Connaissance Vigne Vin, 1985, **19,** n° 3, 149-159.

COMPARAISON DE DIVERSES PREPARATIONS INDUSTRIELLES DE BACTERIES LACTIQUES REACTIVEES POUR STIMULER LA FERMENTATION MALOLACTIQUE

Annick JOYEUX et Aline LONVAUD-FUNEL

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

INTRODUCTION

Depuis longtemps on a cherché à stimuler la fermentation malolactique par inoculation à l'aide de bactéries sélectionnées (RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975) Jusqu'à ces dernières années on s'est heurté à la difficulté de disposer aisément de biomasses bactériennes convenables en quantité suffisante. Actuellement, des préparations industrielles sont proposées.

Un résultat important, maintenant universellement admis, a été de montrer qu'on ne peut utiliser ces préparations en l'état, si ce n'est au prix d'importantes pertes (CARRE, 1982 ; GNAEGI, 1982 ; VALADE et *al.*, 1984 ; FEUILLAT et *al.*, 1985). LAFON-LAFOURCADE et *al.* (1983) ont montré la nécessité d'une réactivation avant l'emploi. Cette opération consiste essentiellement à porter les bactéries dans un état physiologique convenable, dans un milieu induisant en outre la synthèse d'importantes réserves d'enzyme malolactique.

Dans ce travail, sept préparations industrielles, différentes par leur origine, leur présentation et la nature de la bactérie, sont étudiées. On a déterminé leur efficacité après une réactivation convenable, dans un vin rouge et dans un vin blanc. L'une de ces préparations a fait l'objet d'expérimentations en grands volumes dans les conditions de la pratique, en Bordelais, au cours des deux dernières campagnes de vinification.

MATERIELS ET METHODES

Les milieux utilisés sont : un jus de raisin Muscat du commerce, le produit de sa fermentation par *S. cerevisiae* et des vins prélevés dans des chais de vinifications ; les caractéristiques sont indiquées pour chaque essai.

Les expérimentations sont conduites au laboratoire, en bouteilles de 500 ml complètement remplies, bouchées avec une fermeture de type

« limonade » .D'autres sont effectuées dans des chais, en fûts et en barriques.

Les cellules vivantes sont dénombrées en milieu nutritif solide (LAFON-FOURCADE et JOYEUX, 1979). L'acide malique est dosé par méthode enzymatique (BERGMEYER, 1971). L'identification des bactéries est obtenue par application des Api-System (LAFON-LAFOURCADE et JOYEUX, 1979). Pour la mesure des taux de viabilité des préparations industrielles, on homogénéise le contenu d'un sachet de lyophilisat ou d'un récipient après décongélation ; 100 mg de matière sèche ou 1 ml de liquide sont mis en suspension respectivement dans 10 ml ou 100 ml d'eau stérile. On procède immédiatement aux dilutions convenables pour obtenir une centaine de colonies en milieu nutritif solide. Pour la mesure de l'activité malolactique, les biomasses réactivées sont centrifugées, lavées trois fois dans du sérum physiologique et reprises dans une solution 0,1M $KH_2 PO_4$ (pH = 4,5). L'activité est déterminée par la vitesse de décarboxylation de l'acide malique avec une électrode spécifique à CO_2 (LONVAUD, 1975). On mesure l'augmentation de pCO_2 en fonction du temps.

RESULTATS

I — CARACTERISTIQUES DES PREPARATIONS BACTERIENNES INDUSTRIELLES

Les préparations se présentent sous forme lyophilisée et congelée (Tableau I). La concentration en cellules viables varie selon les préparations de 2.10^{10} à $1{,}2.10^{12}$ par g. La survie des populations au cours des six premiers mois est satisfaisante aux températures optimales de conservation définies par les fabricants.

L'identification a permis de vérifier que ces préparations sont généralement à base de *Leuconostoc oenos,* sauf deux cas où il s'agit de *Lactobacillus hilgardii* et de *Leuconostoc mesenteroïdes* (Tableau I).

II — CONDITIONS DE LA REACTIVATION DES PREPARATIONS INDUSTRIELLES

Par commodité, l'inoculation du vin est réalisée à l'aide de la suspension bactérienne dans le milieu de réactivation. Pour des raisons qualitatives et de législation ceci implique :

a) un milieu de réactivation de composition aussi proche que possible de celle du milieu naturel ;

b) une concentration en bactéries vivantes réactivées suffisamment importante pour entraîner une dilution du vin ne dépassant pas 1 pour mille.

TABLEAU I

Caractéristiques des préparations industrielles

Préparation	Présentation de la préparation	Température de la conservation	Concentration cellulaire viable* initiale	Concentration cellulaire viable* après 6 mois	Identification
1	Lyophilisée	— 18 °C	$3,4.10^{11}$	$2,6.10^{11}$	*Leuconostoc œnos*
2	Lyophilisée	— 4 °C	3.10^{11}		*Leuconostoc mesenteroïdes*
3	Lyophilisée	— 4 °C	2.10^{10}	$1,9.10^{10}$	*Leuconostoc œnos*
4	Lyophilisée	— 4 °C	$1,2.10^{12}$	10^{11} à 10^{12}	*Leuconostoc œnos*
5	Lyophilisée	— 4 °C	4.10^{10}		*Leuconostoc œnos*
6	Lyophilisée	— 4 °C	$5,5.10^{10}$		*Lactobacillus hilgardii*
7	Congelée	— 18 °C	7.10^{10}		*Leuconostoc œnos*

* Concentration exprimée en cellules par ml pour les préparations congelées, en cellules par g pour les préparations lyophilisées.

TABLEAU II

Propriétés des populations bactériennes concentrées de *L. oenos* selon le mode de réactivation

Milieux de réactivation	Temps d'incubation (jours	Populations dans le milieu de réactivation (cell/ml)	Activité malolactique mol. $CO_2 x mn^{-1}$ $x10^8$ bact.	Pourcentage d'acide malique dégradé dans un vin après 18 jours
Moût de raisin dilué + 5 g/l autolysat pH 4,5	0 1 2 18	1.10^9 2.10^{10} 1.10^{10} —	0,16	88
Vin dilué + 5 g/l autolysat pH 4,5	0 1 2 18	1.10^9 4.10^9 $0,2.10^9$ —	0,02	77

(1) Caractéristiques du vin : éthanol 11 % vol. ; acide malique 7 g/l ; pH 3,5 ; inoculation de bactéries réactivées pendant 48 heures : 107 cellules par ml.

Ces contraintes limitent le choix des milieux ; ils doivent être à base de moût de raisin ou de vin. Le jus de tomate, fortement activateur, doit être exclu.

Dans un premier essai, on a comparé l'efficacité d'un milieu de réactivation préparé à partir de moût ou de vin qui en est issu. Dans un cas comme dans l'autre ils sont dilués de moitié, additionnés par litre de 5 g d'autolysat de levure et amenés à pH 4,5, puis ils sont ensemencés avec la même population de *L. oenos* provenant d'une biomasse industrielle congelée (n° 7, Tableau I). Par rapport au milieu vin, dans le milieu à base de moût de raisin (Tableau II) et après 24 heures d'incubation à 25 °C, les populations présentent une activité malolactique huit fois plus importante ; la concentration en cellules viables est 20 fois plus élevée. Inoculées dans un vin (éthanol 11 % vol. ; acide malique 7 g par litre ; pH 3,5) elles dégradent 88 p. 100 de l'acide malique en 18 jours (Tableau II). Pendant le même temps, les bactéries réactivées dans le milieu à base de vin ont fermenté seulement 77 p. 100 de l'acide malique. Le milieu de réactivation préparé à partir du moût dilué est donc utilisé dans la suite des expérimentations.

TABLEAU III

Evolution des populations viables de *L. œnos* dans le milieu de réactivation selon la présentation de la préparation industrielle et le taux dinoculum

Présentation industrielle	Taux d'inoculum (cell/ml)	Temps (heures)			
		24	48	72	96
Congelée	1.10^9	2.10^{10}	1.10^{10}		
	$1,3.10^9$	$1,2.10^{10}$	$1.2,10^{10}$	2.10^{10}	1.10^{10}
Lyophilisée	$1,3.10^8$	$3,8.10^9$	$8,8.10^9$	$8,8.10^9$	8.10^9
	$1,3.10^7$	$2,2.10^8$	2.10^9	$7,8.10^9$	4.10^9

D'un autre côté, on sait qu'un ensemencement du vin de l'ordre de 5.10^6 à 1.10^7 cellules par ml de *L. oenos,* dans un état physiologique correspondant à la fin de phase de prolifération, est nécessaire pour obtenir une maitrise convenable de la fermentation malolactique (CARRE, 1982 ; LAFON-LAFOURCADE et *al.,* 1983). Ceci implique une concentration cellulaire de l'ordre de 10^{10} cellules par ml dans le milieu de réactivation. Nos essais montrent (Tableau III) que des ensemencements du milieu de réactivation à base de moût, de l'ordre de 10^8 ou mieux de 10^9 cellules par ml sont indispensables pour obtenir cette population maximale. Celle-ci est atteinte après 2 à 3 jours d'incubation à 25 °C pour les préparations congelées et après 2 à 4 jours pour les préparations lyophilisées.

III—EFFICACITE DE DIFFERENTES PREPARATIONS INDUSTRIELLES DE BACTERIES REACTIVEES POUR L'INDUCTION DE LA FERMENTATION MALOLACTIQUE (Tableau IV)

a) **Cas d'un vin rouge.**

Le vin non sulfité prélevé dans les conditions de la pratique titre 11,5 p. 100 vol. éthanol, et contient 2,35 g d'acide malique par litre et son pH est de 3,4. Il possède une population indigène de 10^3 cellules par ml. Il est réparti en plusieurs flacons contenant 500 ml de vin. On ensemence à l'aide de cinq préparations industrielles parmi celles étudiées dans le tableau I à raison de 1 ml par litre de la suspension bactérienne dans le milieu de réactivation à base de moût de raisin. On laisse incuber à 19 °C.

Dans les vins ensemencés, les populations initiales varient de 1.10^6 à 8.10^6 cellules par ml au quatorzième jour. La dégradation de l'acide malique est totale après 14 jours dans le vin ensemencé avec *L. oenos* n° 4 et 21 jours dans les autres échantillons (*L. oenos* n^{os} 1, 3, 7 ; *L. mesenteroïdes* n° 2). Dans le vin non ensemencé la teneur en acide malique reste inchangée pendant toute la durée de l'expérience.

b) **Cas d'un vin blanc.**

Le vin issu de la fermentation alcoolique par *S. cerevisiae* du moût de Muscat est dépourvu de bactéries ; il ne contient pas d'anhydride sulfureux libre et total. Il titre 11 % vol. éthanol, 7 g d'acide malique par litre et son pH est 3,5.

Six préparations industrielles sont expérimentées après réactivation. Les ensemencements sont effectués à raison de 1 ml de suspension bactérienne par litre. Les populations initiales varient de 1.10^6 à $2{,}6.10^7$ cellules par ml. Dans les vins ensemencés avec les préparations n° 6 à base de *Lactobacillus hilgardii,* n° 2 à base de *Leuconostoc mesenteroïdes* et n° 7 à base de *Leuconostoc œnos,* la fermentation malolactique s'est arrêtée prématurément après un mois d'incubation. Elle correspond respectivement à 14, 32 et 64 p. 100 de l'acide malique initial ; elle est complète après 24 jours d'incubation dans le vin ensemencé avec *L. œnos* n° 3 et *L. œnos* n° 4 et après 33 jours dans l'échantillon ensemencé avec *L. œnos* n° 1.

Dans les deux expérimentations (vin blanc et vin rouge), l'acidité volatile à la fin de la fermentation malolactique était identique, quelle que soit la préparation utilisée.

IV — EXPERIMENTATION DANS LES CONDITIONS DE LA PRATIQUE AU COURS DES CAMPAGNES DE VINIFICATION 1983 ET 1984.

Au cours de la campagne 1983, 36 expérimentations de stimulation de la fermentation malolactique par inoculation des vins ont été mises en place dans les conditions de la pratique dans l'ensemble de la région viticole du

TABLEAU IV

Induction de la croissance bactérienne et de la fermentation malolactique par inoculation du vin à l'aide de bactéries préparées industriellement et réactivées

a) Cas d'un vin rouge

Préparation		Temps (jours)				
		0	5	14	18	21
1	CV	8.10^6	$1,8.10^6$	1.10^7	0,16	0
	MR	2,35	1,95	0,48		
2	CV	$4,1.10^6$	$9,8.10^6$	1.10^7	0,19	0
	MR	2,35	2,23	0,70		
3	CV	1.10^6	$0,7.10^6$	$1,6.10^7$	0,22	0
	MR	2,35	2,23	0,70		
4	CV	4.10^6	2.10^6	1.10^7	0	0
	MR	2,35	1,89	0		
7	CV	2.10^6	3.10^6	8.10^6	0,22	0
	MR	2,35	2,30	0,70		

CV : cellules viables par ml ; MR : acide malique résiduel (g/l).
Caractéristiques analytiques du vin rouge : éthanol : 11,5 % vol ; pH : 3,4 ; acide malique : 2,35 g/l.

b) Cas d'un vin blanc

Préparation		Temps (jours)					
		0	5	14	18	24	33
1	CV	8.10^6	$1,4.10^6$		$3,2.10^6$	2.10^7	
	MR	7	5,32	4,85	4,7	1,68	0
2	CV	4.10^6	8.10^6		1.10^6	$1,4.10^6$	
	MR	7	5,47	5,25	5,12	4,7	4,7
3	CV	1.10^6	$1,4.10^6$		$4,2.10^7$	$4,8.10^7$	
	MR	7	5,80	3,02	0,84	0	0
4	CV	8.10^6	$1,6.10^6$		$1,8.10^7$	2.10^7	
	MR	7	6,0	3,50	0,32	0	0
6	CV	3.10^6	$1,5.10^6$		$1,5.10^6$		
	MR	7	6,5	6,30	6	6	6
7	CV	$2,6.10^7$	2.10^7		$0,6.10^6$	$0,8.10^6$	
	MR	7	4,33	2,54	2,5	2,5	

CV : cellules viables par ml ; MR : acide malique résiduel (g/l).
Caractéristiques analytiques du vin blanc : éthanol 11 % vol. ; pH : 3,5 ; acide malique : 7 g/l.

Bordelais. Les volumes traités varient de 43 à 430 hl ; 4 606 hl au total ont été inoculés avec les biomasses réactivées selon le protocole décrit précédemment. Les biomasses industrielles ont été fournies gracieusement par la Société Gewürzmüller (Stuttgart) et produites par « Microlife Technics » (Sarasota, Floride) sous forme congelée.

On a conduit 26 expérimentations en vinification en rouge (3 762 hl) et 10 expérimentations en vinification en blanc (842 hl), pour lesquelles environ 500 litres de levain réactivé avaient été préparés.

En vinification en rouge, par inoculation, la fermentation malolactique a été provoquée dans 3 cas et accélérée dans 7 cas. L'incidence de l'inoculation est douteuse ou nulle, du fait d'une fermentation spontanée, dans 13 cas ; 3 expérimentations n'ont pas pu être exploitées par manque d'information.

En vinification en blanc, la fermentation malolactique a été provoquée dans 4 cas. L'inoculation est sans effet dans six cas du fait de fermentation malolactique spontanée, d'une teneur en SO_2 libre trop élevée et de l'impatience du propriétaire.

Au cours de la campagne 1984, les biomasses de même origine ont été fournies sous forme lyophilisées. L'Institut d'Œnologie s'est chargé de la réactivation de la totalité des biomasses expérimentées. Les essais ont été mis en place dans les conditions de la pratique par les soins de certains laboratoires privés et les laboratoires de la Chambre d'Agriculture de la Gironde. 835 litres de milieu de réactivation ont été distribués.

Les résultats concernent 59 expérimentations, 54 essais en vinification en rouge (4 059 hl) et 5 essais en vinification en blanc (184 hl).

Les expérimentations ont été conduites dans des propriétés où la fermentation malolactique est toujours difficile, et courant décembre dans des vins où malgré le chauffage des chais elle ne s'était pas spontanément déclenchée.

En vinification en rouge, la fermentation malolactique a été provoquée et complète dans 33 cas (2 392 hl) et accélérée dans 9 cas (432 hl). Par contre elle a été spontanée dans 8 cas (978 hl) et non enclenchée dans 3 cas (255 hl).

En vinification en blanc, elle a été provoquée dans 3 cas (117 hl), mais non enclenchée dans 2 cas (67 hl).

DISCUSSION

De l'ensemble de ces résultats se dégagent les observations suivantes :

1) La stimulation de la fermentation malolactique des vins par inoculation à l'aide de préparations industrielles de bactéries lactiques réactivées est confirmée.

2) Par rapport à un milieu à base de vin, le milieu de réactivation à base de moût de raisin fournit des populations bactériennes plus nombreuses, douées d'une activité malolactique plus importante, elles sont, en conséquence, plus efficaces pour déclencher la fermentation malolactique. dans le vin.

3) La durée optimale de la réactivation varie de 24 à 48 heures pour les préparations congelées et de 48 à 72 heures pour les préparations lyophilisées pour des ensemencements de l'ordre de 10^8 à 10^9 cellules par ml. Des ensemencements plus faibles sont insuffisants pour promouvoir une population maximale de 10^9 à 10^{10} cellules par ml. Cette concentration cellulaire dans le milieu de réactivation est indispensable pour assurer au vin une population initiale convenable 10^6 à 10^7 cellules par ml à l'aide d'une inoculation à 1 p. 1 000.

4) La plupart des préparations industrielles sont à base de *Leuconostoc oenos*. C'est effectivement parmi cette espèce que l'on rencontre les souches les plus résistantes au milieu vin. Cette espèce présente en outre la propriété de dégrader l'acide citrique et d'avoir peu d'affinité pour les sucres. *Lactobacillus hilgardii,* qui se développe mal dans les vins, possède une grande affinité pour de nombreux substrats mais ne dégrade pas l'acide citrique. Or la stabilité biologique des vins repose également sur la fermentation de cet acide (WEINZORN, 1985) ; l'intérêt œnologique de cette espèce paraît discutable.

5) D'une manière générale, les vins blancs sont moins fermentescibles que les vins rouges. Les facteurs connus, pH, teneurs en éthanol et en anhydride sulfureux ne rendent pas entièrement compte de ces différences. Celles-ci pourraient provenir de l'action inhibitrice de certains produits secondaires de la fermentation alcoolique plus abondants dans les vins blancs que dans les vins rouges.

6) La technique de stimulation de la fermentation malolactique par le procédé décrit a été expérimentée dans la pratique. En 1983, la grande fermentescibilité malolactique des vins dans le Bordelais rendait l'inoculation inutile ; les essais furent peu concluants. En 1984, les expérimentations ont été conduites dans des vins où le phénomène ne se déclenchait pas spontanément. L'échec complet affecte 5 cas sur 59, soit 8,5 p. 100. Ce résultat montre clairement l'efficacité de cette technique. Le succès de l'opération suppose une certaine viabilité des populations donc, le respect des règles œnologiques essentielles en ce qui concerne les facteurs physicochimiques (pH, température, concentration en anhydride sulfureux) qui contrôlent la fermentation malolactique.

CONCLUSION

L'inoculation des vins par des préparations industrielles de *Leuconostoc oenos* réactivées facilite la maîtrise de la fermentation malolactique. Elle

doit permettre de résoudre certains problèmes, notamment dans le cas des vins blancs.

En accélérant par cette technique le processus biochimique, on raccourcit la durée de chauffage des vins nécessaire pour maintenir la température optimale de 19-20 °C : le prix des biomasses devrait être largement compensé par les économies d'énergie. Il s'agit d'une technique améliorant la qualité des vins et susceptible de diminuer le coût de leur élaboration. A la suite de ces travaux, une demande d'autorisation d'emploi a été déposée à la Direction de la Consommation et de la Répression des Fraudes

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. POUL pour sa contribution efficace lors de la mise en place des essais réalisés durant les campagnes de vinification.

Nous sommes reconnaissants aux laboratoires suivants de nous avoir fourni les préparations nécessaires pour cette étude : Laboratoire Boehringer à Ingelheim (R.F.A.) ; Chr Hansen's Laboratorium A/S, Copenhagen (DK) ; Microlife Technics, Gewürzmüller, Stuttgart (R.F.A.) ; Setric Biologie, 31029 Toulouse ; Lacto-Labo, 86220 Dange-Saint-Romain.

Manuscrit reçu le 1er juillet 1985 ; accepté pour publication le 7 août 1985 .

RÉSUMÉ

La réactivation préalable des bactéries lactiques est indispensable avant l'inoculation des vins. Le mode opératoire est précisé : le milieu optimum est à base de jus de raisin.

Différentes préparations industrielles ont été testées au laboratoire. Celles de *Leuconostoc œnos* ont donné de bons résultats. L'une d'entre elles a été utilisée dans la pratique au cours des deux dernières campagnes de vinification. Les succès obtenus, surtout en 1984 dans des cas particulièrement difficiles montrent bien l'efficacité de ce procédé pour le déclenchement de la fermentation malolactique.

SUMMARY

The previous reactivation of lactic acid bacteria is essential before the inoculation of the wine. The method is specified; the optimium media is made with grape must.

Several industrial preparations of bacteria were tried; those constituted with *Leuconostoc oenos* gave good results. One of them was utilized in practice during the two last vinification campaigns. The success obtained, especially in 1984 in particular difficult cases give proof of the efficiency of this process to start the malolactic fermentation.

ZUSAMMENFASSUNG

Die vorrangige Reaktivierung der Milchsaüre - bakterien ist unertässlich vor der Ubertragung in die Weine. Die operative Anwendung wird genan bestimmt : das optimale Milieu ist auf der Basis des Traubensaftes.

Verschiedene industrielle Herstellungen sind im Labor getestet worden. Die *Leuconostoc œnos* naben dabei gute Ergebnisse erbracht.

Eine unter ihnen wurde in der Praxis im Laufe der letzten zwei Weinbereitungs perioden angewendet.

Die erzielten Erfolge, insbesondere in sehr schwierigen Fällen im Jahr 1984, sin Beweis für die Wirksamkeit dieses Verfahrens zur Auslösung der malolaktischen Gärung.

RESUMEN

Se dan aquí informes para provocar artificialmente la fermentación maloláctica añadiendo bacterias seleccionadas en los vinos.

Es necesario previamente activar las bacterias en un medio nutricional a base de mosto.

Entre varias preparaciones industriales probadas en el laboratorio, las de *Leuconostoc œnos* dan buenos resultados confirmados por la práctica, a veces en casos de fermentaciones muy difíciles.

RIASSUNTO

La reattivazione preliminare delle batterie lattiche é indispensabile prima dell'inoculazione dei vini. Il modo operatorio é precisato : l'ambiente ottimo é a base di sugo d'uva.

Differenti preparazioni industriali sono state testate al laboratorio. Quelle di *Leuconostoc œnos* hanno data buoni risultati. Una tra loro é stata adoperata nella pratica durante le due ultime vinificazioni. I successi ottenuti sopratutto nel 1984 in casi particularmente difficili mostrano bene l'efficacità di questo procedimento per l'inizio della fermentazione malolattica.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERGMEYER H.V., 1974. *Methods of enzymatic analysis.* Academic Press, London.

CARRE E., 1982. Recherches sur la croissance des bactéries lactiques en vinification. Desacidification biologique des vins. *Thèse de 3e cycle,* Université de Bordeaux II.

FEUILLAT M., GUILLOUX-BENATIER M. et GERBAUX V., 1985. Essais d'activation de la fermentation malolactique dans les vins. *Sciences des Aliments,* **5,** 103-122.

GNAEGI F., 1982. La désacidification des vins. *Revue suise Vitic. Arboric. Hortic,* **14,** 147-154.

LAFON-LAFOURCADE S. et JOYEUX A., 1979. Techniques simplifiées pour le dénombrement et l'identification des microorganismes vivants dans les moûts et les vins. *Connaissance Vigne Vin,* **13,** nº 4, 295-310.

LAFON-LAFOURCADE S., CARRE E., LONVAUD-FUNEL A. et RIBÉREAU-GAYON P., 1983. Induction de la fermentation malolactique des vins par inoculation d'une biomasse congelée de *L. oenos* après réactivation. *Connaissance Vigne Vin,* **17**, n° 2, 55-71.

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., RIBÉREAU-GAYON P. et SUDREAU P., 1975. *Sciences et Techniques du Vin.* Tome II. Dunod éd., Paris.

LONVAUD M., 1975. Recherches sur l'enzyme des bactéries lactiques du vin assurant la transformation du malate en lactate. *Thèse de 3e cycle,* Université de Bordeaux II.

VALADE M., MOULIN J.-Ph. et LAURENT M., 1984. Réactivation d'une biomasse de bactéries lyophilisées. Utilisation pour le déclenchement de la fermentation malolactique. *Le Vigneron Champenois,* n° 4, 183-202.

WEINZORN F., 1985. La dégradation de l'acide citrique du vin par des bactéries lactiques. Etude de la citrate lyase. *Thèse de 3e cycle,* Université de Bordeaux II.