport bénéfique de cette pratique a été surtout étudié au niveau des interactions lies/milieu notamment au niveau des libérations de composés de levures. Néanmoins, cette pratique particulière est encore empreinte d'un certain empirisme ne s'appuyant pas sur de fortes bases scientifiques.

## LES LIES DE VIN

### I - DÉFINITION LÉGALE DES LIES DE VIN

La lie de vin est définie par le règlement communautaire CEE n°337/79 comme étant le « résidu qui se dépose dans les récipients contenant du vin après la fermentation, ou lors du stockage ou après traitement autorisé, ainsi que le résidu obtenu de la filtration ou de la centrifugation de ce produit ». Trois catégories de lies, obtenues après la fin de la fermentation alcoolique, sont distinguées par la réglementation de la Direction générale des impôts de 1987 (figure 1) :

Les lies claires ou « vins de dépôt », obtenues après soutirage, sont des produits non parvenus à dessiccation complète et qui contiennent encore une certaine quantité de vin. Parmi ces lies, on distingue au dessus de la « grosse lie » (ou « lie vierge »), la « fine lie », elle-même surmontée de « faux clair » (ou vin trouble), puis de vin clair.

Les « lies grasses », qui contiennent moins de vin que les lies claires.

Les « lies sèches », qui sont des lies dont on ne peut extraire aucune quantité de vin.

La Communauté européenne interdit tout pressurage des lies de vin qui permettrait d'en extraire du vin afin de le récupérer. Mais d'après ce règlement, les traitements comme « la filtration et la centrifugation des lies de vin ne sont pas considérées comme pressurage lorsque, d'une part, les produits obtenus sont sains, loyaux et marchands et que, d'autre part, les lies ainsi traitées ne sont pas réduites à l'état sec ».

### II - DÉFINITION DES VINS SUR LIES

On dit qu'un vin est « sur lie », ou « sur bourre », tant qu'il n'a pas reçu de soutirage, une fois la fermentation alcoolique terminée. Le règlement CEE n°822/87 autorise l'utilisation dans les vins, pour des quantités non supérieures à 5 p. cent, de lies fraîches, saines et non diluées, qui contiennent des levures provenant de la vinification récente de vins secs (RENOUIL et FERET, 1988). Les vins contiennent alors soit leurs lies originelles, soit celles issues d'autres fermentations alcooliques qui leur sont ajoutées.

L'élevage des vins sur lies se pratique dans certaines régions viticoles, notamment dans le pays Nantais, en Savoie et en Bourgogne. L'usage de la mention « sur lies » est prévu par décret de production, c'est notamment le cas des vins du muscadet, du gros plant Nantais, des vins de pays des sables du Golfe du Lion et des vins de pays d'Oc. Ces textes prévoient tous des conditions particulières de production et spécifient notamment que les vins doivent se trouver encore sur leurs lies fines de vinification au moment de la mise en bouteilles.

Les vins élevés sur lies selon la pratique Bourguignonne sont généralement conservés dans des barriques de 228 litres appelées « pièces », où ils sont régulièrement bâtonnés : le vin est alors remué périodiquement avec un ustensile (bâton ou autre) pour remettre les lies en suspension. Cette opération de bâtonnage n'est pas régie par des règles précises, sa fréquence d'application étant très variable selon la pratique des chais.

La mise en bouteilles des vins élevés sur lies, correspondant à une vinification particulière de certains vins blancs secs issus de vendanges saines, doit intervenir dans le chai de vinification uniquement avant le 1<sup>er</sup> juillet de l'année suivant la récolte ou après le 15 octobre. Les vins doivent porter obligatoirement l'indication du millésime.

La pratique de l'élevage de vins sur lies est aussi largement employée dans d'autres pays comme la Suisse ou l'Australie, où les vins passent moins de temps sur lies (2 à 6 mois contre 12 à 15 mois en France) (STUCKEY *et al.*, 1991), mais également de façon certainement plus anecdotique au Japon (ARIZUMI *et al.*, 1994).

### III - L'UTILISATION DES LIES DE VIN

1) Pour l'élevage des vins tranquilles sur lies (lies de première fermentation)

Après la fermentation alcoolique, le vinificateur a la possibilité de conserver ses vins sur lies de différentes manières. La méthode traditionnelle consiste à ne soutirer les vins que tardivement (mars) ou encore à les conserver sur lies totales pendant toute la durée d'élevage (8 à 10 mois) avec remise en suspension périodique (bâtonnage). L'autre méthode, plus récente, procède par soutirages précoces des vins (novembre-décembre) et conservation sur lies fines. Les lies utilisées pour l'élevage des vins ne représentent certainement qu'une faible proportion de la quantité totale produite au cours des diverses vinifications.

2) Vins effervescents (lies de seconde fermentation)

L'élaboration de vins effervescents, en particulier selon la méthode champenoise, nécessite également de rester au contact des lies de seconde fermentation alcoolique (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998 a). Les vins peuvent ainsi être conservés au contact des lies de quelques mois à plusieurs années.

### 3) Pour la distillation

Le reste des lies est généralement envoyé aux distilleries. En effet, il ne peut être obtenu « ni vin, ni boisson destinés à la consommation humaine directe (sauf l'alcool, l'eau de vie ou la piquette) » à partir de la lie de vin originaire de la Communauté Européenne (RENOUIL et FERET, 1988).

Tout élaborateur de vin est tenu de livrer à la distillation la totalité des sous-produits issus de sa vinification et, le cas échéant, du vin de sa propre production. Selon les zones de production de vins, les lies doivent présenter des caractéristiques moyennes variant entre trois et quatre litres d'alcool pur par décitonne avec un taux d'humidité de 45 p. cent (règlement CEE n°822/87, articles 5 et 6). Lorsque les lies obtenues ne présentent pas ces caractéristiques minimales, elles doivent être éliminées soit par livraison à une

industrie de transformation autre qu'une distillerie, soit par destruction sous contrôle (FRÉDÉRIC, 1991).

## IV - COMPOSITION DES LIES DE PREMIERE FERMENTATION

### 1) Généralités

Le volume pâteux ou « lie fraîche » obtenu à la suite des différents soutirages représente de l'ordre de 2 à 4 p. cent du volume du vin (RENOUIL et FERET, 1988). Il contient environ 25 p. cent en poids de résidu sec qui lui-même comprend :

- 25 à 35 p. cent de sels tartriques,
- 35 à 45 p. cent de micro-organismes (majoritairement des levures),
- 30 à 40 p. cent de résidus organiques.

### 2) Contenu microbiologique des lies de vin

Les lies sont par définition un réservoir de micro-organismes dont les espèces principales sont essentiellement des levures, ayant réalisé le processus fermentaire, mais également des bactéries s'il y a eu fermentation malolactique. La pratique désormais répandue du levurage des moûts de raisin, avant le

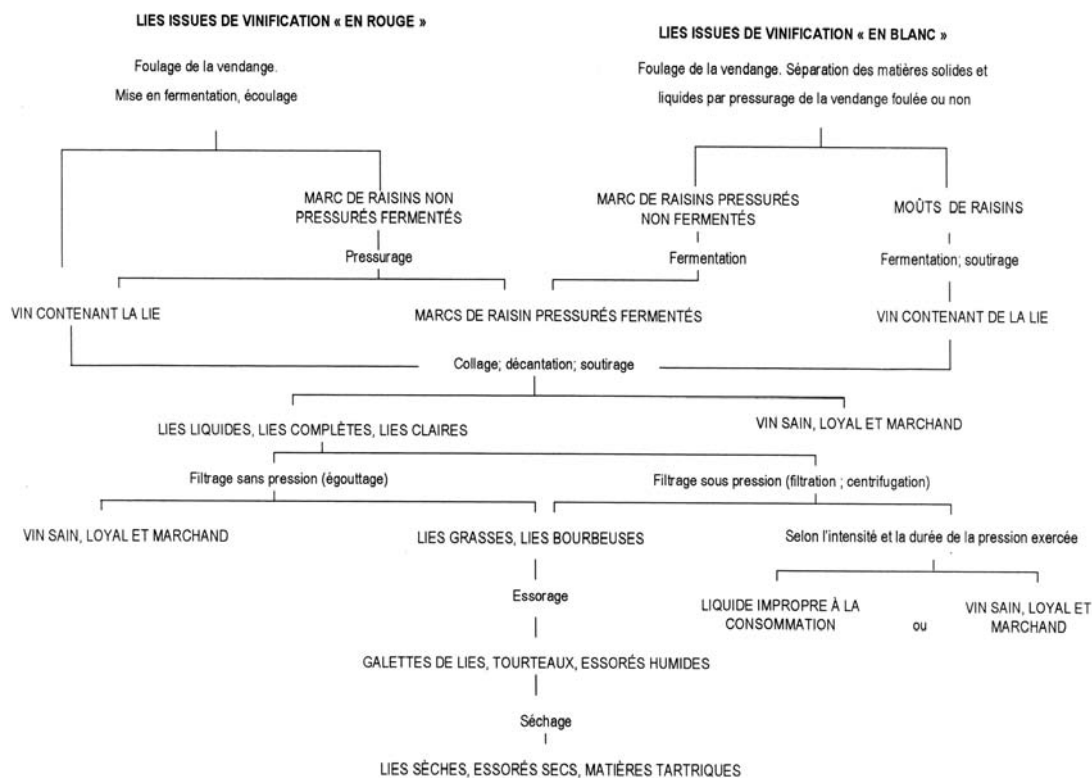


Fig. 1 - Les lies dans la vinification « en rouge » et dans la vinification « en blanc » (d'après le Bulletin Officiel des Impôts, 1987)

Summary of the utilization of lees in white and red wines elaboration processes (from Bulletin Officiel des Impôts, 1987)

début de la fermentation alcoolique, à l'aide des levures sèches actives (LSA), permet de prévoir l'espèce de levures majoritaire parmi les lies. Il s'agit alors essentiellement de levures *S. cerevisiae*. Mais d'autres espèces, ayant pour origine la microflore du raisin, du sol et du matériel de vendange peuvent être aussi rencontrées. On peut notamment citer *Kloeckera apiculata*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Candida stellata*, *Pichia membranefaciens*... (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998 a).

### 3) Composition chimique des lies

Peu de travaux décrivent la constitution exacte des lies de vin. En effet, les compositions de lies ne sont pas des valeurs exhaustives, étant donné la diversité des vins et de leurs lies correspondantes, mais aussi compte tenu de l'évolution du produit au cours du temps. Quelques études ont cependant entrepris de fournir quelques renseignements sur les lies de vin, notamment celle de FRÉDÉRIC (1991), sur des lies de Champagne âgées respectivement de un et huit mois, celle de SCIANCAPELORE (1983), sur des lies de vins rouges italiens débarrassées de l'alcool et des tartrates, en vue d'une valorisation éventuelle de ces résidus vinaires et également celle de FERRARI et FEUILLAT (1988) qui étudient les fractions lipidiques et azotées de lies issues de vinifications en blanc.

SCIANCAPELORE *et al.* (1983) ont déterminé la teneur en azote total et azote soluble des lies par la méthode de Kjeldahl à respectivement 4,2 et 0,16 p. cent du poids sec. Sur des lies de vins blancs de Bourgogne, FERRARI *et al.* (1988) ont réalisé le même dosage. Les quantités trouvées en azote total varient entre 1,55 p. cent en début d'élevage et 1,15 p. cent du poids sec, au bout de cinq mois d'élevage avec bâtonnage.

En ce qui concerne le bilan des acides aminés, les acides majoritaires des lies issues de vinification en rouge analysées par SCIANCAPELORE *et al.* (1983) sont dans l'ordre décroissant pondéral : l'acide glutamique, l'acide aspartique, la lysine, la valine et la leucine. L'étude de FRÉDÉRIC (1991) qui n'a porté que sur l'analyse de certains acides aminés essentiels de lies issues de vinification en blanc estime majoritairement de grandes quantités de tryptophane et de lysine sur des lies âgées de huit mois, alors que le tryptophane n'est pas même décelé sur les lies rouges étudiées par SCIANCAPELORE. L'étude ultérieure des acides aminés présents dans les vins au cours d'élevages sur lies montrera qu'il est difficile de généraliser la présence de tel ou tel acide aminé dans le milieu et dans la levure, tant la composition initiale du milieu originel est primordiale.

L'analyse d'acides gras totaux de lies obtenues en conditions contrôlées de laboratoire ont donné, par diverses méthodes, des teneurs variant entre 1 et 6 p. cent du poids sec total de la biomasse (FORNAIRON-BONNEFOND, 2000). L'analyse des acides gras de lies issues de vins rouges italiens (SCIANCAPELORE *et al.*, 1983) montre que les acides palmitique (C 16 : 0) et linoléique (C 18 : 2) sont les plus abondants avec 29 et 28 p. cent respectivement de la fraction lipidique du résidu des lies. Viennent ensuite les acides oléique (C 18 : 1) (15,3 p. cent), stéarique (C 18 : 0) (10 p. cent), et linoléique (C 18 : 3) (9,2 p. cent). Le ratio acides gras insaturés/acides gras saturés est de l'ordre de 1,3.

Des vitamines ainsi que des oligo-éléments ont été détectés dans les lies de Champagne (FRÉDÉRIC, 1991). L'analyse des cations et anions sur ces mêmes lies ainsi que sur des lies issues de vins blancs tranquilles montre une teneur élevée en potassium.

## LES CONSÉQUENCES DE L'ÉLEVAGE DES VINS SUR LIES

Au cours de la conservation des vins sur lies, on observe une évolution de la composition chimique des lies. L'autolyse, phénomène biologique à l'origine de cette modification, sera dépeinte plus précisément dans ce chapitre, ainsi que les propriétés caractéristiques des lies qui participent à la particularité et à la typicité des vins élevés sur lies.

### I - L'AUTOLYSE DES LEVURES EN ŒNOLOGIE

SALKOWSKI, dès 1875, évoque le terme d'autolyse dans la littérature (FEUILLAT, 1998) et les premiers travaux explicatifs, relatifs à la biochimie de l'autolyse de la levure de boulangerie, sont publiés dans les années 1950 par VOSTI et JOSLYN (1954).

#### 1) Définition et description de l'autolyse

L'autolyse est un ensemble de réactions qui se manifeste chez les levures non viables (au sens d'ayant perdu leur capacité à se multiplier) contenues dans les lies. L'autolyse des levures est définie comme étant l'hydrolyse de biopolymères intracellulaires sous l'action d'endohydrolases alors induites par la mort cellulaire, suivie de la formation de produits de faible masse moléculaire (BABAYAN *et al.*, 1981).

Ces auteurs fractionnent plus précisément le mécanisme d'action de l'autolyse en trois étapes majeures :

- Une perturbation des structures intracellulaires (membrane cytoplasmique et lysosome) entraîne tout d'abord la libération d'enzymes hydrolytiques et de leurs substrats.

- Ces enzymes, une fois activées, interagissent avec des polymères intracellulaires, amenant ainsi à une accumulation de produits hydrolysés dans l'espace périplasmique défini par la paroi de la levure.

- Dans une dernière étape, la masse moléculaire des produits d'hydrolyse diminue, la taille de ces produits est alors compatible avec la porosité de la cellule et les dits produits (protéines, polysaccharides...) peuvent diffuser dans le milieu extracellulaire.

Il est de plus à noter qu'en parallèle, la dégradation des constituants de la paroi (glucanes, mannoprotéines) aboutit à l'augmentation de la porosité facilitant également la libération de produits d'autolyse issus de la paroi dans le milieu extracellulaire.

Dans le domaine de l'œnologie, la connaissance de l'autolyse et de ses conséquences sont surtout importantes pour les vins élaborés en présence de leurs levures de fermentation pendant des périodes très longues. Il s'agit de vins effervescents de type Champagne qui nécessitent de rester en contact avec leurs lies au minimum une année pour pouvoir bénéficier de l'appellation « vin de Champagne ». Les vins de Champagne peuvent toutefois être conservés au contact des lies jusqu'à une dizaine d'années, voire plus, dans le cas de millésimes particuliers avant les opérations de « remuage » et de « dégorgement ». C'est également le cas des vins blancs élevés sur lies (environ une année de contact avec les lies pour posséder cette appellation). L'autolyse accompagne le vieillissement des vins, et la libération de molécules qu'elle engendre, peut être bénéfique pour révéler ou relever les attributs et potentialités de certains vins. Cependant, un des traits caractéristiques de l'autolyse en œnologie est la lenteur du phénomène. Par exemple, pour certains vins effervescents de type Champagne, l'autolyse ne se manifeste qu'après une période latente (après la deuxième fermentation alcoolique), qui peut durer 6 à 12 mois, temps nécessaire en réalité pour obtenir une mortalité cellulaire complète et l'activation du système autolytique (FEUILLAT et CHARPENTIER, 1982 ; TODD, 1995).

## 2) Les produits dérivés de l'autolyse utilisés en œnologie

Ce processus, naturel et lent, est coûteux tant par le matériel qu'il nécessite (barriques souvent chères ou cuves immobilisées pendant toute la période d'élevage), que par la mobilisation humaine qu'il implique pour le suivi de l'élevage (bâtonnages à réaliser, dégustations pour surveiller les développements éventuels de goûts de réduit...). Pour faire face à ces contraintes économiques, des adjuvants à usage œnologique préparés par autolyse ont été mis au point par différentes

équipes (FEUILLAT, 1986 ; FEUILLAT et CHARPENTIER, 1998 ; LAFON-LAFOURCADE *et al.*, 1977 ; MOINE-LEDOUX *et al.*, 1997 ; TRIOLI et DULAU, 1995) afin de bénéficier des avantages de l'autolyse sans en avoir les contraintes (FEUILLAT, 2000). Ces autolysats de levures sont utilisés en vue d'une activation des fermentations alcoolique et malolactique : ils permettraient de meilleures croissances, ainsi que des fermentations plus rapides avec un meilleur taux de viabilité (FEUILLAT et GUERREAU, 1996 ; TRIOLI et DULAU, 1995). C'est également le cas d'écorces de levures préparées par autolyse. Ces enveloppes cellulaires dépourvues de cytoplasme peuvent être additionnées au moût et fonctionnent comme facteurs de survie, c'est-à-dire qu'elles n'agissent pas sur la croissance, mais permettent de prolonger plus longtemps la viabilité de cellules non proliférantes (LAFON-LAFOURCADE *et al.*, 1977), et de fermenter une plus grande quantité de sucre. L'action de ces écorces, en plus de l'apport nutritif qu'elles constituent, réside dans le fait que vraisemblablement elles adsorbent préférentiellement certains composés ou substances toxiques pour la levure, comme les acides gras à moyenne chaîne (acide décanoïque et ses esters principalement), sans modifier les caractères aromatiques des vins (LARUE *et al.*, 1984).

Mais ces adjuvants sont aussi employés en vue d'améliorer la stabilité physico-chimique des vins (tartrique, protéique et celle des polyphénols). Les vins alors préparés sont plus riches en azote total (protéines et acides aminés) et plus généralement en macromolécules. Ainsi ils influenceraient positivement les propriétés sensorielles du vin. Cependant, l'usage de ces produits est pour l'instant uniquement autorisé à titre expérimental (FEUILLAT, 2000).

## 3) Facteurs externes influençant l'autolyse

L'autolyse naturelle de la levure, occasionnée par des processus du catabolisme et de chute de viabilité cellulaire, doit être distinguée de l'autolyse « induite » qui peut être provoquée volontairement par une augmentation de température, une addition d'agents de plasmolyse, ou tout autre facteur favorisant la perte de l'intégrité des membranes cytoplasmiques et l'activation des enzymes lytiques.

En œnologie, seule l'autolyse naturelle des levures a lieu. Néanmoins, quelques facteurs peuvent moduler l'amplitude de cette autolyse naturelle : température, pH... L'azote total libéré sert en général de contrôle pour la comparaison des effets sur l'autolyse de ces différents traitements.

#### a) La température

L'autolyse est activée par une élévation de température. Les activités enzymatiques impliquées dans ce processus augmentent avec la température, avec toutefois comme limite d'action la température critique de dénaturation de ces enzymes. La diversité des conditions opératoires d'un auteur à l'autre peut expliquer pourquoi les données concernant l'influence de la température sur l'autolyse apparaissent parfois comme variables ou contradictoires.

Il a été démontré que sur un milieu synthétique, lors d'autolyse induite, la déstructuration des endostructures de la cellule, ainsi que l'activation des enzymes lytiques dépendaient de la température. La température optimale est de 60 °C pour l'activité protéase tandis qu'elle atteint 70°C pour l'activité nucléase (BABAYAN *et al.*, 1981). Ces températures optimales d'action sont diminuées en présence d'agents plasmolysants (éthanol, acétate d'éthyle, lécithine...). Pour BABAYAN *et al.* (1981), l'intervalle de température optimale d'autolyse se situe entre 45 et 60°C, à pH 5, mais ces conditions de travail ne reflètent pas celles pratiquées en œnologie.

De même, FEUILLAT *et al.* (1982) ont étudié l'effet de la température sur l'autolyse en suivant la quantité d'azote relargué par les levures au cours du temps, dans une solution tamponnée à pH 5. Plus la température est élevée, plus la libération d'azote est forte. Mais, après un chauffage de 4 heures à 55°C, le milieu ne s'enrichit plus, alors que pour des températures plus faibles, la libération d'azote peut continuer plus longtemps. Ce résultat est dû au fait que le processus enzymatique est inhibé par de hautes températures.

MOLNAR *et al.* (1980) précisent que la vitesse d'autolyse est en général linéaire entre 4 et 40°C à pH acide, et qu'une augmentation de 10°C en température correspondrait à une augmentation de 6 à 7 p. cent de cette vitesse. La température optimale pour l'activité protéolytique sur des vins effervescents se situerait entre 10 et 12°C. Au-delà de la gamme de température (4-40°C), l'activité autolytique des protéases intracellulaires cesse. De plus, si la vitesse d'autolyse est trop rapide (par exemple à hautes températures), les composés relargués ne pourront pas suivre certaines réactions chimiques secondaires favorables au bouquet du vin, et pourraient même développer en bouche des goûts désagréables de « levure » (KELLY-TREADWELL, 1988).

#### b) Autres facteurs

Des facteurs chimiques peuvent aussi accélérer les mécanismes d'autolyse comme :

- le changement de la force ionique,

- le pH : des pH moins acides que celui du vin permettent une libération plus rapide des composés intracellulaires (BREDDAM et BEENFELDT, 1991 ; FEUILLAT et CHARPENTIER, 1982 ; MIGUEL-GORDILLO *et al.*, 1990 ),

- la composition en ions du milieu : le calcium et le magnésium favorisent une autolyse à 30°C (HOUGH et MADDOX, 1970),

- la composition du milieu en éthanol : la protéolyse sera meilleure en présence de 10 p. cent d'éthanol (v/v) qu'à 12 p. cent (MIGUEL-GORDILLO *et al.*, 1990).

- en dernier lieu, une trop forte aération, des carences du milieu en azote ou en sources énergétiques peuvent également causer des perturbations cellulaires, à la fois structurales et fonctionnelles et accélérer l'autolyse (BABAYAN et BEZRUKOV, 1985).

#### 4) Mécanismes et conséquences de l'autolyse en œnologie

Suite à la chute de viabilité cellulaire, l'autolyse de la levure conduit au relargage de protéines cellulaires, d'acides nucléiques, de lipides et de polysaccharides, et est corrélée à une diminution de la valeur pondérale de la biomasse.

#### a) La protéolyse

Une des conséquences les plus manifestes de l'autolyse est l'hydrolyse des protéines, qui permet l'enrichissement du vin en métabolites azotés. Les travaux de LURTON (1988) et LURTON *et al.* (1989), confirmés par ceux de SATO *et al.* (1997), ont permis d'établir l'intervention de protéases dans les échanges entre la levure et le vin au cours de l'autolyse. *S. cerevisiae* possède un équipement enzymatique très diversifié (ACHSTETTER et WOLF, 1985) dont une grande partie d'enzymes est susceptible d'intervenir dans le processus de protéolyse des levures de vin. Toutefois, les conditions œnologiques rencontrées, de par les faibles valeurs de pH (pH acide entre 3 et 4) et de température (entre 10°C et 15°C), ne favorisent pas l'action de l'ensemble de ces protéases. Selon les travaux de LURTON *et al.* (1988, 1989), l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques des quatre classes de protéases présentes chez *S. cerevisiae* (protéases à sérine, protéases à groupement thiol, protéases acides et métalloprotéases), suggère le rôle prédominant de la protéase A dans le processus protéolytique. Cette protéase acide, au pH du vin, permettrait la libération d'un très grand nombre de peptides. De plus, elle aurait aussi un rôle activateur d'autres protéases telle que la carboxypeptidase

Y. Cette activité carboxypeptidase, vingt-cinq fois plus faible que celle de la protéase A, n'a été détectée dans le vin qu'au début de l'élevage sur lies à 10°C sous forme extracellulaire, alors que sa forme intracellulaire était quantifiable pendant au moins six mois (SATO *et al.*, 1997). Toutefois, l'implication de protéases acides synergiques, autres que la protéase A, dans l'augmentation en acides aminés des vins élevés sur lies, ne peut être exclue (LURTON, 1988).

L'intensité des activités protéasiques varie de façon prononcée en fonction de la souche de levure. En effet, LEROY *et al.* (1990) ont montré des grandes variations de ces niveaux d'activité au cours de la deuxième fermentation alcoolique sur des vins de Champagne vinifiés avec deux souches traditionnelles de *S. cerevisiae*. Cette variabilité a aussi été observée par ARIZUMI *et al.* (1994) au cours de l'étude de trois souches de levures (2 *S. cerevisiae* et 1 *S. bayanus*) et par SUZZI (1990) dont l'étude porte sur le relargage d'acides aminés de dix souches de levures. Ce dernier auteur n'a pas dosé précisément les activités protéasiques des souches de levures mais on peut supposer que les variations significatives sur les teneurs en acides aminés dosés peuvent être attribuables à des niveaux d'activités protéasiques différents.

Ces activités protéasiques sont encore présentes après cinq à sept mois de stockage selon les différents types de vins : vins blancs de Bourgogne (FERRARI et FEUILLAT, 1988) et vins de Kosu (ARIZUMI *et al.*, 1994). L'évolution des activités protéasiques au cours du temps a également été montrée sur des vins de Champagne. Il apparaît que les activités protéolytiques intracellulaires chutent après la fin de la seconde fermentation pendant quelques mois, pour ensuite augmenter régulièrement pendant plusieurs années pour atteindre un maximum qui se situerait vers la 6<sup>e</sup> année (FEUILLAT et CHARPENTIER, 1982 ; LEROY *et al.*, 1990).

#### b) La capacité autolytique des levures

Dans un but de comparaison, certains auteurs, en utilisant la capacité protéolytique des levures, ont tenté de développer et standardiser une définition de « capacité d'autolyse des levures ». Ainsi, pour CHARPENTIER *et al.* (1986), c'est la quantité d'azote soluble libérée par gramme de levures en poids sec par unité de temps. Pour LEROY *et al.* (1990), cette définition est précisée en spécifiant que l'autolyse est réalisée dans un milieu hydroalcoolique à pH 3,5 et à 37°C pendant 48 heures. SUZZI (1990) a dosé uniquement les teneurs maximales d'acides aminés relargués de différentes souches de levure du genre *S. cerevisiae*, ayant fermenté sur un même milieu, au bout de dix jours, à différentes températures. Étant donné la

variabilité de comportement des levures vis-à-vis de l'autolyse, cet auteur a proposé que la capacité autolytique des levures de *S. cerevisiae* puisse être un caractère discriminant dans la sélection de souches. HERNAWAN *et al.* (1995) ont étudié la capacité d'autolyse d'autres espèces de levures comme *Kloeckera apiculata* et *Candida stellata*, qui sont aussi des espèces potentiellement présentes en fermentation.

#### c) La dégradation de la paroi cellulaire

Un effet direct de la protéolyse est l'altération de la structure rigide de la paroi cellulaire au cours de l'autolyse (FEUILLAT, 1998). D'un point de vue visuel, l'apparition de crêtes, manifestation de cette altération a été montrée par observation au microscope électronique de parois mises en autolyse dans un milieu hydroalcoolique (CHARPENTIER *et al.*, 1986). PITON *et al.* (1988) ont aussi confirmé, au cours du vieillissement du Champagne, l'évolution de la paroi levurienne : au cours des six premiers mois d'élevage, la transformation de la paroi cellulaire commence par la disparition de la couche interne de la paroi. L'altération des polysaccharides de la couche externe n'interviendrait que bien plus tard, entre huit et onze ans (PITON *et al.*, 1988).

La paroi de la levure *S. cerevisiae* est principalement constituée de 90 p. cent de polysaccharides, les 10 p. cent restants étant des lipides et des protéines (CHARPENTIER et FEUILLAT, 1992). La fraction polysaccharidique est composée de glucanes ramifiés (essentiellement des chaînes de  $\beta$ -(1→3)-D glucose, mais aussi des chaînes de  $\beta$ -(1→6)-D glucose), de mannoprotéines (protéoglycane) et de chitine (1 p. cent des polysaccharides totaux) (MANNERS *et al.*, 1973a ; Manners *et al.*, 1973 b). L'altération de la paroi est variable selon les conditions initiales de croissance de la levure (milieu synthétique ou moût naturel). On assiste à :

- une diminution entre 20 et 50 p. cent de l'épaisseur de la paroi lors d'une croissance sur milieu synthétique (HERNAWAN et FLEET, 1995 ; CHARPENTIER, 1986),

- une augmentation de 10 p. cent de l'épaisseur de la paroi, sur un milieu vin à 10 p. cent (v/v) d'éthanol, tandis que l'épaisseur de la couche polysaccharidique augmente quant à elle de 26 p. cent (CHARPENTIER *et al.*, 1986).

Néanmoins quel que soit le milieu, la paroi cellulaire conserve son intégrité. Une augmentation du rapport mannose/glucose, qui indique une baisse globale de la teneur en glucanes, est également observée. La diminution de la teneur pariétale en polysaccharides

(conférant originellement forme et rigidité), couplée à une perte en acides aminés explique le relâchement structural de la paroi (FREYSSINET *et al.*, 1989). Les  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) glucanases, localisées dans la paroi et encore présentes quatre mois après vieillissement du vin sur lies ont été décrites comme étant responsables de ces phénomènes (CHARPENTIER et FREYSSINET, 1989 ; FEUILLAT *et al.*, 1989). La faible activité mannosidase détectée dans les parois ne jouerait qu'un rôle mineur par rapport aux activités glucanases (FREYSSINET *et al.*, 1989). L'étude de FREYSSINET *et al.* (1989) sur des parois isolées, dans des conditions de milieux proches de celles d'un vin, permet de décrire ce phénomène de dégradation de la paroi en trois étapes :

L'hydrolyse des glucanes sous l'action de  $\beta$ -glucanases entraîne la libération de mannoprotéines liées de façon covalente aux glucanes,

Une hydrolyse, ensuite, plus tardive des glucanes est réalisée par une  $\beta$ -glucanase solubilisée dans le milieu,

Enfin, une hydrolyse des mannoprotéines par une  $\alpha$ -mannosidase ou des protéases relarguées au cours de la protéolyse.

#### d) Diminution du poids sec

Une des conséquences du relargage des protéines et de la déstructuration des parois au cours de l'autolyse de la levure est la diminution de la teneur en matière sèche totale des lies au cours du temps. Cette diminution a été observée au cours de diverses expérimentations réalisées dans des conditions variées :

Le poids sec de lies de Champagne, après vingt-cinq mois de contact avec le vin, ne représente plus que 50 p. cent comparativement à la teneur initiale du poids sec en début de vieillissement, pour n'être ensuite plus que de 30 p. cent, pour des lies âgées de dix-huit ans (LEROY *et al.*, 1990).

Sur des vins tranquilles de Bourgogne élevés sur lies, FERRARI et FEUILLAT (1988) observent, après un élevage de cinq mois, une réduction de la teneur de l'extrait sec de 22 à 32 p. cent, ce qui traduit également une diminution du poids sec.

En conditions modèles, FORNAIRON-BONNEFOND observe en 21 jours d'autolyse à 28°C une réduction de poids sec des lies par rapport à la teneur initiale variant entre 17 et 19 p. cent (FORNAIRON-BONNEFOND, 2000).

Lors de l'autolyse de levures brassicoles, pendant 14 jours à 45°C menée à pH 5-6, HOUGH et

MADDOX (1970) ont constaté une chute semblable d'au moins 20 p. cent par rapport au poids sec initial,

HERNAWAN et FLEET (1995) ont également remarqué une diminution de la biomasse, par rapport à la biomasse initiale, au cours de l'autolyse de trois souches de levures différentes, variant de 26 à 33 p. cent au bout de 10 jours à 45°C et à pH 4,5.

Enfin, après suspension de trois souches de levure (LSA) dans un milieu vin modèle, à 30°C, à pH 3, pendant 12 jours, sous agitation constante, il a été constaté au 2<sup>e</sup> jour une diminution rapide (plus de 30 p. cent) du poids sec pour atteindre une valeur à peu près constante au 6<sup>e</sup> jour, qui ne représente plus que 40 p. cent du poids sec initial (PUEYO *et al.*, 2000).

#### 5) Les produits de l'autolyse

Au cours de l'autolyse, de par les activités hydrolytiques importantes que nous venons de décrire, le milieu s'enrichit en composés, principalement d'origine pariétale, libérés par la levure. Ce sont essentiellement des substances azotées comme les acides aminés, les oligopeptides, les polypeptides, mais aussi des polyoloses, des lipides et des acides nucléiques... Le relargage de ces composés au cours du vieillissement contribue aux propriétés organoleptiques et physico-chimiques des vins. Plus précisément, les produits d'autolyse, présents en œnologie, peuvent être de deux types : 1) les produits primaires de l'autolyse jouant directement sur le vin, 2) les produits résultant de réactions secondaires entre les produits d'autolyse et les autres composés du vin (TODD, 1995).

##### a) Substances azotées

Les substances azotées sont généralement considérées comme les produits majeurs de l'autolyse des lies. Environ 50 p. cent de l'azote total de la levure peut diffuser dans le milieu extracellulaire à un pH optimum (pH 5 à 6) (BABAYAN et BEZRUKOV, 1985). L'étude de ces substances pendant l'autolyse a permis de mettre en évidence tout d'abord un relargage des protéines et peptides, suivi plus tard d'une hydrolyse extracellulaire de ces composés en acides aminés libres (BABAYAN et BEZRUKOV, 1985 ; MARTINEZ-RODRIGUEZ et POLO, 2000 ; MORENO-ARRIBAS *et al.*, 1996 ; MORENO-ARRIBAS *et al.*, 1998). Puis, ce processus se termine par une augmentation de l'activité hydrolytique pour aboutir alors à l'autodigestion des enzymes elles-mêmes (BABAYAN et BEZRUKOV, 1985). D'ailleurs, selon FEUILLAT (1998), les acides aminés ne sont pas spécialement de bons marqueurs d'autolyse, puisque ceux liés au phénomène d'autolyse n'apparaîtraient qu'après relargage des peptides et protéines dans le milieu. En effet,



**TABLEAU I**  
**Exemples non exhaustifs de l'évolution des acides aminés libres libérés par les lies au cours de différentes conditions d'autolyse.**  
**Examples of amino-acids release from yeast according to different autolysis conditions**

Milieu d'autolyse	Conditions d'autolyse			[Acides aminés libres relargués (mg L <sup>-1</sup> ) Acides aminés majoritairement relargués par les lies durant l'autolyse (mg L <sup>-1</sup> )	D'après références	
	Souche de levure	Concentration en biomasse	Température			Durée
milieu synthétique	de laboratoire X2180a	6,4 g l <sup>-1</sup>	45°C	10 jours	continue (100 rpm)	[750] Glu (94,1) Phe (89,6) Leu (77,5) Ala (58,2) Arg (54,4) HERNAWAN et FLEET, 1995
vin de Koshu	de laboratoire Y378					[107] Pro (60) Leu (5,5) His (5,5) Lys (4,7) Glu (4,6) Thr (3,8)
	œnologique Lalvin 71B (Lallemand)	n.p., de fin de fermentation alcoolique	15°C	4 mois	sans	[140] Pro (87) Leu (6,2) Phe (6,2) His (5,5) Glu (5,4) Thr (5,0)
	œnologique 8130 (Lallemand)					[144] Pro (80) Leu (7,0) Glu (6,3) Lys (5,8) Phe (5,4) His (5,4)
vin de Chardonnay	œnologique n.p.*	n.p., de fin de fermentation alcoolique	n.p., de cave	5 mois	une fois par semaine	[40] Ala (10,0) Arg (4,0) Gly (0,35) His (0,4) [60] Ala (20,0) Arg (4,8) Gly (0,25) His (0,25) STUCKEY <i>et al.</i> , 1991
vin de Chardonnay (méthode champenoise)	œnologique n.p. ( <i>Saccharomyces bayanus</i> )	n.p., de seconde fermentation (prise de mousse)	n.p., de cave	18 mois	sans	[80] Ala (12,6) Pro (9,1) Ile (8,1) Orn (6,9) Trp (4,3) Lys (2,5) Phe (2,0) Thr (1,1) Gln (0,6) MORENO-ARRIBAS <i>et al.</i> , 1998
vin de Champagne	œnologique n.p. ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	n.p., de seconde fermentation (prise de mousse)	n.p., de cave	4 ans	sans	[122] Glu (80) Phe (60) Leu (45) His (40) Thr (10) Gly (10) Met (7) Ser (5) FEUILLAT et CHARPENTIER, 1982
vin blanc de Bourgogne	œnologique n.p. ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	n.p., de fin de fermentation alcoolique	n.p., de cave	6 mois	une fois par semaine	[83,4] Lys (26,0) Arg (18,3) His (11,5) Asp (11,4) Leu (10,3) Phe (5,9) Glu (1,6) [84,7] Leu (13,1) Ala (12,7) Glu (12,5) Lys (10,7) Ser (9,8) His (7,8) Arg (6,8) FERRARI et FEUILLAT, 1988

\* n.p. : non précisé.

en ce qui concerne le relargage d'acides aminés, il est à discerner différentes étapes qui ne doivent pas être confondues avec l'autolyse. Tout d'abord, les acides aminés sont assimilés par la levure pendant la fermentation alcoolique pour être utilisés pour la multiplication cellulaire mais aussi stockés, notamment au niveau de la vacuole. Une fois les sucres consommés, la levure utilise alors ses propres réserves pour la maintenance de son activité métabolique. Puis la cellule dégénère et on assiste à une libération passive très rapide par exsorption du pool cellulaire d'acides aminés (partie insensible à l'utilisation des inhibiteurs protéasiques, dont la composition est dominée par l'acide glutamique et l'alanine), phénomène qu'il ne faut pas confondre avec l'autolyse proprement dite. Ensuite vient une courte période de latence où la quantité d'acides aminés ne varie pas de manière perceptible. Après ce laps de temps, un nouveau relargage d'acides aminés, beaucoup plus lent que précédemment, est observé, dû à l'autolyse proprement dite (FEUILLAT et CHARPENTIER, 1982 ; KELLY-TREADWELL, 1988).

Les substances azotées relarguées sont corrélées avec l'activité protéolytique intracellulaire qui, comme signalé au paragraphe précédent, dépend de la souche de levure et du milieu de croissance (CHARPENTIER *et al.*, 1986). De ce fait, HERNAWAN et FLEET (1995) estiment que les valeurs de composition obtenues en protéines, peptides et acides aminés des autolysats ne sont que des résultats relatifs et difficilement comparables puisque les protéases et peptidases sont elles-mêmes relarguées au bout d'un certain temps dans le milieu extérieur et peuvent y continuer leur action. Ainsi, pour ces auteurs, il est donc difficile d'utiliser des valeurs exactes de composition en protéines, peptides dans les autolysats, comme marqueur d'autolyse, puisque les concentrations évoluent au cours du temps et que la présence d'acides aminés dans le milieu ne dépend pas uniquement de l'autolyse.

Toutefois, plusieurs auteurs ont estimé et analysé le relargage des acides aminés et protéines dans l'élevage de vins sur lies (ARIZUMI *et al.*, 1994 ; MORENO-ARRIBAS *et al.*, 1998). Les évolutions individuelles en acides aminés sont difficiles à interpréter car très variables d'une année sur l'autre, d'une souche à l'autre (FERRARI et FEUILLAT, 1988) et d'un vin à l'autre. En règle générale, quel que soit le milieu (synthétique ou vin), le taux d'acides aminés présents dans la levure chute au cours de l'autolyse pour augmenter dans le milieu. Mais l'évolution individuelle de chaque acide aminé ne semble pas montrer que l'autolyse favorise préférentiellement la rupture de certaines liaisons peptidiques ou agit spécifiquement sur certains peptides de la paroi cellulaire

(CHARPENTIER *et al.*, 1986). À titre d'illustration, le tableau I résume quelques résultats obtenus dans diverses conditions concernant les substances azotées libérées.

La distribution des acides aminés libres est différente de celle des peptides et des protéines. L'augmentation de la teneur globale en azote dans les vins est remarquée avant l'augmentation propre d'azote aminé. Ce résultat confirme que, pendant l'autolyse, il y a d'abord un relargage de peptides et/ou de protéines, qui sont ensuite partiellement dégradés en acides aminés dont la distribution est de plus en plus similaire au fil du vieillissement (MORENO-ARRIBAS *et al.*, 1998). Comme au cours de l'élevage les protéines se fractionnent en plus petits composés, la quantité totale de protéines diminue (LUGUERA *et al.*, 1997). La nature des acides aminés libérés dépend avant tout de la composition du vin de base en peptides et en protéines, ainsi que du temps de mise en contact avec les levures (MORENO-ARRIBAS *et al.*, 1998).

Ainsi, on trouve toujours plus de peptides dans les vins de base de Champagne ou effervescents que dans les moûts correspondants, ces peptides provenant de la levure (CARNEVILLIER, 1999 ; MORENO-ARRIBAS *et al.*, 1996). Une augmentation en peptides, une fois la seconde fermentation alcoolique achevée est remarquée pour atteindre son maximum entre 12 et 15 mois, avant de diminuer ensuite (MORENO-ARRIBAS *et al.*, 1996). Ceci corrobore la lente dégradation des peptides au cours du temps. Le ratio peptides hydrophobes/peptides hydrophiles augmente au cours du vieillissement. L'hydrophobicité des peptides relargués étant susceptible de modifier la qualité de la mousse, l'amélioration observée de la qualité de celle-ci avec l'âge du vin pourrait être reliée à l'augmentation de la teneur en ces peptides.

#### b) Les polysaccharides

Les polysaccharides libérés par des activités  $\beta$ -(1→3) glucanases, font également partie des composés majeurs relargués au cours de l'autolyse.

La quantification des ces polyosides, par la variabilité des approches analytiques utilisées selon les auteurs, donne des quantités de polysaccharides relargués variant d'un facteur 20, allant de 100 à 2 230 mg L<sup>-1</sup> (FEUILLAT *et al.*, 1989 ; LLAUBÈRES et DUBOURDIEU, 1987). Il semble admis que très peu de glucose ou de sucres réducteurs sont retrouvés dans les autolysats ce qui confirme la nature polysaccharidique des molécules relarguées (HERNAWAN et FLEET, 1995). FEUILLAT *et al.* (1989) ont montré, au sein des polysaccharides relargués, un enrichissement beaucoup plus important en glucose qu'en

mannose : les mannanes constitutifs de la paroi sont libérés sans hydrolyse alors que les glucanes sont hydrolysés sous forme de courtes chaînes ou monomères. L'action d'une  $\alpha$ -mannosidase, caractérisée par FLEET et MANNERS (1977), au niveau de la paroi reste de faible importance (FREYSSINET *et al.*, 1989).

LLAUBERES et DUBOURDIEU (1987) ont démontré que les mannoprotéines étaient les composés majeurs des polysaccharides exocellulaires de la levure, même si leur quantité variait en fonction de la souche, de la température de fermentation et du temps de contact lies/milieu : la quantité de mannoprotéines relarguées est d'autant plus marquée que le vin blanc en présence de ses lies est bâtonné. CHARPENTIER et FEUILLAT (1992) ont décrit les mannoprotéines et peptidomannanes, relargués au cours de l'autolyse, comme contribuant significativement à la qualité sensorielle du vin, particulièrement à la finesse et à la persistance des bulles, propriétés très importantes pour les vins effervescents. De plus, l'effet positif de la libération des mannoprotéines sur la stabilisation des vins a été signalé. Ce point sera abordé ultérieurement. En dernier lieu, un relargage maximum de polysaccharides neutres provenant de la levure pendant l'autolyse sur un vin de Chardonnay a été mis en relation avec une bonne qualité de mousse (ANDRÉS-LACUEVA *et al.*, 1997).

#### c) Les ARNs

Le relargage d'acide ribonucléique (ARN) dans le milieu d'élevage est une autre réaction caractéristique de l'autolyse des levures. La libération de ces composés, molécules déjà connues pour leurs rôles d'exhausteur de goût dans les produits alimentaires, serait d'autant plus important pour les vins sur lies tranquilles où la concentration en lies est plus élevée que pour les vins effervescents élaborés selon la méthode champenoise (COURTIS *et al.*, 1998).

Sur des vins de Champagne, LEROY *et al.* (1990) ont noté une très bonne corrélation entre l'activité ARNase des cellules et le relargage d'acides nucléiques dans le vin. Cette activité ARNase, présente au moment de la fermentation en bouteilles, s'arrête au bout de deux années d'élevage. Le taux d'acides nucléiques relargués varie sur deux années entre 400 et 480 mg L<sup>-1</sup> et le pourcentage d'acides nucléiques par rapport à la biomasse initiale en début de vieillissement chute de 50 p. cent. Sur une autolyse réalisée dans un tampon phosphate à 45°C, pH 4,5, une disparition de plus de 85 p. cent de l'ARN présent dans la levure (6 à 8 p. cent du poids sec chez *S. cerevisiae*) est constatée (HERNAWAN et FLEET, 1995). Les produits de dégradation de l'ARN, probablement des nucléotides, des nucléosides, des bases puriques et pyrimidiques ne

sont qu'en partie retrouvés (15 p. cent de déficit au bilan) dans les autolysats (HERNAWAN et FLEET, 1995 ; HOUGH et MADDOX, 1970). Les auteurs suggèrent que les produits de dégradation des ARNs seraient associés aux résidus cellulaires qui sont ôtés des autolysats avant leurs analyses. Enfin, sur milieux modèles simulant des vins tranquilles élevés sur lies, des premiers essais semblent montrer qu'en 80 jours, le taux d'acides nucléiques présents dans le vin augmente de 160 p. cent, passant de 130 mg L<sup>-1</sup> à 340 mg L<sup>-1</sup>. Après cette période, le transfert serait en revanche très faible (4 p. cent pour les 50 jours suivants) (COURTIS *et al.*, 1998).

#### d) Les lipides et les stérols

##### (1) Composition lipidique d'une levure

En conditions fermentaires, la fraction lipidique, surtout associée aux différentes membranes cellulaires, se trouve essentiellement sous forme de triglycérides constituant les lipides de réserve, sous forme de phosphoglycérides membranaires et sous forme de stérols. Les lipides de la levure *S. cerevisiae* constituent une classe de composés mineurs dont les teneurs varient entre 37 et 147 mg g<sup>-1</sup> de matière sèche (entre 3 et 15 p. cent) (RATTRAY, 1988). Parmi ces lipides, la quantité de stérols est aussi très faible puisqu'elle est comprise entre 0,03 et 4,3 p. cent du poids sec de la levure (GIOVANELLI *et al.*, 1996). Par rapport aux autres levures *S. cerevisiae* est particulièrement riche en stérols.

Une large gamme d'acides gras constituent les triglycérides et les phospholipides, mais les majoritaires sont l'acide palmitoléique (C16 : 1) et ses esters ainsi que de l'acide oléique (C18 : 1). Cependant la teneur en acides gras dépend de la disponibilité en oxygène moléculaire. Là encore, il est difficile de donner des valeurs exactes tant les conditions de culture (température de croissance, type de milieu de culture...) influencent la teneur et la qualité des lipides de la levure (SLAUGHTER et MINABE, 1994).

##### (2) Autolyse et teneurs lipidiques des vins

Il est admis qu'en règle générale, les vins possèdent naturellement de faibles teneurs en lipides, les traitements de clarification étant responsables de leur appauvrissement. En revanche en œnologie, l'autolyse, qui se produit au cours du vieillissement des vins sur lies, est responsable de l'enrichissement des vins en lipides. Cependant, comparativement aux autres classes de composés relargués par la levure au cours de l'autolyse, le transfert de lipides de la levure au vin est moins manifeste.

Le phénomène de relargage de lipides dépend des conditions de mise en pratique de l'autolyse et il est difficile de généraliser la globalité des informations sur le sujet. En effet, selon BABAYAN et BEZRUKOV (1985) les lipides auraient tendance à s'agréger et à rester à l'intérieur de la cellule pour des pH compris entre 5 et 6 : seulement 3 p. cent des lipides initiaux sortiraient de la cellule. FERRARI *et al.* (1987) lors de préparations d'autolysats *in vitro* (37°C pendant 7 jours), ont aussi constaté que le relargage des lipides dans le surnageant était peu important, ces substances restant également en majeure partie dans les enveloppes cellulaires à pH acide (pH 3,5). En revanche, les travaux de CHEN *et al.* (1980), sur le relargage d'acides gras de levures brassicoles, présentent les acides gras libres comme de bons marqueurs d'autolyse levurienne. Ces auteurs induisent l'autolyse par différents moyens comme la chaleur, les variations de pH ainsi que des traitements par l'alcool. Les acides gras les plus abondants alors obtenus sont des acides gras à courte chaîne comme l'acide décanoïque (C 10 : 0) et octanoïque (C 8 : 0) qui sont deux des principaux composés responsables de ce qu'on appelle en brasserie l'odeur « caprylique » (aussi appelé « levure » ou « gras »). Néanmoins, il est à préciser que dans les conditions brassicoles courantes, l'autolyse n'a pas l'occasion d'avoir lieu pendant le temps de contact des levures avec la bière et qu'elle n'est d'ailleurs pas recherchée, en dehors de quelques spécialités. Seules des variations de température de stockage ou un contact bière/levure prolongé peuvent éventuellement la déclencher.

Pourtant, les lipides relargués au cours de l'autolyse ne sont pas à négliger puisqu'ils peuvent être impliqués dans la formation de certains composés volatils comme des esters, des cétones et des aldéhydes (CHARPENTIER et FEUILLAT, 1992, PUEYO *et al.*, 2000). C'est sur les vins de type effervescent (Champagne) que les renseignements concernant les lipides sont les plus conséquents. Mais ces travaux relatent essentiellement l'influence des lipides sur la qualité de la mousse, un des attributs sensoriels majeurs des vins effervescents. En effet, PUEYO *et al.* (1995) ont mis en exergue une relation positive entre la stabilité de la mousse d'un vin et la présence d'acide linoléique (C 18 : 3). Ils ont aussi souligné une autre

relation bénéfique entre la taille des bulles de la mousse et la présence d'acide palmitique (C 16 : 0). En revanche, des études en brasserie ont montré l'influence négative des lipides sur la mousse de bière. DUSSAUD *et al.* (1994) ont avancé que ces différences d'observation étaient certainement dues à la différence du taux d'alcool présent dans les deux types de boissons fermentées.

Les acides gras libres les plus abondants communiqués par les lies aux vins lors des élevages sont les acides palmitique (C 16 : 0), stéarique (C 18 : 0), et palmitoléique (C 16 : 1) (FERRARI *et al.*, 1987). Après analyses des levures ayant séjournés plus de huit mois au contact du vin, les auteurs constatent que la levure est nettement plus riche en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés (13 p. cent seulement de la teneur totale en acides gras) comparativement à des levures sèches actives où les acides gras insaturés représentent plus de 60 p. cent de la teneur totale en acides gras (FERRARI *et al.*, 1987).

De même, il semblerait que l'addition d'écorces de levures ou de lies fraîches provoque en général une augmentation temporaire de la concentration en acides gras libres à longue chaîne dans le vin suivie, par la suite, d'une diminution continue. On assisterait en fait à partir d'un certain temps à une adsorption des acides gras libres du vin par les lies ou les écorces de levures (ANCIN *et al.*, 1998 ; FERRARI et FEUILLAT, 1988 ; FERRARI *et al.*, 1987 ; SOUFLEROS et BERTRAND, 1988), cependant sans qu'aucun mécanisme à cette observation n'ait pu être proposé. HERRAIZ *et al.* (1990) avancent seulement l'intervention hypothétique d'une activité enzymatique résiduelle de la levure.

Sur des vins de type effervescent, on constate au cours du temps une diminution drastique des lipides polaires et une accumulation simultanée des lipides neutres comme le présente le tableau II.

Au sein des lipides neutres, les monoglycérides et les diglycérides semblent s'être convertis en triglycérides. Ces lipides neutres sont majoritaires à plus de 90 p. cent de l'ensemble des lipides alors dosés. Néanmoins, si SLAUGHTER *et al.* (1994) constatent

**TABLEAU II**  
**Distribution (exprimée en p.cent des lipides) des différentes classes de lipides (stérols exclus)**  
**chez *S. cerevisiae* pendant le vieillissement du Champagne (PITON *et al.*, 1988).**

**Distribution (expressed in lipid percent) of different lipids (sterols excluded)**  
**of *S. cerevisiae* during champagne wine ageing.**

Temps	Triglycérides	Diglycérides	Monoglycérides	Acides gras libres	Lipides polaires
0	8,7	3,1	0,5	23,9	63,7
6 semaines	28,6	33,9	5,7	4,3	27,5
19 ans	53,0	17,8	0,3	19,0	10,0

une augmentation du taux de triglycérides, ils n'observent pas en contrepartie d'accumulation de mono et diglycérides. Ils suggèrent plutôt une réestérification rapide des acides gras et des acyl-glycérols. Ils remarquent en revanche l'apparition de cires dans le milieu de culture lorsque la viabilité cellulaire est nulle.

Plus récemment, sur un système modèle cette fois-ci, l'étude du relargage des lipides de trois souches de levures a été menée pendant 12 jours au cours d'une autolyse ménagée à 30°C sous agitation constante (PUEYO *et al.*, 2000). Un relargage de triglycérides, de 1-3 diglycérides et de 2-monoglycérides, d'acides gras libres, est observé dès le 2<sup>e</sup> jour, période qui correspond au maximum de perte en viabilité et de matière sèche des levures. La diminution générale constatée de l'ensemble des lipides dans le milieu est expliquée par une possible action d'enzymes hydrolytiques qui seraient passées dans le milieu au cours de l'altération de la paroi cellulaire. Entre le 8<sup>e</sup> et le 10<sup>e</sup> jour, un nouveau relargage de lipides est observé, en concomitance avec une remontée de la viabilité cellulaire. Aucun phospholipide et 1-monoglycéride ne sont trouvés dans les autolysats correspondants alors qu'ils font pourtant partie intégrante des lipides constitutifs de la levure. La dégradation vraisemblable des phospholipides avait déjà été remarquée par HERNAWAN et FLEET (1995) ainsi que SLAUGHTER et MINABE (1994) qui ne décelaient pas de traces de phospholipides dans les surnageants. Une telle dégradation est décrite comme le changement le plus significatif des lipides au cours de l'autolyse de levures de panification notamment (WATANABE *et al.*, 1983).

Il est affirmé également qu'au cours d'une autolyse avancée, les teneurs di-glycérides décroissent sous l'action enzymatique (probablement des lipases), composés alors retrouvés sous forme d'acides gras libres (acides palmitoléique, palmitique, stéarique et oléique) et de glycérol (HERNAWAN et FLEET, 1995).

Si TROTON *et al.* (1989) se sont attachés à dépeindre les mécanismes régissant l'évolution des lipides au cours de la seconde fermentation alcoolique, c'est plus précisément PITON *et al.* (1988) qui ont étudié les changements lipidiques des levures du Champagne au cours du vieillissement sur lies en bouteilles. Des images au microscope leur ont permis de discerner parmi les formes levuriennes de nombreuses vésicules hétérogènes dont les plus petites semblent être d'origine lipidiques. Une fois la seconde fermentation terminée, les images suggèrent que les levures sont plasmolysées. Cependant, l'intérieur des levures semble montrer une dégradation de certaines membranes et une accumulation de lipides neutres dans des vésicules lipidiques qui s'accroissent. Après un dys-

fonctionnement de toutes les structures de la levure, seules persistent au bout de quinze ans de vieillissement, une paroi très amincie (0,1 µm d'épaisseur), une double membrane périphérique de la levure et des vésicules lipidiques (PITON *et al.*, 1988).

Une analyse des stérols sur un milieu modèle a similairement été conduite pour estimer le taux de stérols relargués au cours de l'autolyse (LE FUR *et al.*, 1999). En effet, les stérols sont connus pour influencer les interactions protéines/phospholipides, et jouer par conséquent sur la fluidité membranaire et les activités enzymatiques membranaires. Dans cette étude, dix stérols ont pu être séparés et identifiés sous forme estérifiée ou non estérifiée, au cours d'une autolyse accélérée de la levure en milieu modèle acide. L'autolyse semble induire une diminution de la quantité des stérols estérifiés de la levure particulièrement des premiers intermédiaires de la synthèse de l'ergostérol, tandis que les formes non estérifiées n'évoluent pas. D'un point de vue quantitatif général, le taux de stérols passe de 0,92 à 0,43 p. cent (par rapport au poids sec de la levure). Par opposition, le relargage de stérols dans le milieu est infime puisqu'il ne représente que 0,015 p. cent du taux des stérols totaux de la biomasse.

Les travaux de PUEYO *et al.* (2000) dans les conditions précédemment citées ont montré également un relargage d'esters de stérols et de stérols dès le deuxième jour de mise en autolyse. Dans un modèle d'autolyse obtenu à partir de levures ayant réalisé leur processus fermentaire avant d'être mises en autolyse, FORNAIRON-BONNEFOND (2000) a entrepris d'étudier les différences observées entre un élevage réalisé en présence et en absence d'oxygène. Il ressort de ce travail que la différence entre les deux modalités d'élevage semble se situer uniquement au niveau des teneurs en stérols et plus précisément au niveau de celle en ergostérol qui voit sa concentration diminuer de plus de 80 p. cent uniquement au cours d'un élevage sous oxygène.

#### e) Les vitamines

Seul CHEN *et al.* (1980), à propos de l'autolyse en brasserie, citent certaines vitamines telles la thiamine (vitamine B1), la niacine (acide nicotinique) et la biotine comme faisant également partie des produits d'autolyse.

## II - LES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES LIES

### 1) Les phénomènes d'oxydo-réduction associés à la présence de lies

Une des propriétés principales des lies est leur pouvoir fortement réducteur. De ce fait, certains viticul-

teurs hésitent à mettre en œuvre un élevage sur lies. En effet, lorsqu'un vin est maintenu sur biomasse totale, rapidement des odeurs soufrées désagréables, inévitables lors de la présence de lies dès le premier mois d'élevage, apparaissent et nécessitent un soutirage rapide pour éviter que ces odeurs de « réduit » ne deviennent encore plus tenaces. Sous réserve d'une clarification correcte des moûts et d'un sulfitage raisonné, seul l'élevage en barrique qui permet un apport minimal d'oxygène autorise un maintien prolongé des vins sur lies totales (CHATONNET, 1991). Des travaux récents ont par ailleurs permis de démontrer la capacité des lies de levures à consommer de façon significative de l'oxygène après la fermentation alcoolique pendant des périodes d'élevage allant jusqu'à trois années et demie à 14°C (FORNAIRON *et al.*, 1999, SALMON *et al.*, 2000). Cette propriété des lies à consommer de l'oxygène n'est pas uniquement due à une rémanence de viabilité cellulaire. Elle est cependant soumise à décroissance au cours de l'élevage des vins sur lies. Après la chute de viabilité des levures, cette consommation d'oxygène toujours présente relève d'une origine vraisemblablement chimique. La capacité maximale des lies à consommer de l'oxygène a été estimée dans des conditions opératoires bien précises (souche, milieu et température donnés...) à 4 mg L<sup>-1</sup> simulant la composition moyenne d'un vin contenant environ 4 p. cent de lies. L'ensemble des résultats obtenus montre que la consommation d'oxygène par les lies s'apparente à une attaque préférentielle des lipides des membranes cellulaires par l'oxygène (SALMON *et al.*, 2000), source connue de détérioration de la structure des membranes cellulaires. La capacité des lies à consommer de l'oxygène semble particulièrement reliée à la composition des cellules en certaines fractions de stérols (FORNAIRON-BONNEFOND, 2000). Toutefois, cette interaction oxygène/lies ne semble pas affecter les phénomènes classiques d'autolyse des lies (FORNAIRON-BONNEFOND, 2000). Il est à noter que cette interaction potentielle entre oxygène et lies durant l'élevage des vins n'a jamais été prise en compte auparavant que ce soit en terme d'impact sur l'intégrité des lies ou sur la production éventuelle de produits finaux susceptibles d'influer sur la qualité finale des vins élevés.

## 2) Interactions lies/polyphénols

### a) « Décoloration » des moûts par les lies

VASSEROT *et al.* (1997) ont démontré l'aptitude des levures à adsorber les anthocyanes. Cette adsorption dépend entre autre de la structure des anthocyanes, de la présence d'une activité  $\beta$ -glucosidase chez la levure, mais est également fonction de certains paramètres environnants comme la concentration en éthanol,

la température, le pH et la concentration en SO<sub>2</sub> du vin. Ainsi, les lies peuvent-elles fixer des molécules anthocyaniques résultant d'une extraction trop importante au cours du pressurage de la vendange de cépages rouges à jus blanc. Ce phénomène qui leur confère un pouvoir décolorant a été observé par VASSEROT et MAUJEAN (1998) au cours d'expérimentations sur des « moûts tachés » champenois de Pinot noir. De ce fait, l'utilisation des lies de vin peut se substituer à la pratique largement répandue de l'utilisation de charbons végétaux (noir végétal) qui peut entraîner une altération organoleptique et une altération des propriétés effervescentes et moussantes de vins blancs. Ainsi, malgré un pouvoir décolorant moindre par rapport à celui des charbons végétaux et un coût de mise en œuvre plus élevé, les lies peuvent être utilisées pour la décoloration des vins peu ou moyennement tachés.

### b) Réactivité avec les polyphénols du vin

Très récemment divers travaux ont été menés pour préciser les interactions potentielles entre lies de levures et polyphénols lors de l'élevage de vins sur lies. Tout d'abord VIVAS et SAINT-CRICQ de GAULEJAC (2000) ont indiqué que le potentiel d'oxydation de vins rouges conservés sur lies était plus faible que celui du vin témoin, et que les constituants relargués dans le vin par le processus d'autolyse ralentissaient sensiblement l'oxydation de quelques composés phénoliques purifiés. Selon les travaux de FEUILLAT *et al.* (2000) menés sur diverses campagnes d'élevage sur lies, il ne semble pas y avoir d'incidence flagrante de l'élevage proprement dit sur la composition en anthocyanes des vins élevés. En revanche, après bâtonnage il semble y avoir augmentation sensible de la fraction d'anthocyanes combinées. De plus, lors de la même étude, il semblerait qu'il y ait augmentation des tanins à l'état colloïdal dans les lots de vins bâtonnés, dénotant une moindre réactivité des tanins vis-à-vis des protéines. En milieu modèle, il a en revanche été démontré que des levures à l'état de lies, préalablement cultivées en absence de polyphénols, pouvaient présenter une importante réactivité avec les polyphénols du vin (SALMON *et al.*, 2001). Ce type d'interaction conduit alors à une forte baisse de la teneur en polyphénols libres dans le vin de façon fort similaire à ce qui avait été précédemment observé pour les anthocyanes libres dans les moûts (VASSEROT *et al.*, 1997). Toutefois, en fonction de la durée de l'interaction, la réactivité lies/polyphénols du vin envers l'oxygène semble se modifier : la fraction de polyphénols restés libres dans le vin semble avoir acquis une plus forte capacité à réagir avec l'oxygène, tandis que les lies ayant adsorbé des polyphénols du vin présentent une réactivité vis-à-vis de l'oxygène extrêmement amoindrie (SALMON *et al.*, 2001).

### 3) Rosissement oxydatif

La présence de lies, lors d'élevage de vins blancs, joue aussi un rôle préventif vis-à-vis du rosissement oxydatif ou « pinking » des vins (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998 b). Le rosissement oxydatif, évolution particulière de certains vins blancs vers des nuances gris rose à l'occasion d'une légère oxydation, est décrit depuis longtemps dans la littérature (SIMPSON, 1977). DUBOURDIEU (1995) affirme que les lies sont capables d'adsorber les précurseurs des molécules responsables du rosissement, à l'inverse d'autres traitements inefficaces (collage à la caséine, utilisation de Polyvinylpyrrolidone ou utilisation de SO<sub>2</sub>) et permettent ainsi de diminuer la sensibilité des vins à cet accident.

### 4) Adsorption des thiols sur la paroi des levures de lies

La capacité des lies de vin à éliminer complètement certains thiols volatils du vin a été établie (LAVIGNE et DUBOURDIEU, 1996). Effectivement, des expériences menées avec des lies fraîches ou des parois de levures en présence de solutions modèles renfermant des thiols (méthanethiol et éthanethiol) ont montré la propriété des lies de levures à éliminer complètement ces deux composés.

LAVIGNE et DUBOURDIEU (1996) suggèrent la création de ponts disulfure entre la cystéine constitutive des mannoprotéines (localisées dans la couche externe de la paroi de la levure) et les groupements SH des thiols volatils, ce qui permettrait ainsi la fixation des thiols par la levure.

### 5) Rôle des lies dans les stabilisations tartrique et protéique

Après contact avec des lies, il a été observé une meilleure stabilité des vins correspondants vis-à-vis des précipitations tartriques et des troubles protéiques.

En effet, une amélioration systématique de la stabilité protéique des vins blancs au cours de leur élevage sur lies en barrique a été constatée. Maintenus sur lies, les vins nouveaux se troublent de moins en moins sous l'effet de la chaleur (MOINE-LEDOUX et DUBOURDIEU, 1998). De façon corollaire, l'obtention de leur stabilité protéique requiert des doses plus faibles de bentonite (stabilisateur de la précipitation protéique). Pourtant les protéines du raisin responsables de la casse protéique des vins blancs (six fractions protéiques majoritaires) ne sont ni digérées ni adsorbées par les lies de levures pendant l'élevage. Elles deviennent thermostables en présence de certains colloïdes cédés au vin à partir des parois levuriennes (LEDOUX *et al.*, 1992). La stabilité protéique des vins élevés

sur lies est due en fait à la présence d'une septième fraction protéique qui apparaît uniquement au cours de l'élevage sur lies. C'est une mannoprotéine de 32 KDa, appelée MP32, fragment de l'invertase pariétale de *S. cerevisiae*, qui a été caractérisée et clairement décrite comme thermostable et thermostabilisante vis-à-vis des protéines des vins vieillis sur lies. Suite à l'autolyse des levures au cours de l'élevage, ce fragment protéique est libéré de la paroi des levures par l'action conjointe de glucanases et protéases vacuolaires de la levure. Cette mannoprotéine a pu être obtenue *in vitro* à partir de parois de levure digérées enzymatiquement par des glucanases (préparation de Glucanex™) et pourrait prochainement faire partie intégrante d'un nouveau produit qui se substituerait en partie à la bentonite (DUBOURDIEU et MOINE-LEDOUX, 1996).

Parallèlement, d'autres mannoprotéines fortement glycosylées, de masse moléculaire moyenne d'environ 40 KDa obtenues par la digestion de parois de levure inhibent les cristallisations tartriques dans les vins blancs, rouges et rosés (MOINE-LEDOUX *et al.*, 1997 ; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998 b). À partir de ces données, un produit a pu être breveté sous le nom de Mannostab™ afin de prévenir les risques de précipitations tartriques des vins, mais son utilisation reste encore pour l'instant à titre expérimental.

## III - IMPORTANCE ORGANOLEPTIQUE DE L'ÉLEVAGE SUR LIES

L'autolyse des levures, par un élevage sur lies (technologie lente et coûteuse en œnologie) est essentiellement recherchée pour sa participation bénéfique à l'équilibre aromatique du vin. Elle favorise, comme nous l'avons vu, le relargage de certains composés (lipides, substances azotées, acides ribonucléiques, vitamines et polyolsides) dont certaines fractions peuvent être considérées comme des précurseurs d'arômes et donc susceptibles d'être impliqués dans le bouquet final des vins élevés sur lies.

Dans le langage viti-vinicole, les lies associées aux vins sont, communément, réputées apporter « gras » et « rondeur » au bouquet du vin, ainsi qu'un meilleur potentiel de garde. Néanmoins, si ces termes œnologiques sont quelque peu évasifs et subjectifs, certaines études, présentées au paragraphe suivant, relatent et analysent réellement ces variations gustatives. D'une façon générale, les macro-molécules des levures cédées au vin influencent la qualité aromatique. Il semblerait par exemple que des clarifications trop poussées (diminution de 30 p. cent de macromolécules) engendrent des défauts organoleptiques, comme par exemple une diminution de la persistance aromatique. Au contraire, des vins laissés au contact des lies pendant

plusieurs mois, s'enrichissent en macromolécules de levures, qui apportent un effet positif sur les attributs sensoriels des vins (FEUILLAT, 1997). Ce phénomène a été attribué à l'existence d'interactions entre macromolécules de levures et composés aromatiques du vin. Toutefois, diverses expérimentations menées à partir de vin avec des polysaccharides isolés et purifiés (mannoprotéines fermentaires et d'autolyse) n'ont pas permis de mettre en évidence un effet significatif d'un point de vue sensoriel (WILL *et al.*, 1991 ; SCHOBINGER *et al.*, 1992 ; SAMSON, communication personnelle).

Sur un milieu modèle, les interactions entre les composés volatils et les macromolécules du vin dépendent de la nature hydrophobe de la substance d'arôme et de la partie protéique de la macromolécule (LUBBERS *et al.*, 1994). Ces macromolécules n'interfèrent pas de manière unilatérale puisqu'elles peuvent augmenter ou diminuer la volatilité relative des arômes, les deux phénomènes ayant la même importance quantitative (FEUILLAT *et al.*, 1998). Par exemple, ce sont les molécules les plus apolaires qui sont les plus fixées par les macromolécules.

Sur un milieu modèle également, CHUNG (1986) a suivi l'évolution des composés volatils relargués par la levure au cours de la simulation d'une autolyse. À part quelques exceptions, la grande majorité des composés volatils sont présents en plus forte concentration lorsque la durée de conservation augmente. Toutefois, une hausse de la biomasse initiale n'entraîne pas systématiquement un accroissement proportionnel de la concentration en composés volatils.

MOLNAR *et al.* (1981), sur levures entières ou désintégrées, ont étudié les changements de la composition d'arômes dans les vins effervescents. La température influence la concentration de certains composés comme ceux à haut point d'ébullition (certains esters d'éthyle et certains acides gras). De plus, pour ces vins effervescents vieillissants en présence de levures broyées, les concentrations en composés volatils peuvent être 2 à 5 fois supérieures par rapport aux vins élevés avec des levures entières. Néanmoins, tous les composés volatils alors relargués ne sont pas favorables aux propriétés organoleptiques des vins effervescents.

L'élevage sur lies de Riesling blanc (10°C pendant 45 jours), selon ZOECKLEIN *et al.* (1997), diminue la teneur en précurseurs aromatiques non volatils, les composés glycosylés, de 52 p. cent par rapport à la teneur d'un vin sans élevage. Ces derniers seraient dégradés par des glycosidases qui, présentes dans l'espace périplasmique de la levure, seraient libérées au cours de l'autolyse dans le milieu.

D'après CHATONNET (1991), en barrique, sur milieu réel, l'intensité et la vitesse apparente de diffusion des substances aromatiques diffusant à partir du bois des fûts varient selon que les vins sont conservés sur lies fines ou sur lies totales. Le mode d'action de la biomasse est vraisemblablement double : les parois polysaccharidiques de levures peuvent d'une part refixer certains composés aromatiques (phénols volatils, *b*-methyl-g-octoalactones...) et d'autre part, certains systèmes enzymatiques de la levure encore actifs peuvent limiter l'intensité du caractère « boisé » en transformant certaines molécules comme la vanilline et les aldéhydes furaniques en produits moins odorants ou moins typiquement boisés.

En ce qui concerne la préférence des vins élevés sur lies par rapport à leur témoin, les résultats obtenus sont à pondérer car variables selon les auteurs :

Selon STUCKEY *et al.* (1991), l'addition de lies dans un vin de Chardonnay apporte à ce dernier « une nouvelle dimension ». De plus, « bâtonner » le vin développe un meilleur équilibre entre les odeurs fruitées, boisées, et levuriennes. L'auteur semble d'ailleurs mettre en évidence une corrélation entre l'appréciation positive de ces vins et la libération d'acides aminés dans le milieu après cinq mois d'élevage. On sait que les acides aminés peuvent être l'objet de réactions chimiques engendrant la formation de certains arômes (FEUILLAT et CHARPENTIER, 1982). C'est le cas de :

- la désamination de la thréonine en acide  $\alpha$ -céto-butyrrique qui se transforme ensuite en diméthyl 4-5 tétrahydrofurane dione 2-3, appelée aussi sotolon. Cette lactone possède des odeurs de noix verte,

- la formation de vitispirane, composé caractéristique des vieux vins à l'odeur florale qui doit son existence à la méthionine.

FERRARI et FEUILLAT (1988) ont montré que des vins de Bourgogne soutirés en fin de fermentation alcoolique sont préférés à ceux élevés sur lies, mais que ces derniers vins sont toutefois mieux classés en fin d'élevage. Cependant, sur des Champagnes additionnés de surnageants ou de culots d'autolysats, les vins obtenus sont très bien notés pour l'intensité et le parfum de leur arôme, ainsi que pour la typicité de l'odeur. En revanche, après deux ans de conservation, c'est le témoin qui est préféré. La présence d'autolysats semble donc bénéfique après une année pour être ensuite jugée défavorable (CHUNG, 1986).

La méthode d'élevage de vins sur lies est employée quasi systématiquement sur le vin Koshu au Japon pour relever la platitude initiale du cépage. Des analyses



sensorielles, menées pour évaluer les temps de contact optimum des lies avec ces vins, ont montré que les vins préférés sont ceux restés en contact sur une période de quatre mois pour les vins stockés en cuves, et ceux restés cinq à six mois pour des vins stockés en bouteilles (ARIZUMI *et al.*, 1994).

Enfin, LLAUBERES (1987) a montré que des lies bâtonnées favorisaient grandement le relargage de polysaccharides dans le milieu en comparaison avec des lies non bâtonnées, mais que, en revanche, cette différence n'était pas perçue au moment de la dégustation. A l'inverse, les vins en présence de lies sont systématiquement préférés au vin témoin. Cependant, l'influence organoleptique directe des polysaccharides sur le gras, sur le « coulant » ou le moelleux des vins blancs élevés sur lies n'a jamais été clairement démontrée (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998 b).

### ASPECTS TECHNOLOGIQUES CONSÉQUENTS À LA PRÉSENCE DE LIES

L'élevage sur lies a beaucoup été abordé, comme nous venons de le voir, sur le plan des constituants macro-moléculaires azotés, polysaccharidiques ou encore lipidiques relargués lors de l'autolyse des levures. CHATONNET (1991) a cependant élargi ces études en associant des notions complémentaires comme l'incidence des contenants dans lesquels sont réalisés les élevages. En effet, d'un point de vue technologique, le type du récipient de stockage, outre la nature du vin (blanc ou rouge), influe directement sur les processus d'oxydation du vin et donc sur son évolution.

#### I - ÉLEVAGE DES VINS SOUS BOIS

La conservation en barriques de bois de chêne est une pratique très ancienne qui permet d'affiner et de typer un vin, cette typicité provenant en partie des composés rétrocédés par le bois (GLORIES, 1987). Ce mode de conservation permet également une oxydation, qualifiée par l'auteur comme douce et permanente, dite « ménagée » du vin au cours du temps.

##### 1) Vins blancs, bois, lies et oxygène

La particularité de l'élevage traditionnel bourguignon des vins blancs en fût réside dans le fait que la barrique est le siège à la fois de la fermentation alcoolique et de l'élevage. Tout l'élevage est réalisé sur lies totales, sans soutirage. Il a la spécificité de mettre en œuvre des mécanismes réactionnels d'échange entre les constituants originels du vin, ceux de la levure ainsi que ceux de la barrique en chêne (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998 b). Ces mécanismes sont favorisés grâce à des remises en suspension régulières des lies (opération de bâtonnage). Le contact avec l'oxy-

gène de l'air est généralement néfaste pour la qualité des vins blancs. Aussi procède-t-on à des ouillages afin de diminuer au maximum la surface d'échange entre l'air et le contenu de la barrique, à l'injection de gaz neutres pour chasser l'oxygène surmontant le vin (DELTEIL *et al.*, 1998), ou encore à des ajouts préventifs de SO<sub>2</sub>. Ces pratiques mises en œuvre permettent de prévenir le développement de micro-organismes exogènes dans les vins, une fois la fermentation alcoolique achevée. En effet, le développement de levures oxydatives de « fleur » ou « à voile » ainsi que de bactéries acétiques n'est pas souhaité au cours de vinifications classiques du fait de leur action néfaste et contaminante sur la qualité du vieillissement biologique (CHARPENTIER, 1990).

Le bois est un matériau poreux, au travers duquel une certaine quantité d'oxygène peut diffuser en fonction de l'âge de la barrique. CHATONNET (1991) a établi par des mesures de potentiel d'oxydo-réduction que ce type de logement favorisait une certaine oxydation alors que le vin en cuve restait plus réduit (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998 b). À l'intérieur de la barrique, le potentiel décroît au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la surface du vin et que l'on se rapproche de ses lies (CHATONNET, 1991). Le bâtonnage permet un rééquilibrage du potentiel d'oxydoréduction de la barrique par dissolution d'oxygène. Ainsi, la réduction des lies, tout comme d'ailleurs l'oxydation des vins en surface du fût, sont empêchées. Toutefois, cet auteur avance qu'on ne peut pas uniquement expliquer la réussite d'un élevage en présence de biomasse totale sans apparitions d'odeurs soufrées par la seule diffusion de l'oxygène dans le fût. Il semble que la présence d'un catalyseur soit nécessaire pour la disparition totale ou l'absence de développement des sulfures volatils nauséabonds. L'acide gallique, produit d'hydrolyse des ellagitanins (tanins du bois), a été proposé en tant que catalyseur de ces réactions (CHATONNET, 1991). Cependant, bien que le bois de chêne soit riche en ellagitanins, les vins séjournant en barriques ne renferment que des teneurs mineures en ces composés par rapport aux composés phénoliques du vin (MOUTOUNET *et al.*, 1989 ; VIVAS *et al.*, 1996). Ces faibles concentrations en ellagitanins sont dues, pour l'essentiel, à la thermosensibilité de ces molécules pendant les opérations de cintrage et de « chauffe » des barriques (MOUTOUNET *et al.*, 1992).

Le bois rétrocède des substances aromatiques au vin qui réagissent avec les lies mais également avec les constituants du vin. Parmi les composés présents dans le bois et qui se solubilisent au moment de l'élevage, deux classes sont distinguées : les substances qui sont rétrocédées au vin sans véritable transformation, comme les whisky-lactones (notamment la  $\beta$ -methyl-

$\gamma$ -octalactone), et les substances qui proviennent du bois mais qui seront transformées au cours des fermentations alcoolique et malolactique, comme les phénols volatils (FEUILLAT, 1992). Il a été montré que les lies permettaient d'atténuer cet enrichissement des vins en polyphénols issus du bois (CHATONNET, 1991). Il semblerait que les mannoprotéines des parois de levures relarguées dans le milieu possèdent de grandes capacités de combinaison et de fixation avec les polyphénols (DUBOURDIEU, 1992). Ainsi, l'indice de polyphénols totaux et de la couleur jaune du vin diminuent au cours de l'élevage des vins sur lies en barrique (CHATONNET *et al.*, 1992).

## 2) L'élevage sur lies des vins rouges en barriques

Les vins blancs de type bourguignon réalisent à la fois leur fermentation alcoolique et leur élevage en barriques en présence de leurs lies. À l'inverse, les vins rouges ne sont mis au contact du bois qu'une fois la fermentation alcoolique achevée et généralement en absence des lies. Il est toutefois à noter que, depuis quelques années, des élevages de plus en plus nombreux de vins rouges sur lies et en barriques sont menés. Les pratiques utilisées sont encore un peu empiriques. Les vins sont généralement séparés de leurs lies grossières une fois la fermentation accomplie. Le vin et ses lies sont ensuite entonnés en fût et commence alors un élevage de type « classique », où les lies sont remises en suspension par bâtonnage régulier comme lors d'un vieillissement de vin blanc sur lies (BIOTEAU, 1998).

## II - ÉLEVAGE DES VINS EN CUVES

Tous les vins sur lies ne sont pas élevés dans des barriques. Ces dernières sont onéreuses et leur renouvellement régulier ou leur entretien, pour maintenir une certaine qualité, n'est pas toujours assuré. L'élevage des vins se pratique donc aussi en cuves, à condition que quelques précautions, liées à la nature du contenant, soient prises.

### 1) L'élevage des vins blancs

L'élevage de vins blancs en cuve de par les volumes importants mis en œuvre est beaucoup plus délicat que l'élevage en barriques (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998b). En effet, les défauts de réduction sont plus difficiles à maîtriser : le caractère réducteur des lies n'est pas contrebalancé par la présence d'oxygène diffusant au travers du récipient et l'équilibre d'oxydoréduction observé en fût n'est plus présent. Lorsque le vin ne présente pas de défaut de réduction, il est élevé sur lies fines, après un soutirage précoce (novembre - décembre) (CHATONNET, 1991), sinon les élevages sont réalisés en absence de lies (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998b).

Souvent, les goûts de réduit de vins blancs sur lies, sulfités en grandes cuves, ne sont pas éliminés par la pratique de soutirages avec aération du vin. Ils réapparaissent dès que les lies se redéposent, du fait, selon LAVIGNE *et al.* (1996), de la pression exercée par la hauteur de la cuve sur les lies. Le développement de ces goûts de réduits est dû en partie à une activité sulfito-réductase de la levure catalysant la transformation du SO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>S. Aussi, pour pallier cette contrainte, LAVIGNE *et al.* (1996) ont proposé de séparer momentanément, dès la fin du sulfitage, le vin de ses lies. Les lies seront logées en barriques afin qu'elles perdent leur activité réductrice (pendant un mois environ). Elles sont ensuite réincorporées au vin. À ce stade, elles ne génèrent non seulement plus de composés soufrés mais leur addition provoque une diminution sensible de certains thiols du vin comme nous l'avons vu précédemment (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1998b).

### 2) L'élevage des vins rouges

L'élevage des vins rouges est souvent réalisé en cuves inertes et généralement sans lies. Toutefois, la présence de lies n'est pas à exclure puisque pour certaines cuvées, l'élevage se fait sur lies, en procédant à une oxygénation assurée par différents remontages ou en utilisant un système de « micro-oxygénation », appareil qui permet de dispenser des quantités déterminées et régulières d'oxygène de manière à ce que ce dernier ne s'accumule pas dans les vins (MOUTOUNET et MAZURIC, 2001).

La présence de lies lors de l'élevage de vins rouges limite l'augmentation du potentiel d'oxydo-réduction observé lors de la conservation des vins sans lies (VIVAS et SAINT-CRICQ de GAULEJAC, 2000). Ces auteurs avancent que les lies possèdent ainsi un rôle d'antioxydant y compris dans les vins rouges.

## CONCLUSIONS

L'élevage de vins sur lies se caractérise par la présence d'un phénomène appelé autolyse. À propos des remarques concernant l'autolyse levurienne, il faut être conscient de la diversité des conditions expérimentales mises en œuvre et regroupées sous le terme unique d'« autolyse ». Par ce biais, il faut relativiser la comparaison d'un certain nombre de valeurs fournies dans la littérature scientifique. En effet, la qualité de la matière première d'étude (les levures) ainsi que les milieux (milieux de fermentation et milieux d'autolyse) ne sont pas dans tous les cas identiques. Certains auteurs étudient des lies de vins blancs (levures ayant fermenté une seule fois sur un moût de raisin), d'autres développent leur recherche sur des lies de vins effervescents (levures réalisant un deuxième processus fermentaire sur du vin et non plus du moût de raisin), tandis que

d'autres encore travaillent à l'aide de levures sèches actives réhydratées et placées directement dans un milieu modèle (milieu hydro-alcoolique, mimant à la composition sommaire d'un vin).

De plus, les marqueurs d'autolyse étudiés ne sont pas toujours les mêmes, certains estiment qu'il n'y a autolyse qu'après seulement un relargage passif d'acides aminés dans le milieu, alors que pour d'autres, la simple augmentation de la teneur en azote dans le milieu est synonyme d'autolyse. Enfin, pour certains auteurs, l'autolyse peut mettre un temps très long à se manifester (six à dix-huit mois pour certains vins de Champagne) avant que ses « bienfaits » n'apparaissent, tandis qu'un vin blanc élevé selon la méthode traditionnelle Bourguignonne, bien souvent pour éviter un goût de « boisé » trop prononcé, n'est élevé qu'au maximum neuf mois avant d'être embouteillé. Il est, de même, difficile de comparer les effets de l'autolyse « induite » à très fortes températures et ceux provoqués par l'autolyse de grands champagnes qui mettent des années à se manifester.

La très grande variabilité des modèles expérimentaux utilisés pour l'étude de l'autolyse des levures au cours de l'élevage des vins sur lies rend donc difficile toute affirmation catégorique sur les intensités de relargage des divers composés de la levure vers le vin.

C'est par contre dans le domaine du comportement physico-chimique des lies que les études scientifiques sont indiscutablement les moins sujettes à interprétation, même si le nombre des expérimentations menées est relativement faible. Ces travaux montrent clairement toute l'importance de l'environnement dans lequel s'exercera l'élevage du vin : la nature de la matière première (teneurs en polyphénols et anthocyanes), mais aussi l'équipement et la technologie utilisés (cuves, barriques, oxygénation ou pas...) influenceront profondément la qualité organoleptique du vin en question.

Cependant, peu d'études scientifiques n'ont donné lieu précisément à l'explicitation de l'influence bénéfique organoleptique attribuée à l'élevage de vins en présence de lies. La multiplicité des molécules relarguées pendant le phénomène d'autolyse, mais aussi les fortes interactions que peuvent avoir ces molécules ou même les lies avec les composés du vin, peuvent aisément expliquer cette absence, faute de cibles claires de recherche. C'est vraisemblablement dans ce sens que les futures recherches concernant les lies de vins devront s'orienter.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ACHSTETTER T. et WOLF T.H., 1985. Proteinases, proteolysis and biological control in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, **1**, 139-157.
- ANCIN C., AYESTRAN B., GARCIA A. et GARRIDO J., 1998. Evolution of fatty acids contents in Garnacha and viura musts during fermentation and aging wine. *Z. Lebensm. -Unters. Forsch.*, **206**, 143-147.
- ANDRES-LACUEVA C., LAMUELA-RAVENTOS R., BUXADERAS S. et DEL CARMEN DE LA TORRE-BORONAT M., 1997. Influence of variety and aging on foaming properties of cava (sparkling wine). Part 2. *J. Agric. Food. Chem.*, **45**, 2520-2525.
- ARIZUMI K., SUZUKI Y., KATO I., YAGI Y., OTSUKA K. et SATO M., 1994. Winemaking from Koshu variety by the sur lie method : change in the content of nitrogen compounds. *Am. J. Enol. Vitic.*, **3**, 312-318.
- BABAYAN T.L. et BEZRUKOV M.G., 1985. Autolysis in yeasts. *Acta Biotechnol.*, **2**, 129-136.
- BABAYAN T.L., BEZRUKOV M.G., LATOV V., BELIKOV V., BELAVTSEVA E. et TITOVA E., 1981. Induced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae* : morphological effects, rheological effects, and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products. *Curr. Microbiol.*, **5**, 163-168.
- BIOTEAU C., 1998. L'élevage sur lies fait son retour. *Réussir Vigne*, **36**, 32-33.
- BREDDAM K. et BEENFELDT T., 1991. Acceleration of yeast autolysis by chemical methods of production of intracellular enzymes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **3**, 323-329.
- CARNEVILLIER V., 1999. Contribution à l'étude des fractions azotées et plus particulièrement des peptides du moût de raisin et du vin. Application à la caractérisation des vins de cépage Chardonnay. *Thèse de doctorat*, Sciences biologiques fondamentales et appliquées : industries agro-alimentaires, Université de Dijon.
- CHARPENTIER C., 1990. Oxygène et stabilité microbiologique des vins. *Rev. fr. Œnol.*, **124**, 80-84.
- CHARPENTIER C. et FEUILLAT M., 1992. Yeast autolysis, 225-242. In : *Wine microbiology and biotechnology*. G. FLEET ed., Chur (Suisse), Harwood academic publisher.
- CHARPENTIER C. et FREYSSINET M., 1989. The mechanism of autolysis in wine. *Yeast*, **5**, S181-S186.
- CHARPENTIER C., NGUYEN VAN LONG T., BONALY R. et FEUILLAT M., 1986. Alteration of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* during autolysis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 405-413.
- CHATONNET P., 1991. Incidence du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organolep-

- tiques des vins. Applications technologiques, *Thèse pour le diplôme d'études et de recherches*, 224 p., Université de Bordeaux.
- CHATONNET P., DUBOURDIEU D. et BOIDRON J.N., 1992. Incidence des conditions de fermentation et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur composition en substances cédées par le bois de chêne. *Sci. Aliments*, **12**, 665-685.
- CHEN E., JAMIESON M. et VAN GHELUWE G., 1980. The release of fatty acids as a consequence of yeast autolysis. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, **1**, 13-18.
- CHUNG S., 1986. Contribution à l'étude de la formation des composés volatils au cours de l'autolyse des levures de vinification, *Thèse de doctorat*, Spécialité biochimie, option sciences alimentaires, 90 p., Université de Bourgogne.
- COURTIS K., TODD B. et ZHAO J., 1998. The potential role of nucleotides in wine flavour. *Aust. Grapegrower Winemaker*, **409**, 51-53.
- DELTEIL D., FEUILLAT M., GUILLOUX-BENATIER M. et SAPIS J.C., 1998. Les vins blancs secs, 718-736. In : *Œnologie. Fondements scientifiques et technologiques*. Ed. Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- DIRECTION GENERALE DES IMPOTS, 30 mars 1987. Vin. Réglementation du produit. Boissons impropres à la consommation. Surpressage des lies de vin. *Bulletin Officiel des Impôts*, **51**, 29-35.
- DUBOURDIEU D., 1992. Vinification des vins blancs secs en barriques. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, (numéro hors série), 137-145.
- DUBOURDIEU D., 1995. Intérêts œnologiques et risques associés à l'élevage des vins blancs sur lies en barriques. *Rev. Fr. Œnol.*, **155**, 30-35.
- DUBOURDIEU D. et MOINE-LEDOUX V., 1996. Produit de stabilisation protéique des vins. Demande de brevet d'invention française n°96 08 187, France.
- DUSSAUD A., ROBILLARD B., CARLES B., DUTEURTRE B. et VIGNES-ADLER M., 1994. Exogenous lipids and ethanol influences on the foam behavior of sparkling base wines. *J. Food Sci.*, **59**, 148-167.
- FERRARI G. et FEUILLAT M., 1988. L'élevage sur lie des vins blancs de Bourgogne. I - Étude des composés azotés, des acides gras et analyse sensorielle des vins. *Vitis*, **27**, 183-197.
- FERRARI G., MEUNIER J.M. et FEUILLAT M., 1987. Dosage des acides gras totaux du vin et des levures de vinification. *Sci. Aliments*, **1**, 61-76.
- FEUILLAT M., 1986. Autolysats de levures à caractère œnologique et leur procédé de fabrication. *Brevet ANVAR*. Université de Bourgogne, Dijon.
- FEUILLAT M., 1992. Vins blancs vinifiés en fûts : l'interaction du bois et des lies. *Viti*, novembre, 103-104.
- FEUILLAT M., 1997. Les arômes : facteurs de qualité. Incidence aromatique de l'autolyse des levures. *Rev. Œnol.*, **83**, 14-16.
- FEUILLAT M., 1998. Autolyse des levures, 450-454. In : *Œnologie. Fondements scientifiques et technologiques*. Ed. Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- FEUILLAT M., 2000. Nouveaux adjuvants œnologiques possibles d'origine levurienne. In : *Int. symp. enology. Oxygen and sensory characters of wine*. Salice Terme, Pavia, Italie, p. 143-162.
- FEUILLAT M. et CHARPENTIER C., 1982. Autolysis of yeasts in champagne. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1**, 6-13.
- FEUILLAT M. et CHARPENTIER C., 1998. Les manno-protéines de levures : un adjuvant œnologique possible. *Bull. O.I.V.*, **71**, 946-967.
- FEUILLAT M., FREYSSINET M. et CHARPENTIER C., 1989. L'élevage sur lie des vins blancs de Bourgogne. II- Évolution des macromolécules : polysaccharides et protéines. *Vitis*, **28**, 161-176.
- FEUILLAT M. et GUERREAU J., 1996. Les nouveaux activateurs de la fermentation alcoolique. *Bull. O.I.V.*, **69**, 789-790, 987-998.
- FEUILLAT M., LUBBERS S. et VERNHET A., 1998. Colloïdes interactions moléculaires, 596-620. In : *Œnologie. Fondements scientifiques et technologiques*. Ed. Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- FLEET G.H. et MANNERS D.J., 1977. The enzymatic degradation of an alkali-soluble glucan from the cell walls of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.*, **98**, 315-327.
- FORNAIRON C., MAZAURIC J.P., SALMON J.M. et MOUTOUNET M., 1999. Observations sur la consommation de l'oxygène pendant l'élevage des vins sur lies, *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **2**, 79-86.
- FORNAIRON-BONNEFOND C., 2000. Réactivité post-fermentaire de *Saccharomyces cerevisiae* vis-à-vis de l'oxygène en conditions œnologiques. Application à l'élevage de vins sur lies. *Thèse de doctorat*, 260 p., Université de Montpellier II.
- FREDERIC A., 1991. Valorisation de la lie de vin de champagne. *Diplôme d'état de docteur en pharmacie*, Université de Reims.
- FREYSSINET M., FEUILLAT M. et CHARPENTIER C., 1989. Rôle de la paroi cellulaire dans l'autolyse des levures. Applications œnologiques, 160-168. In : *Actualités œnologiques 89. C.R. 4<sup>e</sup> symp. int. œnol., 15-17/06/89*. Éd. Tec & Doc Lavoisier, Bordeaux.
- GIOVANELLI G., PERI C. et PARRAVICINI E., 1996. Kinetics of grape juice fermentation under aerobic and anaerobic conditions. *Am. J. Enol. Vitic.*, **47**, 429-434.
- GLORIES Y., 1987. Phénomènes oxydatifs liés à la conservation sous bois, *Can. J. Biochem. Cell. Biol., numéro spécial : Les boissons et la qualité des vins et des eaux-de-vie*, 81-92.

- HERNAWAN T. et FLEET G., 1995. Chemical and cytological changes during the autolysis of yeasts. *J. Ind. Microbiol.*, **14**, 440-450.
- HERRAIZ T., HERRAIZ M., REGLERO G., MARTIN-ALVAREZ P.J. et CABEZUDO M.D., 1990. Changes in the composition of fatty acids during the alcoholic fermentation of grape must. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebens.*, **12**, 185-188.
- HOUGH J.S. et MADDOX I.S., 1970. Yeast autolysis. *Process Biochem.*, **210**, 50-53.
- KELLY-TREADWELL P.H., 1988. Protease activity in yeast : its relationship to autolysis ans champagne character. *Aust. Grapegrower Winemaker*, **4**, 58-66.
- LAFON-LAFOURCADE S., LARUE F., BRECHOT P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1977. Les stéroïdes « facteur de survie » des levures au cours de la fermentation alcoolique du moût de raisin. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **284**, 1939-1941.
- LARUE F., GENEIX C., LAFON-LAFOURCADE S., BERTRAND A. et RIBÉREAU-GAYON P., 1984. Premières observations sur le mode d'action des écorces de levure. *Connaissance Vigne Vin*, **3**, 155-163.
- 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*, **4**, 201-206.
- LE FUR Y., MAUME G., FEUILLAT M. et MAUME B.F., 1999. Characterization by gas chromatography/mass spectrometry of sterols in *Saccharomyces cerevisiae* during autolysis. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2860-2864.
- LEDOUX V., DULAU L. et DUBOURDIEU D., 1992. Interprétation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **4**, 239-251.
- LEROY M.J., CHARPENTIER M., DUTEURTRE B., FEUILLAT M. et CHARPENTIER C., 1990. Yeast autolysis during champagne aging. *Am.J. Enol. Vitic.*, **1**, 21-28.
- LLAUBERES R.M., 1987. Rôle de la biomasse levurienne dans l'élevage des vins blancs en barriques. *Connaissance Vigne Vin, numéro spécial : Les boissons et la qualité des vins et des eaux-de-vie*, 112-121.
- LLAUBERES R.M. et DUBOURDIEU D., 1987. Exocellular polysaccharides from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Sci. Food Agric.*, **41**, 277-286.
- LUBBERS S., CHARPENTIER C., FEUILLAT M. et VOILLEY A., 1994. Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1**, 29-33.
- LUGUERA C., MORENO-ARRIBAS V., PUEYO E. et POLO M.C., 1997. Capillarity electrophoretic analysis of wine proteins. Modifications during the manufacture of sparkling wines. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 3766-3770.
- LURTON L., 1988. Étude de la protéolyse des levures de vinification lors de l'élevage d'un vin sur ses lies. *Rev. Fr. Œnol.*, **113**, 35-41.
- LURTON L., SEGAIN J.P. et FEUILLAT M., 1989. Étude de la protéolyse au cours de l'autolyse de levures en milieu acide. *Sci. Aliments*, **9**, 111-124.
- MANNERS D.J., MASSON A.J. et PATTERSON J.C., 1973 a. The structure of a  $\beta(1-3)$ -D-glucan from yeast cell walls. *Biochem. J.*, **135**, 19-30.
- MANNERS D.J., MASSON A.J., PATTERSON J.C., BJORN DAL H. et LINDBERG B., 1973 b. The structure of a  $\beta(1-6)$  D glucan from yeast cell walls. *Biochem. J.*, **135**, 31-36.
- MARTINEZ-RODRIGUEZ A. et POLO C., 2000. Characterization of the nitrogen compounds released during yeast autolysis in a model system. *J. Agric. Food Chem.*, **4**, 1081-1085.
- MIGUEL-GORDILLO C., IGLESIAS J.L. et EXPOSITO J.M., 1990. Autolysis of *Saccharomyces bayanus* during the production of cava. Part I. Proteolysis in wines. *Nahrung*, **10**, 696-972.
- 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. Œnol.*, **86**, 11-14.
- MOINE-LEDOUX V., PERRIN A., PALADU I. et DUBOURDIEU D., 1997. Premiers résultats de stabilisation tartrique des vins par addition de manno-protéines purifiées (Mannostab™). *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **31**, 1, 23-29.
- MOLNAR I., OURA E. et SUOMALAINEN H., 1980. Determination of the autolysis of champagne yeast by using <sup>14</sup>C-labelled yeast. *Acta Aliment.*, **4**, 305-312.
- MOLNAR I., OURA E. et SUOMALAINEN H., 1981. Study of the volatile substances produced during the autolysis of champagne yeast. *Acta Aliment.*, **1**, 27-36.
- MORENO-ARRIBAS V., PUEYO E. et CARMEN POLO M., 1996. Peptides in musts and wines. Changes during the manufacture of cavas (sparkling wines). *J. Agric. Food Chem.*, **12**, 3783-3788.
- MORENO-ARRIBAS V., PUEYO E., POLO C. et MARTIN-ALVAREZ P., 1998. Changes in the amino acid composition of the different nitrogenous fractions during the aging of wine with yeasts. *J. Agric. Food Chem.*, **10**, 4042-4051.
- MOUTOUNET M., RABIER P.H., PUECH J.L., VERETTE E. et BARILLERE J.M., 1989. Analysis by HPLC of extractable substances in oak wood application to a chardonnay wine. *Sci. Aliments*, **9**, 35-51.
- MOUTOUNET M., RABIER P.H., SARNI F. et SCALBERT A., 1992. Les tanins du bois de chêne, les conditions de leur présence dans le vin. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, n° hors série, 75-79.

- MOUTOUNET M. et MAZAUURIC J.P., 2001. L'oxygène dissous dans les vins. *Rev. Fr. Œnol.*, **186**, 12-16.
- PITON F., CHARPENTIER M. et TROTON D., 1988. Cell wall and lipid changes in *Saccharomyces cerevisiae* during aging of champagne wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **3**, 221-226.
- PUEYO E., MARTIN-ALVAREZ P. et POLO C., 1995. Relationship between foam characteristics and chemical composition in wines and cava. *Am. J. Enol. Vitic.*, **4**, 518-524.
- PUEYO E., MARTINEZ-RODRIGUEZ A., POLO M.C., SANTA-MARIA G. et BARTOLOME B., 2000. Release of lipids during yeast autolysis in a model wine system. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 116-122.
- RATTRAY J.B.M., 1988. Yeast, pp 555-697. In : *Microbial lipids*. C. RATLEDGE and S. WILKINSON eds, Academic press, London.
- RENOUIL Y. et FERET C., 1988. *Dictionnaire du vin*. Ed. Sezame, Boulogne sur Seine.
- RIBEREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONECHE B. et LONVAUD A., 1998a. *Traité d'œnologie. 1- Microbiologie du vin*. Vinifications. Ed. Dunod, Paris.
- RIBEREAU-GAYON P., GLORIES Y., MAUJEAN A. et DUBOURDIEU D., 1998 b. *Traité d'œnologie. 2- Chimie du vin*. Stabilisation et traitements. Ed. Dunod, Paris.
- SALMON J.M., FORNAIRON-BONNEFOND C., MAZAUURIC J.P. et MOUTOUNET M., 2000. Oxygen consumption by wine lees : impact on lees integrity during wine ageing. *Food Chem.*, **4**, 519-528.
- SALMON J.M., FORNAIRON-BONNEFOND C. et MAZAUURIC J.P., 2001. Interactions between wine lees and polyphenols: influence on oxygen consumption during simulation of wine aging. *J. Food Sci.*, *in press*.
- SATO M., SUZUKI Y., HANAMURE K., KATO I., YAGI Y. et OTSUKA K., 1997. Winemaking from koshu variety by the sur lie method : behavior of free amino acids and proteolytic activities in the wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **1**, 1-6.
- SCHOBINGER U., STUESSI J. und WALDVOGEL R., 1992. Bedeutung der weinkolloide für die sensorische qualität des weins, Mitteilungen Klosterneuburg. *Rebe und Wein, Obstbau Fruechteverwertung*, **42**, 205-212.
- SCIANCEPELORE V., DE GIGLIO A. et PALLAVICINI C., 1983. Détermination de quelques composants des lies de vin. *Ind. Aliment. Agric.*, **6**, 365-367.
- SIMPSON R.F., 1977. Oxidative pinking in white wines. *Vitis*, **16**, 286-294.
- SLAUGHTER J.C. et MINABEM., 1994. Fatty acid-containing lipids of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* during post-fermentation decline in viability. *J. Sc. Food. Agric.*, **65**, 497-501.
- SOUFLEROS E. et BERTRAND A., 1988. Les acides gras libres du vin : observations sur leur origine. *Connaissance Vigne Vin*, **4**, 251-260.
- STUCKEY W., LAND P., HENSHKE P. et GAWEL R., 1991. The effect of lees contact time on chardonnay wine composition. In : *Int. symp. on nitrogen in grapes and wine*. Seattle. The american society for enology and viticulture ed., p. 315-319.
- SUZZI G., 1990. La capacità autolitica come carattere di selezione in *Saccharomyces cerevisiae*. *Ind. Bevande*, **19**, 318-321.
- TODD B., 1995. Aspects of yeast autolysis in sparkling wine production. In : *Proceed. of the 9<sup>th</sup> australian wine industry technical conference*. Adelaide. Winetitle ed., p. 33-38.
- TRIOLI G. et DULAU L., 1995. Fermaid F : Effets sur la cinétique fermentaire et les caractéristiques du vin. *Rev. Fr. Œnol.*, **154**, 39-40.
- TROTON D., CHARPENTIER M., ROBILLARD B., CLAVAYRAC R. et DUTEURTRE B., 1989. Evolution of the lipid contents of champagne wine during the second fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Am. J. Enol. Vitic.*, **3**, 175-182.
- VASSEROT Y., CAILLET S. et MAUJEAN A., 1997. Study of anthocyanin adsorption by yeast lees. Effect of some physicochemical parameters. *Am. J. Enol. Vitic.*, **4**, 433-437.
- VASSEROT Y. et MAUJEAN A., 1998. Optimisation des moûts champenois de Pinot noir par traitement décolorant avec des lies levuriennes. *Rev. Fr. Œnol.*, **170**, 59-62.
- VIVAS N. et SAINT CRICQ DE GAULEJAC N., 2000. L'enjeu œnologique de l'élevage sur lies des vins rouges. II- Propriétés et modes de valorisation des lies. In : *Colloque des sciences et techniques de la tonnellerie. Connaissances actuelles et avenir de l'élevage en barriques*. Bordeaux, p. 43-46.
- VOSTI D.C. et JOSLYN M.A., 1954. Autolysis of baker's yeast. *Appl. Microbiol.*, **2**, 70-78.
- WATANABE Y., ABE N. et TAKAKUWA M., 1983. Degradation of phospholipids and liquefaction of pressed baker's yeast by acetic vapour. *Agric. Biol. Chem.*, **2**, 195-201.
- WILL F., PFEIFER W. et DIETRICH H., 1991. Die bedeutung der kolloide für die qualität des weines. *Vitic. Enol. Sci.*, **46**, 78-84.
- ZOECKLEIN B., MARCY J. et JASINSKI Y., 1997. Effect of fermentation storage sur lie or postfermentation thermal processing on white riesling (*Vitis vinifera* L.) glycoconjugates. *Am. J. Enol. Vitic.*, **4**, 397-402.

---

Reçu le 23 février 2001  
accepté pour publication le 4 mai 2001

---