Approches sensorielle et analytique de l'arôme fruité des vins rouges : influence majeure de la souche de levures.

Marine Gammacurta^{†‡§}, Stéphanie Marchand^{†‡}, Virginie Moine[§], Gilles de Revel^{†‡}

[†]Université de Bordeaux, ISVV, EA 4577, Unité de recherche Œnologie, F-33882 Villenave d'Ornon, France.

[‡]INRA, ISVV, USC 1366 Œnologie, 33882 Villenave d'Ornon, France. [§]BIOLAFFORT, 126 quai de la Souys, F-33100 Bordeaux, France.

Introduction

La typicité se définit comme la propriété d'appartenance à un type distingué et identifié par un groupe humain de référence (Casabianca *et al.*, 2005). Ainsi, il est depuis longtemps observé de façon empirique l'existence d'une expression fruitée des vins rouges, et, de façon plus spécifique aux vins de Bordeaux, de notes évoquant les fruits rouges et noirs comme la framboise, la cerise ou encore le cassis. Récemment, l'existence d'un espace sensoriel propre à ces vins a été démontrée (Pineau, 2007). Ces notes fruitées, non détectées dans le moût, sont révélées au cours des différentes étapes de vinification et d'élaboration des vins. Les fermentations alcoolique et malolactique constituent des étapes clés dans la libération ou la genèse des arômes du vin. Plusieurs travaux ont tenté de déterminer l'influence des souches de levures ou de bactéries lactiques (BL) sur la modulation organoleptique du vin sans qu'aucun consensus ne puisse encore être établi (Álvarez-Pérez *et al.*, 2012; McDaniel *et al.*, 1987; Henick-Kling *et al.*, 1994; Antalick *et al.*, 2012).

L'interprétation moléculaire de cette spécificité des vins rouges de Bordeaux est rendue difficile par le manque de connaissances sur les composés aromatiques responsables de ces nuances. Depuis plusieurs décennies, de nombreux travaux se sont attachés à la caractérisation moléculaire des composés volatils du vin. Les premières études réalisées sur des vins blancs ont permis de faire l'association entre certains arômes caractéristiques et une ou plusieurs molécules d'intérêt (Marais, 1983 ; Tominaga et al., 1998). De nombreux auteurs ont abordé l'étude de l'arôme fruité des vins rouges en tentant d'identifier les composés aromatiques clés responsables de ces odeurs (Moio et Etievant, 1995 ; Kotseridis et Baumes, 2000 ; Campo et al., 2007 ; Siebert et al., 2008). S'il n'a pas encore été possible d'identifier des molécules spécifiques, expliquant à elles seules la typicité de l'arôme fruité, l'existence de tels composés ne peut pour autant être définitivement exclue. Néanmoins, plusieurs travaux

récents ont démontré l'importance des interactions perceptives entre plusieurs familles d'odorants tels que des composés d'origine variétale comme les norisoprénoïdes à 13 atomes de carbone (Pineau *et al.*, 2007), les lactones (Loscos *et al.*, 2007) ou les thiols (Tominaga *et al.*, 1998), ou des composés fermentaires comme les esters (Lytra *et al.*, 2012). Par ailleurs, plusieurs études ont visé à déterminer l'impact de microorganismes fermentaires sur la modulation des teneurs en divers marqueurs potentiels de l'arôme fruité. Là encore, aucun consensus n'a pu réellement être mis en évidence. La variation de la note fruitée des vins rouges semble impliquer des phénomènes plus complexes qu'un simple effet souche, et pourrait résulter d'effets liés aux propriétés de la matrice, combinés à l'influence de la souche de levures et/ou de la souche de BL.

Au vu de ces dernières acquisitions, nous avons choisi, dans le cadre de ce travail, d'étudier l'impact organoleptique relatif des levures et des BL sur les nuances de l'arôme fruité de plusieurs vins rouges bordelais.

Une approche par l'analyse chimique et sensorielle de vins produits dans des conditions de fermentation classique ou de micro-vinification a été effectuée pour trois sites en bordelais sur deux millésimes. Il a été choisi de travailler sur le Cabernet Sauvignon. Plusieurs couples levures/BL ont été sélectionnés et implantés dans des cuves de quelques hectolitres à plusieurs dizaines d'hectolitres.

Vins expérimentaux

Au cours des millésimes 2011 et 2012, deux plans expérimentaux complets en microvinifications ont été mis en place dans le chai d'application de la société Biolaffort (WEC 11 et WEC 12) dans les Graves de Vayres (Tableau 1). Toutes les combinaisons de couples levures/BL ont été testées en triplicat (3 souches de levures *Saccharomyces cerevisiae*: 522Davis notée YSTA, Zymaflore FX10® notée YSTB (Laffort, Floirac, France) et YSTC) et 2 souches de BL *Oenococcus oeni*: 450 PreAc® notée LB1 et B28 PreAc® notée LB2 (Laffort, Floirac, France)). Un troisième plan expérimental a également été mis en place dans un château de la région bordelaise, à Pessac-Léognan (PL 12) afin de pouvoir observer l'influence relative des levures et BL dans des conditions réelles de vinification (2 souches de levures : YSTA et YSTB et 2 souches de BL : LB1 et LB2). Pour ces trois expérimentations, des prélèvements réguliers (fin FA, fin FML et après 3, 6 et 12 mois d'élevage) ont été réalisés en vue d'analyses chimiques et sensorielles.

Tableau 1. Vin expérimentaux réalisés au cours des millésimes 2011 et 2012.

Vins	TAV (% v/v)	рН	Acidité volatile (g/L ac. acétique)	SO ₂ libre (mg/L)	SO ₂ total (mg/L)
WEC 11	13,1 - 13,2	3,6 - 3,7	0,1 - 0,3	17 - 33	26 - 51
WEC 12	12 - 12,1	3,8 - 3,9	0,3 - 0,5	16 - 25	49 - 62
PL 12	13 - 13,1	3,6 - 3,7	0,2 - 0,3	15 - 23	52 - 63

I. Influence des microorganismes fermentaires sur la modulation de l'arôme fruité

Les différentes analyses sensorielles ont été réalisées à partir des vins de microvinification du WEC sur les millésimes 2011 et 2012 (WEC 11, WEC 12) ainsi qu'à partir des vins vinifiés sur grand volume durant le millésime 2012 (PL 12), après 3 et 12 mois d'élevage. Elles ont toutes porté sur les perceptions orthonasale et gustative.

Toutes les séances d'analyse sensorielle ont été effectuées dans la salle de dégustation du laboratoire de recherche de l'ISVV qui répond à la norme NF EN ISO : 2010. Les juges, membres des différentes unités de recherche de l'ISVV ou de la société Biolaffort, ont été choisis pour leur expérience dans l'analyse sensorielle et peuvent donc être considérés comme expérimentés.

I.1. Caractérisation globale analysée par la méthode du Napping®

La méthode du Napping® couplée au Profil Ultra-Flash (Perrin et Pagès, 2009) a été utilisée pour caractériser de façon globale les vins réalisés en micro-vinification au WEC pendant le millésime 2011. Il s'agit pour les juges de construire leur propre représentation graphique basée sur les dimensions sensorielles qui leur semblent importantes. Les résultats sont traités par une analyse factorielle multiple.

Ces premières observations montrent que les vins sont principalement discriminés selon la souche de levures utilisées pour réaliser la FA (Figure 1). En effet, les modalités "YSTB" et dans une moindre mesure "YSTC" semblent associées aux descripteurs fruités très utilisés par le panel ("fruité", "fruits confiturés", "fruits rouges", "arômes fermentaires"). Au contraire, les deux modalités "YSTA" seraient plutôt liées à des notes connues pour masquer l'arôme fruité telle que "végétal".

L'influence de la souche de BL sur les caractéristiques sensorielles est également mise en évidence. Elle semble surtout liée au descripteur "fumé/grillé" dans les vins après 3 mois d'élevage. Cependant, la perception d'un effet "bactéries" par les dégustateurs semble moins net et plus difficile à caractériser après plusieurs mois de vieillissement.

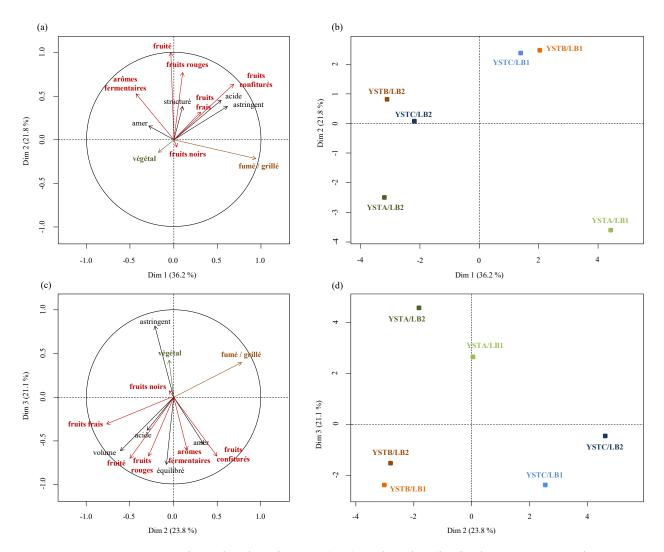


Figure 1. Représentations des descripteurs (a, c) et des vins (b, d) obtenues grâce à la méthode du Napping® couplé au Profil Ultra-Flash à partir des vins WEC 11 après 3 mois (a, b; axes 1-2) et 12 mois (c, d; axes 2-3) d'élevage.

I.2. Confirmation du rôle essentiel de la souche de levures par un test de classement

Afin de confirmer les tendances globales dégagées grâce au Napping®, un test quantitatif a été utilisé afin d'évaluer les vins WEC 12 et PL 12. Les différentes modalités ont

été proposées à un panel de dégustateurs sous forme d'un test de classement par rangs, selon l'intensité de la note fruitée. L'interprétation statistique fait appel au test de Friedman (Figure 2).

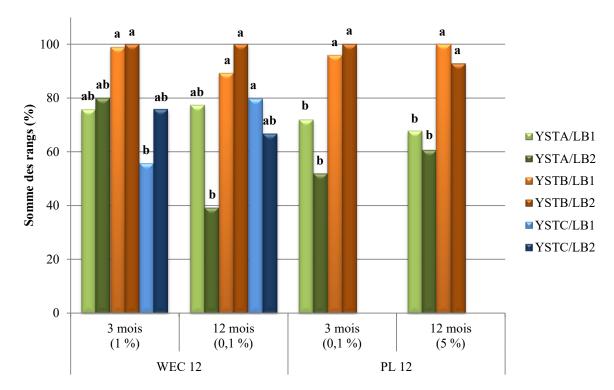


Figure 2. Résultats du test de classement par rangs interprétés par le test de Friedman (entre parenthèses : signification de l'épreuve de classement).

Pour les quatre expérimentations, le test est significatif. Ces résultats traduisent la capacité des dégustateurs à distinguer et hiérarchiser de façon significative les vins dégustés en fonction de leur note fruitée. Les modalités fermentées par la levure YSTB ont été perçues comme plus fruitées que celles fermentées par les levures YSTA ou YSTC après 3 mois comme après 12 mois d'élevage. De façon générale, ces résultats confirment les observations dégagées grâce au Napping® et montrent que la souche de levures, davantage que la souche de bactéries, influence l'arôme fruité des vins rouges.

II. Prédominance de la souche de levures sur la concentration des esters au cours de la vinification et de l'élevage

Le vin est une matrice complexe, composée de centaines de molécules volatiles et non volatiles potentiellement impliquées dans la modulation de l'arôme fruité. Les esters sont, après les alcools supérieurs, les principaux composés volatils en masse du vin. Ils constituent la première source de molécules modulant l'arôme fruité. Ainsi, le dosage de 32 esters par une méthode développée et validée au laboratoire (Antalick *et al.*, 2010) a été réalisé dans les différents vins à plusieurs temps de prélèvement. Les concentrations totales en esters retrouvées dans les vins WEC 11, WEC 12 et PL 12 après FA ainsi qu'après 12 mois d'élevage sont représentées dans la figure 3. Les données ont été traitées par une analyse de variance à deux facteurs (levures / bactéries / levures x bactéries).

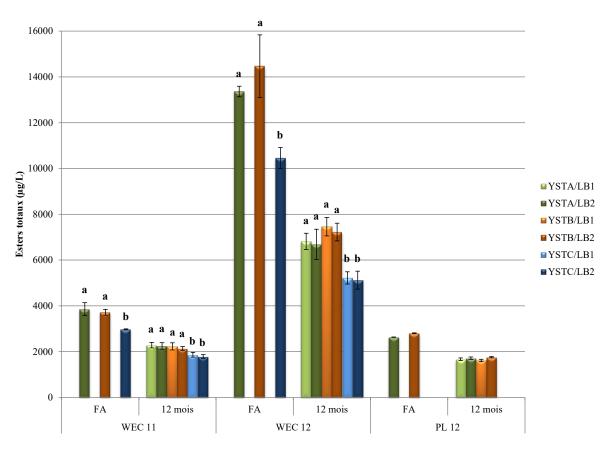


Figure 3. Teneurs moyennes en esters totaux (exprimées en μg/L) ± intervalle de confiance à 5 % entre les réplicats observées dans les différents vins après FA et 12 mois d'élevage en fonction des souches de levures et de BL utilisées. (a et b : test *post hoc* de Duncan quand P<0,05)

Les résultats montrent l'influence majeure de la souche de levures sur la concentration des composés de cette famille chimique. A la fin de la FA, des écarts de concentration

significatifs ont été mis en évidence entre les modalités fermentées par différentes levures au WEC 11 et WEC 12. Pour les deux millésimes, les levures YSTA et YSTB ont en effet synthétisées significativement plus d'esters que la souche YSTC. Malgré une deuxième fermentation et plusieurs mois d'élevage, le même effet "levures" a été observé à la fin de l'expérimentation, quel que soit l'ester considéré. Peu de différences entre les souches YSTA et YSTB ont été observées dans les vins PL 12, confirmant les résultats obtenus dans les deux autres expérimentations. Aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les deux souches de BL testées. De plus, nous n'avons pas pu montrer la pertinence du couple levure/BL sur cette famille de composés. Un effet "matrice" a bien été observé sur les concentrations absolues en ester, néanmoins, celle-ci ne semble pas avoir affecté l'influence de la levure sur la concentration en esters puisque le même impact de la souche de levures a été observé, quelle que soit la matrice utilisée. Ces résultats démontrent la pertinence et la permanence de l'effet "levures" sur cette famille chimique.

Cependant, les trente-deux esters dosés ici ne permettent pas, à eux seuls, d'expliquer les différences sensorielles perçues par le panel entre deux modalités. Ces résultats suggèrent l'existence dans les vins rouges d'autres composés volatils capables de moduler l'arôme fruité.

Conclusion

L'étude de l'influence de différents couples levures/BL sur la modulation de l'arôme fruité, associant analyses sensorielles et chimiques, a permis de mettre en évidence le rôle prépondérant de la souche de levures.

Ces travaux montrent un effet "levures" statistiquement significatif, pour la première fois dans les vins rouges de Bordeaux d'un point de vu sensoriel, quel que soit le test considéré. Comme pour la concentration en esters, cet effet, observable après 3 mois d'élevage, persiste au cours du temps et reste perceptible après 12 mois. L'influence de la souche de BL sur la modulation de la note fruitée ou de la concentration en esters semble très limitée par rapport à celle de la levure. Néanmoins, des travaux sont en cours pour observer plus finement le rôle de la FML sur cette famille de composés. Quant à l'effet du couple, il n'a finalement jamais été confirmé dans cette étude. La modulation de l'arôme fruité constitue depuis de nombreuses années un critère de premier ordre dans la sélection des souches de levures utilisées pour la vinification en blanc. La pertinence de ces résultats pourrait permettre de poser les premières pierres d'une approche similaire appliquée aux vins rouges.

La méthode du Napping®

Le Napping® ou Projective Mapping a été développé dans les années 90 afin d'obtenir une mesure de la perception globale (Risvik *et al.*, 1994 ; Risvik *et al.*, 1997). Des différences significatives peuvent être observées pour certains critères avec des méthodes classiques comme le profil mais ne pas être mises en évidence avec le Napping® car l'importance de ces critères dans la perception globale est limitée. Il permet également de mettre en évidence des différences entre les produits qui peuvent être difficilement verbalisables par le panel en raison du caractère plus libre et intuitif de cette méthode.

Il s'agit pour les juges de réaliser une carte en deux dimensions en fonction des ressemblances et dissemblances entre les produits. Dans la pratique, l'ensemble des produits est présenté simultanément aux panélistes qui doivent les disposer sur une feuille de papier (nappe) de sorte que deux échantillons perçus comme semblables, selon leurs propres critères, seront proches l'un de l'autre spatialement. Au contraire, deux produits perçus comme différents seront éloignés sur la feuille. Les coordonnées x et y des produits sur la feuille constituent les données. Le Napping® peut être associé à la méthode dite du Profil Ultra-Flash afin d'obtenir des informations sur les critères de positionnement des produits : après avoir positionné les échantillons, il est alors demandé aux juges d'ajouter des descripteurs caractéristiques du produit ou groupe de produits.

Bibliographie

- Álvarez-Pérez, J.M., E. Campo, F. San-Juan, J.J.R. Coque, V. Ferreira, and P. Hernández-Orte. 2012. "Sensory and Chemical Characterisation of the Aroma of Prieto Picudo Rosé Wines: The Differential Role of Autochthonous Yeast Strains on Aroma Profiles." *Food Chemistry* 133 (2): 284–92.
- Antalick, G., M.C. Perello, and G. de Revel. 2010. "Development, Validation and Application of a Specific Method for the Quantitative Determination of Wine Esters by Headspace-Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography—mass Spectrometry." *Food Chemistry* 121 (4): 1236–45.
- Antalick, G., M.C. Perello, and G. de Revel. 2012. "Characterization of Fruity Aroma Modifications in Red Wines during Malolactic Fermentation." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (50): 12371–83.
- Campo, E., J. Cacho, and V. Ferreira. 2007. "Solid Phase Extraction, Multidimensional Gas Chromatography Mass Spectrometry Determination of Four Novel Aroma Powerful Ethyl Esters. Assessment of Their Occurrence and Importance in Wine and Other Alcoholic Beverages." *Journal of Chromatography A* 1140 (1-2): 180–88.
- Casabianca, F., B. Sylvander, Y. Noel, C. Beranger, J.B. Coulon, and F. Roncin. 2005. "Terroir et Typicité: Deux Concepts Clés Des Appellations D'origine Contrôlée, Essai de Définitions Scientifiques et Opérationnelles." In *Colloque International de* restitution des travaux de recherches sur les indications et appellations d'origine géographiques, 199–213. Paris, France: I- INAO.
- Henick-Kling, T., T.E. Acree, L.A. Krieger, M.H. Laurent, and W.D. Edinger. 1994. "Modification of Wine Flavor by Malolactic Fermentation." *Wine East* 4: 8–15.
- Kotseridis, Y., and R. Baumes. 2000. "Identification of Impact Odorants in Bordeaux Red Grape Juice, in the Commercial Yeast Used for Its Fermentation, and in the Produced Wine." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (2): 400–406.
- Loscos, N., P. Hernandez-Orte, J. Cacho, and V. Ferreira. 2007. "Release and Formation of Varietal Aroma Compounds during Alcoholic Fermentation from Nonfloral Grape Odorless Flavor Precursors Fractions." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (16): 6674–84.
- Lytra, G., S. Tempere, G. de Revel, and J.C. Barbe. 2012. "Impact of Perceptive Interactions on Red Wine Fruity Aroma." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (50): 12260–69.
- Marais, J. 1983. "Terpenes in the Aroma of Grapes and Wines: A Review." South African Journal of Enology and Viticulture 42: 49–60.
- McDaniel, M., L.A. Henderson, B.T. Watson, and D. Heatherbell. 1987. "Sensory Panel Training and Screening for Descriptive Analysis of the Aroma of Pinot Noir Wine Fermented by Several Strains of Malolactic Bacteria." *Journal of Sensory Studies* 2 (3): 149–67.
- Moio, L., and P.X. Etievant. 1995. "Ethyl Anthranilate, Ethyl Cinnamate, 2,3-Dihydrocinnamate, and Methyl Anthranilate: Four Important Odorants Identified in Pinot Noir Wines of Burgundy." *American Journal of Enology and Viticulture* 46 (3): 392–98.
- Perrin, L., and J. Pagès. 2009. "Construction of a Product Space from the Ultra-Flash Profiling Method: Application to 10 Red Wines from the Loire Valley." *Journal of Sensory Studies* 24 (3): 372–95.

- Pineau, B. 2007. "Contribution À L'étude de L'arôme Fruité Spécifique Des Vins Rouges de *Vitis Vinifera* L. Cv. Merlot Noir et Cabernet-Sauvignon." *Thèse pour le doctorat de l'Université de Bordeaux 2*.
- Pineau, B., J.C. Barbe, C. Van Leeuwen, and D. Dubourdieu. 2007. "Which Impact for B-Damascenone on Red Wines Aroma?" *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (10): 4103–8.
- Risvik, E., J.A. McEwan, J.S. Colwill, R. Rogers, and D.H. Lyon. 1994. "Projective Mapping: A Tool for Sensory Analysis and Consumer Research." *Food Quality and Preference* 5 (4): 263–69.
- Risvik, E., J.A. McEwan, and M. Rødbotten. 1997. "Evaluation of Sensory Profiling and Projective Mapping Data." *Food Quality and Preference* 8 (1): 63–71.
- Siebert, T.E., C. Wood, G.M. Elsey, and A.P. Pollnitz. 2008. "Determination of Rotundone, the Pepper Aroma Impact Compound, in Grapes and Wine." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (10): 3745–48.
- Tominaga, T., A. Furrer, R. Henry, and D. Dubourdieu. 1998. "Identification of New Volatile Thiols in the Aroma of *Vitis Vinifera* L. Var. Sauvignon Blanc Wines." *Flavour and Fragrance Journal* 13 (3): 159–62.