Les phénomènes colloïdaux et l'intérêt des lies dans l'élevage des vins rouges : une nouvelle approche technologique et méthodologique.

2ème partie : Méthodes destinées aux élevages en cuves de grande capacité.

VIVAS N. [1], VIVAS DE GAULEJAC Nathalie [1], NONIER Marie-Françoise [1], NEDJMA M. [2]
(1) Tonnellerie Demptos, détaché au CESAMO (Centre d'Etude Structurale et d'Analyse des Molécules Organiques), Université Bordeaux I 351, cours de la Libération, 33405 Talence.
(2) Pascal Biotech, 68 bis boulevard Pereire, 75017 Paris.

Lors de la première partie du travail (Revue Française d'Œnologie 189 juillet/août 2001) nous avons envisagé l'étude du maintien prolongé sur lies des vins rouges en barriques et en cuves de faible capacité (50-100 hl). Mais dès lors que l'on envisage des volumes importants en cuves de grande capacité (> 100 hl), de nombreux problèmes obligent à considérer une autre manière d'examiner ce type de traitement.

D'abord en grand volume, outre les risques d'apparition d'odeurs de réduction, se pose le problème de l'homogénéisation du trouble levurien. Ensuite la méthode traditionnelle oblige un temps de contact avec les lies de plusieurs mois, pour obtenir des résultats tangibles. Il convient de rappeler que l'obtention de bons résultats, par la méthode dite traditionnelle, nécessite des températures minimales (≥ 15-17°C) pour favoriser les systèmes enzymatiques à l'origine de l'enrichissement des vins en macromolécules solubles. Enfin, pour des pH supérieurs à 3.7, les risques d'altération microbienne sont à surveiller, en particulier au travers du niveau de SO_2 libre.

Dans ces conditions, il est plus intéressant de disposer d'une méthode plus directe permettant d'apporter sous une forme déjà préautolysée une biomasse levurienne sous forme de poudre. Ainsi il paraît judicieux de disposer d'un mélange non purifié de levures mortes, ayant subi par divers procédés physiques un processus autolytique partiel. Ainsi, nous pouvons donc disposer d'une poudre qui serait en première approche le résultat plus ou moins complet d'un élevage sur lies avec enzymage. La démarche étant alors parfaitement adaptée aux grands volumes : possibilité de dosage précis, résultats obtenus rapidement, sans recours obligatoire à une homogénéisation ou un maintien à une température suffisante.

1 Les autolysats de levures

Nous présentons les travaux préliminaires réalisés en conditions modèles. Des études ultérieures devront être conduites dans la pratique pour préciser l'influence exacte de ce traitement sur la composition et la qualité des vins.

1.1- Incidence de l'ajout des lies sur le potentiel d'oxydoréduction et la couleur des vins lors d'une conservation en conditions oxydatives

Pour étudier l'impact des lies sur les phénomènes d'oxydoréduction des vins, 2 g/l de lies fraîches, prélevées après la fin de fermentation d'un moût de raisin, sont ajoutés à un vin préalablement clarifié par centrifugation (10 000 tpm, 20 mn), puis nous suivons son potentiel d'oxydoréduction. On note que le EH diminue régulièrement sur 17 jours pour atteindre un palier voisin de 160 mV pour le témoin ; le vin supplémenté en lies a un EH qui diminue sur 48 jours puis se stabilise à 20 mV en étant marqué par des notes de réduction (figure 1).

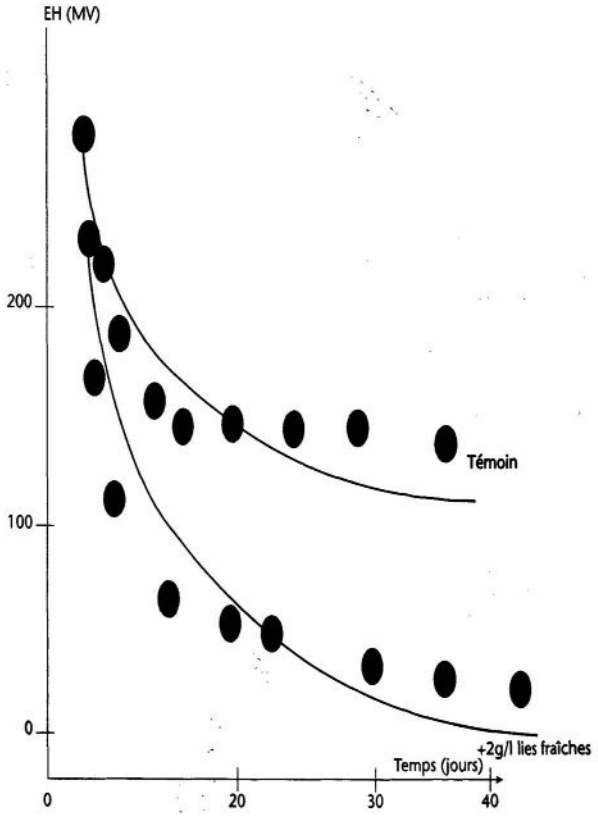

Figure 1- Incidence de la conservation de vins jeunes sur lies fraîches sur le potentiel d'oxydoréduction

Ainsi les lies agissent comme un agent de réduction puissant. On peut alors avancer leur rôle dans la régulation compétitive des réactions d'oxydation. Pour analyser le phénomène, nous divisons un vin de l'année, clarifié par centrifugation (10 000 tpm, 20 mn) en deux lots.

Un témoin conservé en l'état ; un second supplémenté avec 20 g/l de lies fraîches de levures. Après 2 mois à 15°C, on élimine les lies par centrifugation (3 000 tpm, 10 mn) et on conserve les vins 15 jours à 20°C à l'obscurité avant l'expérience, pour équilibrer le milieu.

Puis les deux lots sont aérés (8 mg/l d'oxygène à 20°C) et on suit la vitesse instantanée de consommation de l'oxygène dissous et le EH. Les résultats sont collectés dans le tableau 1.

Tableau 1- Incidence de la conservation préalable d'un vin sur lies fraîches de levures sur sa teneur en protéines solubles, sa vitesse initiale de consommation de l'oxygène dissous (Vi) et le potentiel d'oxydoréduction (EH)

	Protéines solubles (g/L)	Vi (µmole O2/L/mn)	EH (mV)		
			Avant aération	Après aération	Après 10 jours
Témoin	2.4 ±0.2	32 ±7.4	125 ±20	360 ±27	185 ±38
Après conservation sur lies	13.6 ±2.3	36 ±6.8	48 ±16	174 ±32	97 ±23

La conservation sur lies a permis d'enrichir le vin en protéines solubles d'un facteur 5,7, sans affecter la vitesse instantanée de consommation de l'oxygène dissous. Cependant, le comportement redox du vin a subi un changement significatif. Lors de l'aération, la conservation préalable sur lies permet de limiter l'élévation du EH (ΔEH = 235 mV, 126 mV respectivement pour le témoin et le vin traité). Ainsi, les phénomènes liés à la consommation de l'oxygène par les constituants du vin se déroulent pour un niveau de EH relativement bas ; limitant probablement les effets pervers des aérations brutales.

1.2- Rôle protecteur d'un autolysat de levures préparé au laboratoire, sur les composés phénoliques des vins.

Après fermentation d'un moût de raisin, nous collectons la biomasse levurienne, dispersée dans une solution hydroalcoolique et maintenue à 25°C pendant 2 mois. Les produits d'autolyse solubles libérés dans le milieu sont alors séparés des débris solides par centrifugation (5 000 tpm, 20 mn) puis concentrés à l'évaporateur rotatif. La liqueur obtenue constitue l'autolysat de levures. Pour tester l'effet protecteur de la préparation sur divers composés phénoliques, on ajoute à un milieu hydroalcoolique modèle 10 % vol. de l'autolysat contenant du cuivre (1 mg/l) et du fer (5 mg/l). Puis on suit la dégradation oxydative des molécules testées par H.P.L.C. La figure 2 rassemble les résultats les plus significatifs.

L'ajout de l'autolysat ralentit la dégradation oxydative des molécules testées (procyanidoles dimères et une anthocyanidine monoglucoside), mais le phénomène est relativement limité lorsqu'on le ramène à la durée d'élevage des vins. L'observation indirecte découlant de l'expérience est une diminution sensible du jaunissement des solutions, comme si les oxydations ne conduisaient plus vers des quinones colorées. On peut raisonnablement suggérer que l'évolution des structures, sous l'effet d'une oxydation réalisée à faible valeur du EH, est affectée. La conduite de l'oxydation d'un vin rouge en présence de l'autolysat confirme les remarques précédentes (tableau 2).

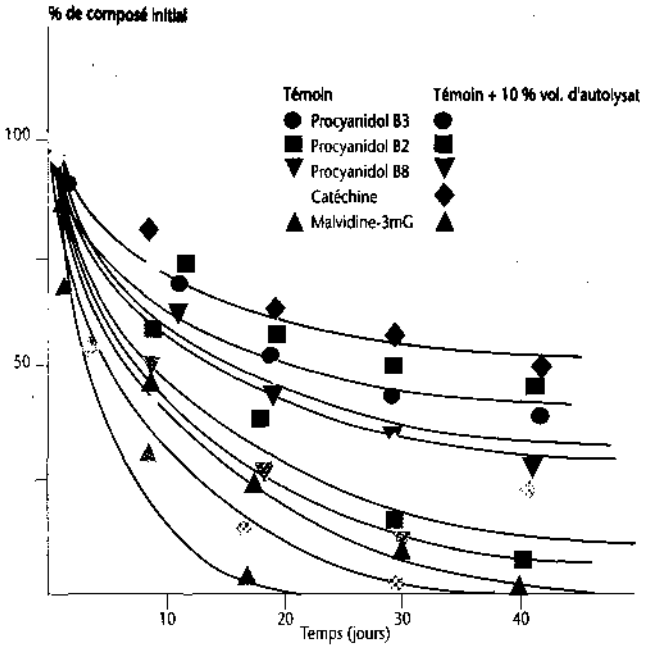

Figure 2- Influence de la supplémentation en autolysat de levures sur la dégradation oxydative de quelques composés phénoliques purifiés. Les signes clairs correspondent au milieu témoin et les foncés au milieu contenant 10 % vol. d'autolysat.

L'autolysat apporte des protéines et des polysaccharides neutres qui diminuent l'astringence des tanins mesurée par néphélométrie. En outre, l'effet de l'oxygène sur la couleur et le degré de polymérisation des tanins (Dp) est plus doux. Si on examine le cas du témoin, on note que l'oxygène a provoqué la précipitation d'une partie des composés phénoliques (dépôt au fond des flacons) expliquant l'augmentation de l'indice Dc ; pour les mêmes raisons, les tanins semblent plus astringents (pouvoir tannant). Sur la couleur, l'autolysat limite l'augmentation de la teinte. L'intensité colorante est en outre plus élevée que dans le témoin, on suppose que simultanément on cumule l'effet protecteur de l'autolysat et une stabilisation plus efficace de la couleur, par combinaison tanins-éthyl-anthocyanes, selon la voie classique d'oxydation couplée (1). Le vin évolue, mais les effets pervers d'une oxydation violente sont limités. Les constituants solubles issus du processus autolytique, parmi lesquels on compte des protéines, représentent des réducteurs puissants jouant efficacement le rôle d'antioxydants.

2 Les écorces de levures

Initialement, ce produit est largement employé comme moyen efficace de détoxification du milieu de fermentation, soit pour faciliter une fin de fermentation alcoolique languissante ou

Tableau 2- Incidence de la supplémentation en autolysat de levures sur la composition et la qualité d'un vin rouge conservé en condition oxydative (O_2) ou sous gaz inerte (N_2). (Sauf indication contraire les résultats sont en g/L)

	Vin témoin			Vin + 10% autolysat	
	t0	t2mois		t2mois	
		O_2	N_2	O_2	N_2
Proanthocyanidoles	3.4	3.2	3.5	2.8	3.1
Anthocyanidines	0.58	0.34	0.56	0.49	0.57
Intensité colorante d420 + d520 + d620	0.69	0.72	0.71	0.89	0.73
Teinte d420/d520	0.65	0.84	0.67	0.64	0.62
Protéines	1.8	1.6	1.9	2.5	2.7
Polysaccharides neutres	0.75	0.72	0.77	0.82	0.84
Degré de polymérisation (Dp, indice)	65	73	68	47	60
Réactivité des tanins sur la BSA (Rs, NTU)	129	156	114	58	62

stoppée, soit pour activer plus précocement le début des fermentations malolactiques. Mais dans quelques cas, outre ces propriétés de fixation des acides gras inhibant les processus biochimiques normaux, nous avons constaté, à la suite des travaux d'Augustin (1986) (2) , une influence sur la composition et la qualité des vins.

2.1- Suivi au laboratoire de la libération des polysaccharides

Sur différents échantillons, nous suivons la libération de polysaccharides neutres, libérés lors de la conservation à température ambiante en présence d'écorces de levures. Afin de mesurer l'effet du pH et de l'addition de préparations enzymatiques à forte activité glucanase nous réalisons une série supplémentaire de milieux : l'un ramené à pH 2.5 et 3.0 ; l'autre supplémenté avec 50 mg/L d'enzymes. Les résultats sont donnés sur la figure 3.

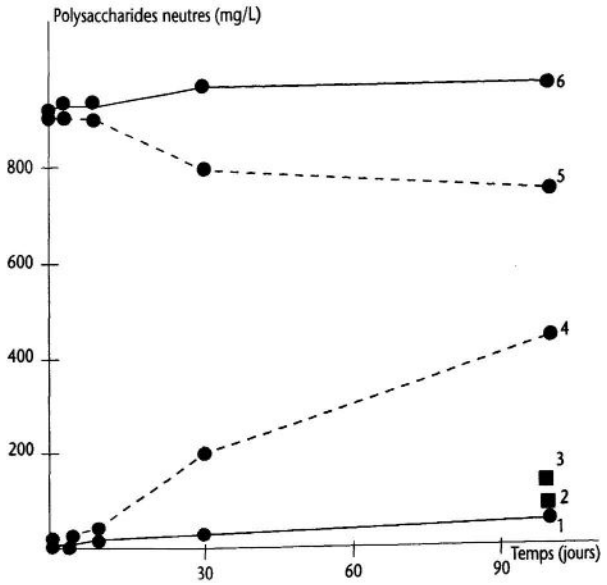

Figure 3- Incidence de diverses conditions de conservation d'un vin blanc et d'une solution hydroalcoolique modèle sur l'évolution de la teneur en polysaccharides neutres solubles.
1 : Solution hydroalcoolique modèle (12 % Vol. EtOH, pH 3.5 + 200 mg/l d'écorces de levures)
2 : 1 à pH 3.0
3 : 1 à pH 2.5
4 : 1 avec 50 mg/L de préparation enzymatique riche en activité glucanase
5 : Vins blancs + 200 mg/L d'écorces de levures
6 : 5 avec 50 mg/l de préparation enzymatique riche en activité glucanase.

Seules les préparations enzymatiques présentant des activités efficaces sur les parois des cellules de levures sont réellement susceptibles d'assurer la libération de quantités appréciables de polysaccharides. Sur des vins blancs possédant déjà des polysaccharides, l'utilisation d'écorces seules provoque une diminution des polysaccharides ; par ailleurs, la couleur semble plus pâle. Cela pouvant s'apparenter à l'effet d'un collage.

2.2- Etudes sur vins rouges (tableau 3)

Sans enzyme on note assez peu de modifications par rapport au témoin. Les différences les plus marquées sont en relation avec l'assouplissement des tanins (Rs), comme dans le cas d'un collage. En revanche, l'enzymage permet de libérer des polysaccharides améliorant encore l'assouplissement des tanins (Rs après 60 jours, respectivement de 64, 52, 45 pour le témoin, l'ajout d'écorces et l'ajout d'écorces et d'enzymes). Les dégustateurs classent en premier la dernière modalité représentant le mieux les effets d'un élevage sur lies. Il est raisonnable de penser qu'un bâtonnage augmente l'effet des enzymes.

Tableau 3- Incidence de l'ajout d'écorces de levures dans un vin rouge jeune de Merlot noir sur sa composition et sa qualité. En particulier sur les composés phénoliques. (Analyses pratiquées après 3 mois d'élevage)

	Modalités			
	Témoin		Avec lies	
	T (début d'expérience)	T (après 60 j)	EC*	EC+E**
	1	2	2	2
Analyses générales				
TAV (% vol.)	12.2	12.2	12.2	12.1
pH	3.8	3.7	3.8	3.8
Acidité volatile (g H_2SO_4/L)	0.46	0.45	0.47	0.47
SO_2 libre (mg/L)	24	19	17	16
Couleur des vins				
d420 (%)	36	37	35	35
d520 (%)	51	50	52	51
d620 (%)	13	13	13	14
Analyses des composés phénoliques				
Phénols totaux (indice)	58	54	54	55
Proanthocyanidoles (g/L)	3.5	3.1	3.3	3.3
Anthocyanes (g/L)	0.62	0.43	0.46	0.48
Dosage des macromolécules				
Polysaccharides neutres (g/L)	1.3	0.8	1.2	1.7
Protéines (g/L)	1.6	1.1	0.8	1.2
Etat des tanins et de la matière colorante				
Degré de polymérisation (Dp, indice)***	73	58	62	52
Combinaisons tanins-anthocyanes (Ca, %)	40	44	43	45
Réactivité des tanins sur la BSA (Rs, NTU)	71	64	52	45
Dégustation				
Somme des rangs (n= 19)	-	41a****	40a	27b

* Vins en barriques avec 200 mg/L d'écorces de levures
**Vins en barriques avec 200 mg/L d'écorces de levures avec 5 g/hL de préparation enzymatique
***Mesuré en utilisant un aldéhyde spécifique le diméthylaminocinnamaldéhyde
****Les lettres identiques correspondent à des résultats qui ne sont pas statistiquement différents au seuil de confiance de 5 %

3 Le rôle indirect des tanins œnologiques

Même si les tanins œnologiques ne participent pas directement à l'apport de macromolécules et aux phénomènes majeurs impliqués lors de l'élevage sur lies, ils ont une importance de premier plan. Essentiellement en agissant sur les phénomènes d'oxydoréduction, ils peuvent favoriser une évolution satisfaisante de la matière colorante et des tanins. En participant à la modification de la structure des polyphénols du vins ils agissent indirectement sur la structure colloïdale des vins.

L'adjonction de tanins proanthocyanidiques, d'ellagitanins ou de gallotanins à des vins affecte sensiblement leur composition et leur qualité, dans des délais de quelques semaines après le traitement. L'interprétation des phénomènes repose en réalité sur deux types d'actions qui dépendent de la nature des tanins employés. On a coutume de classer les tanins en deux groupes distincts :

- Les tanins condensés ou proanthocyanidiques, qui libèrent après hydrolyse acide une anthocyanidine, leur donnant leur nom spécifique. Par exemple, dans les pépins de raisins, les tanins condensés libèrent au cours de l'hydrolyse acide de la cyanidine, on les baptise alors "procyanidines". Dans les pellicules, on retrouve un mélange de procyanidines et de prodelphinidines. Lorsque l'on ne connaît pas précisément la nature de l'anthocyanidine formée, le nom général de "proanthocyanidine" est employé.
- Les tanins hydrolysables, qui libèrent après hydrolyse acide soit de l'acide gallique soit de l'acide ellagique, sont appelés respectivement gallotanins et ellagitanins.

Tableau 4- Influence d'un ajout de tanins œnologiques sur la couleur et la composition phénolique d'un vin rouge. (Supplémentation 1g/l)

	Témoin	Témoin Proanthocyanidoles	Témoin Ellagitanins	Témoin Gallotanins
Début d'expérience				
Proanthocyanidoles (g/L)	2.8	3.4	2.8	2.8
Anthocyanes (g/L)	0.8	0.8	0.8	0.8
Intensité colorante	0.9	1	1.1	0.9
Tanins condensés sous formes polymérisées (%)	15	15	15	15
Combinaisons tanins-anthocyanes (Ca, %)	17	17	17	17
Après 3 mois + oxygène[1]				
Proanthocyanidoles (g/L)	2.9	3.2	2.6	2.7
Anthocyanes (g/L)	0.6	0.4	0.5	0.5
Intensité colorante	1.1	1.4	1.7	1.6
Tanins condensés sous formes polymérisées (%)	23	28	32	30
Combinaisons tanins-anthocyanes (Ca, %)	25	38	65	67

1 Une aération tous les 15 jours (5 mg O_2/l à chaque aération)

Les tanins participent aux phénomènes d'oxydoréduction en consommant l'oxygène dissous (tableau 4), conduisant à la formation de peroxydes (R-OOH) pouvant capter les radicaux libres formés. Tous les tanins ont cette propriété ; mais l'intensité des réactions est fonction de leur structure. D'abord les formes oligomères sont plus actives que les formes plus polymérisées ; ensuite par ordre décroissant d'efficacité nous trouvons : 1° les ellagitanins > 2° les gallotanins > 3° les proanthocyanidines. Les résultats concernent la modification de la couleur, de l'état de la matière colorante, plus stable, ainsi que celle du goût souvent plus souple des tanins. Certains tanins forment divers types de combinaisons ou d'associations avec les composés phénoliques des vins, anthocyanes et proanthocyanidines en particulier. C'est essentiellement des préparations commerciales à base de ce même type de tanins. De très nombreux travaux antérieurs montrent la possibilité de combinaison via l'éthanal , produit lors de l'oxydation, entre proanthocyanidoles et même entre des proanthocyanidoles et des anthocyanes. Il en résulte principalement une stabilisation satisfaisante de la matière colorante.

4 Conclusion : Problèmes relatifs à l'interprétation des résultats.

Traditionnellement un entonnage précoce et le déroulement non maîtrisé des fermentations malolactiques en barriques représentaient un mode de valorisation des aspects colloïdaux de l'élevage. Mais à la faveur des progrès de l'œnologie, la séparation des phases biochimiques et chimiques du travail des vins a supprimé fortuitement cette étape importante de la vie du vin.

En particulier pour l'élevage en barriques des rouges, les phénomènes redox et l'aération étaient principalement favorisés. Pour les blancs, et surtout ceux vinifiés et élevés en barriques, le problème est tout autre, puisque les lies et les phénomènes autolytiques restent des moteurs principaux des transformations. Or les vins rouges, par leur richesse naturelle en composés phénoliques, sont beaucoup moins sensibles aux effets pervers des lies, comme par exemple les réductions. Réintroduire les lies et leur donner un vrai rôle dans l'évolution du vin permettent d'aller plus loin dans son évolution, la révélation de son potentiel qualitatif, lui assurant ainsi une meilleure conservation en bouteilles.

Le constat empirique de l'importance et de la fragilité de la stabilité colloïdale dans les vins est largement fait. En blanc d'abord, puisque toutes les operations drastiques visant à éliminer, volontairement ou non, dans le vin une part de ses macromolécules, conduit à une diminution progressive de ses caractères aromatiques, de sa typicité et de son ampleur.

Pour les rouges, le plus flagrant des traitements est la filtration qui, par une modification quantitative et qualitative de l'état colloïdal, assèche et amaigrit les vins. Derrière ce constat, l'oxygénation induite par la manipulation ne peut pas entièrement expliquer les phénomènes systématiquement observés. D'ailleurs, plus un vin est faible et dilué, et plus il subira durement l'effet d'une filtration. Sur le terrain nous avons été amenés à tester quelques unes des propriétés intéressantes des lies. Les travaux de laboratoire et des observations sur le terrain ont souligné les faits suivants :

• Concernant les lies fraîches : L'ajout de lies fines, et le maintien prolongé du vin sur lies en barriques, permettent de réaliser des élevages oxydatifs, tout en préservant, dans une certaine mesure, les arômes fruités du vin particulièrement sensibles à l'oxygène. L'élevage sur lies avec bâtonnage, en utilisant ou non des enzymes spécifiques, assure l'enrichissement des vins en macromolécules et permet d'en améliorer le gras et la rondeur. La réincorporation d'une partie des vins de lies dans les lots avant ou après élevage est un élément favorable au ralentissement du vieillissement des vins, retardant l'apparition de la couleur tuilée et des odeurs d'évolution et d'oxydation.

• Concernant l'utilisation des vieilles lies : Elles permettent l'élimination d'une partie du caractère de réduction, complétée avec un ou deux soutirages, le gommage des notes de champignon que l'on retrouve dans certains vins élevés dans des locaux confinés et humides. Elles corrigent également une couleur trop marquée pour certains rosés de saignée.

Mais aux cotés des lies, des auxiliaires d'élaboration des vins peuvent être employés avec succès. Ils sont généralement destinés à des vins ne pouvant pas être élevés en barriques, ou dans des fûts usagés. Ces produits (écorces de levures, autolysats, gomme arabique ou tanins) pour leur effet structurant, ont l'avantage de pouvoir décider de l'intensité des modifications apportées, du moment de l'opération et de la quantité exacte de macromolécules ajoutées. Un aspect important du sujet reste cependant à éclairer ; il s'agit du rôle réducteur (antioxydant compétitif) de la fraction protéique (protéines solubles, polypeptides, acides aminés), sur l'évolution oxydative des vins.

Mais il est souvent observé, malgré des résultats de dégustation particulièrement expressifs, que les données analytiques sont peu ou pas différentes d'un échantillon à l'autre. C'est le problème méthodologique de l'analyse qui ne permet pas de visualiser des différences présentes et perceptibles à la vue, au nez et au goût. Il est donc nécessaire de regrouper et d'adapter un certain nombre de méthodes d'analyses susceptibles de saisir les changements en relation avec la structure colloïdale et son évolution. Ces méthodes existent, pour la plupart elles doivent être regroupées et étudiées pour en tirer d'une part les variations significatives et d'autre part les règles correctes d'interprétation. Ceci fera l'objet d'un travail complet publié ultérieurement.

Remerciements :

Nous remercions la société Spindal pour la fourniture des produits de traitements nécessaires aux diverses expérimentations.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) CHAPON, L.; CHAPON, S. 1977. Mécanismes d'oxydation des bières. Comportement des substances réductrices. EBC, Amsterdam, pp. 341-354.

(2) AUGUSTIN, M. 1986. Etude de l'influence de certains facteurs sur les composés phénoliques du raisin et du vin. Thèse Université (ancien régime), Université de Bordeaux II.