



La synergie entre le SO₂ et l'éthanol est l'« ennemi » des levures au début de la seconde fermentation des vins mousseux

Bruno Cisilotto^{1,2}, Fernando Joel Scariot¹,
Luisa Vivian Schwarz¹, Ronaldo Kauê Mattos
Rocha¹, Ana Paula Longaray Delamare¹, Sergio
Echeverrigaray¹

¹ Laboratory of Enology and Applied Microbiology, Institute of Biotechnology, University of Caxias do Sul, Brazil.

² Federal Institute of Education, Science and Technology of Rio Grande do Sul (IFRS), Campus Bento Gonçalves, Brazil.

Dans notre article, nous montrons qu'à un pH couramment rencontré dans les vins de base destinés à l'élaboration de vins mousseux (c'est-à-dire un pH de 2,8-3,3), une synergie se produit entre le SO₂ ajouté comme agent de conservation et l'éthanol présent dans le vin de base. Cette synergie provoque un stress élevé chez les levures, lequel entraîne une perte importante de viabilité, qui provoque à son tour une augmentation de la durée de la phase de latence, une fermentation lente et des difficultés à terminer la prise de mousse.

Elaboration de l'hypothèse et plan expérimental

L'hypothèse selon laquelle la synergie entre le SO₂ et l'éthanol est le principal facteur de stress au début de la seconde fermentation des vins mousseux a émergé de l'observation d'une diminution de la viabilité de la population de levures, et de différences au niveau de la durée de la phase de latence dans certaines fermentations, au cours de la première semaine après l'inoculation du pied de cuve.

Comme mentionné dans l'introduction et la discussion de notre document¹, le stress causé par l'éthanol et le SO₂ est décrit dans la littérature. Il existe des calculs et des formules dans la littérature de chimie appliquée à l'œnologie qui déterminent théoriquement la fraction de SO₂ moléculaire en tenant compte de la concentration en éthanol², ainsi que des études montrant la synergie provoquée par le SO₂ et l'éthanol dans les vins « finis » contenant des levures d'altération du vin. En outre, il est recommandé que les concentrations de SO₂ libre dans les vins de base soient inférieures à 10 mg/L avant de commencer la seconde fermentation³. Cependant, nous n'avons trouvé aucun travail de recherche dans la littérature scientifique décrivant la synergie entre le SO₂ et l'éthanol et montrant le stress causé aux souches de levures couramment utilisées pour la seconde fermentation des vins mousseux.

Dans cette optique, nous avons créé un modèle fermentaire expérimental pour tester le comportement de la levure *Saccharomyces cerevisiae* EC-1118® (souche spécifiquement commercialisée pour produire des vins mousseux) dans des environnements différents. Les traitements étaient constitués d'un milieu synthétique avec i) du SO₂ ajouté, ii) de l'éthanol ajouté, iii) du SO₂ et de l'éthanol ajoutés, et iv) sans SO₂ et sans éthanol ajoutés (témoin). De cette façon, il a été possible d'évaluer et de comparer le comportement des levures dans chaque système fermentaire par le biais d'analyses avec des marqueurs de stress, des marqueurs de vitalité et de viabilité cellulaire et l'expression de gènes liés au stress causé par le SO₂.

Interprétation des résultats

Les résultats obtenus dans nos expérimentations ont montré que la synergie entre le SO₂ et l'éthanol intensifie le stress et influe sur la population de levures de manière significative, avec une diminution de la vitalité et de la viabilité, une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), une diminution du pH intracellulaire, une augmentation de la production d'acétaldéhyde, et

Synergie entre le SO₂ et l'éthanol pendant la seconde fermentation des vins mousseux

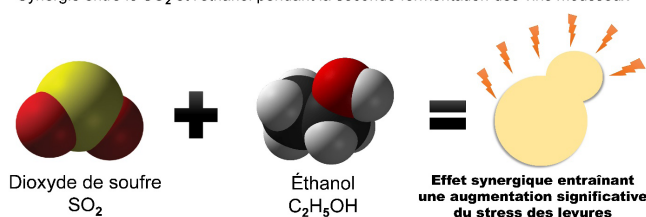


FIGURE 1. Résumé schématique informatif de l'effet synergique du SO₂ et de l'éthanol.

une augmentation de l'expression des gènes liés au stress causé par le SO₂¹. Le même effet de diminution de la vitalité et de la viabilité des levures a été observé lors d'une seconde fermentation réalisée industriellement avec du vrai vin¹. La Figure 2 illustre l'effet de chaque traitement en termes de viabilité et de cinétique de fermentation. Dans le cas présent, l'expérience a été menée à une température de 20 °C. La viabilité cellulaire a été évaluée avec un agent intercalant de l'ADN, l'iodure de propidium (IP), en utilisant la cytométrie en flux (Figure 2A) et l'évaluation des sucres réducteurs par la méthode employant l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) comme agent réducteur et un lecteur de microplaques avec une absorbance à 595 nm (Figure 2B) (pour plus d'informations, voir l'article). Les résultats de la Figure 2 montrent le comportement d'un inoculum adapté à l'éthanol dans les différents traitements, simulant le début d'une seconde fermentation. Dans les traitements avec l'ajout de SO₂ uniquement, on constate que les levures ont un comportement très similaire à celles du témoin, malgré une légère réduction de la viabilité pendant les premières heures d'adaptation. Dans le traitement avec l'éthanol seul, il n'y a pas de perte de viabilité, mais il y a une diminution de la vitesse de fermentation et de la consommation de sucres en raison de l'inhibition de la croissance de la population¹. Dans le traitement avec 5 % d'éthanol et 20 mg/L de SO₂, il est intéressant de noter que, bien que les levures aient subi une perte de viabilité légèrement plus prononcée au début et un stress plus important¹, la vitesse de la cinétique fermentaire a augmenté après 48 h, avec une augmentation du pourcentage de viabilité des levures, ce qui montre que la quantité d'éthanol joue un rôle important dans l'effet synergique. Dans les traitements avec des quantités égales ou supérieures à 10 % d'éthanol et avec une quantité initiale de SO₂ supérieure à 10 mg/L, on a constaté une nette diminution de la viabilité de la population et par

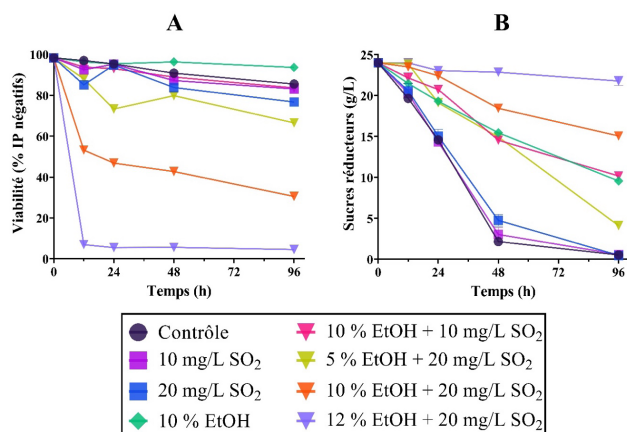


FIGURE 2. Influence de chaque traitement sur la viabilité et la cinétique de la fermentation. Adapté de Cisilotto *et al.* (2021)¹.

conséquent une réduction de la vitesse de consommation du sucre. Ceci ralentit la fermentation et peut éventuellement conduire à son arrêt.

Dernières remarques

Malgré plusieurs études visant à trouver un substitut au SO₂⁴ pour la vinification, il semble qu'il n'existe pas encore de substitut qui ait un effet aussi complet (activité antioxydante et antimicrobienne), tout en étant peu coûteux et sans danger pour la consommation humaine. Ainsi, nous continuerons probablement à utiliser le SO₂ comme conservateur du vin pendant longtemps. Cependant, dans le cas des vins de base utilisés pour les vins mousseux, qui sont des produits intermédiaires, les doses de SO₂ libre doivent être très précises et personnalisées. Pour déterminer cette dose précise, outre la concentration de SO₂ libre, et l'indice de pH, il faut tenir compte de la concentration en éthanol, de la température de stockage, de la turbidité et de la force ionique de chaque vin. La quantité de cellules de levure inoculées pour la seconde fermentation des vins mousseux joue un rôle important dans la qualité du produit ; un excès de cellules au moment de l'inoculation peut provoquer des défauts sensoriels. Plus les concentrations d'éthanol et de SO₂ libre dans le vin de base sont faibles, meilleure est l'adaptation de la levure et par conséquent

meilleure est la cinétique de fermentation ; l'excès de cellules à l'inoculation et la réduction excessive du pourcentage de cellules viables au début du processus peuvent ainsi être évités. La réalisation d'une fermentation linéaire et standardisée permet d'éviter une série de complications logistiques et de dépenses inutiles, en particulier pour les vins mousseux élaborés selon la méthode traditionnelle, dans laquelle la réinoculation du pied de cuve implique l'ouverture des bouteilles. Par conséquent, des concentrations équilibrées de SO₂ et d'éthanol minimiseront non seulement le stress des levures au début de la deuxième fermentation des vins mousseux, mais aussi le « stress » de l'œnologue chargé de conduire ce processus. ■

Article prenant sa source de l'article de recherche "Yeast stress and death caused by the synergistic effect of ethanol and SO₂ during the second fermentation of sparkling wines" (OENO One, 2021).

- 1 Cisilotto, B., Scariot, F. J., Vivian Schwarz, L., Mattos Rocha, R. K., Longaray Delamare, A. P., & Echeverrigaray, S. (2021). Yeast stress and death caused by the synergistic effect of ethanol and SO₂ during the second fermentation of sparkling wines. *OENO One*, 55(4), 49–69. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2021.55.4.4809>
- 2 Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., & Jeffery, D. W. (2016). *Understanding Wine Chemistry* (first edit). Wiley.
- 3 Alexandre, H. (2019). Yeasts and Sparkling Wine Production. In P. Romano, M. Ciani, & G. H. Fleet (Eds.), *Yeasts in the Production of Wine* (pp. 395–432). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9782-4_13
- 4 Lisanti, M. T., Blaiotta, G., Nioi, C., & Moio, L. (2019). Alternative Methods to SO₂ for Microbiological Stabilization of Wine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 455–479. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12422>