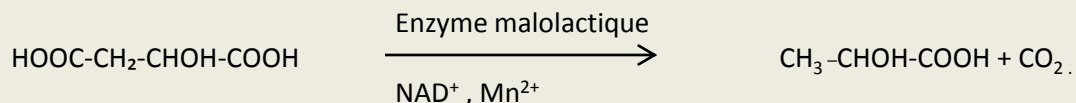


1- Généralité

La fermentation malolactique (FML) est la transformation de l'acide L-malique en acide L-lactique avec dégagement de CO₂. Cette transformation est réalisée par les bactéries lactiques.



On retrouve dans le vin en fin de fermentation plusieurs espèces de bactéries lactiques : en majorité *Oenococcus oeni* (figure 1), puis en faible proportion *Lactobacillus plantarum* (figure 2), *Lactobacillus hildardii* et *Pédococcus parvulus*. La littérature fait surtout référence à *Oenococcus oeni* pour la réalisation de la FML car c'est la bactérie la mieux adaptée au milieu hostile du vin.

Depuis quelques années des souches de *Lactobacillus plantarum* sont toutefois utilisées pour effectuer la FML pendant la fermentation alcoolique (voir co-inoculation)



Figure 1 : *Oenococcus oeni* au microscope électronique (source Internet)



Figure 2 : *Lactobacillus plantarum* au microscope électronique (source Internet)

2- Conséquences de la FML sur les vins

L'acide malique étant un acide plus fort que l'acide lactique, les conséquences de la FML seront donc :

- une baisse de l'acidité totale (une baisse de 1 g/L de la teneur en acide malique fait baisser l'acidité totale de 0.4 g/L exprimée en H_2SO_4 ;
- une augmentation du pH (augmente de 5% à 10%);
- une sensation moindre d'acidité en dégustation (l'acide malique à une saveur verte comparable à celle de la pomme granny, l'acide lactique à une saveur plus suave).

L'acide malique n'est pas le seul substrat dégradé par les bactéries. La dégradation de l'acide citrique (figure 3) aboutit soit à la production d'acidité volatile, soit de composés acétoïniques : (diacétyle , acétoïne, 2-3butanediol) soit de lipides. En conditions favorables de croissance, les bactéries se développent rapidement, elles ont une forte exigence en lipides et donc la voie de dégradation de l'acide citrique sert principalement à l'approvisionnement en lipides. Inversement en conditions de croissance limitantes, les bactéries vont utiliser l'acide citrique principalement pour produire des composés acétoïniques dont le plus connu, le diacétyle, est responsable des odeurs beurrées.

Plus la FML est languissante plus il se forme de diacétyle. Après la fermentation malolactique sa concentration est très variable, de 2 à 10 mg/L et parfois plus. On considère que la teneur en diacétyle ne doit pas excéder 5 à 6 mg/L dans les vins. En deçà de cette valeur on peut considérer qu'il participe au bouquet du vin, au delà il devient préjudiciable.

Certaines souches de bactéries lactiques produisent des amines biogènes, qui peuvent masquer les arômes, problème évitable par l'utilisation de souches sélectionnées. Ce phénomène est cependant assez peu fréquent.

Elles peuvent aussi synthétiser, à partir d'acides aminés (lysine et ornithine) et de sucres, des molécules de la famille des tétrahydropyridines à l'origine du goût de souris. Des études sont en cours pour mieux cerner les conditions qui favoriseraient l'apparition de ce défaut.

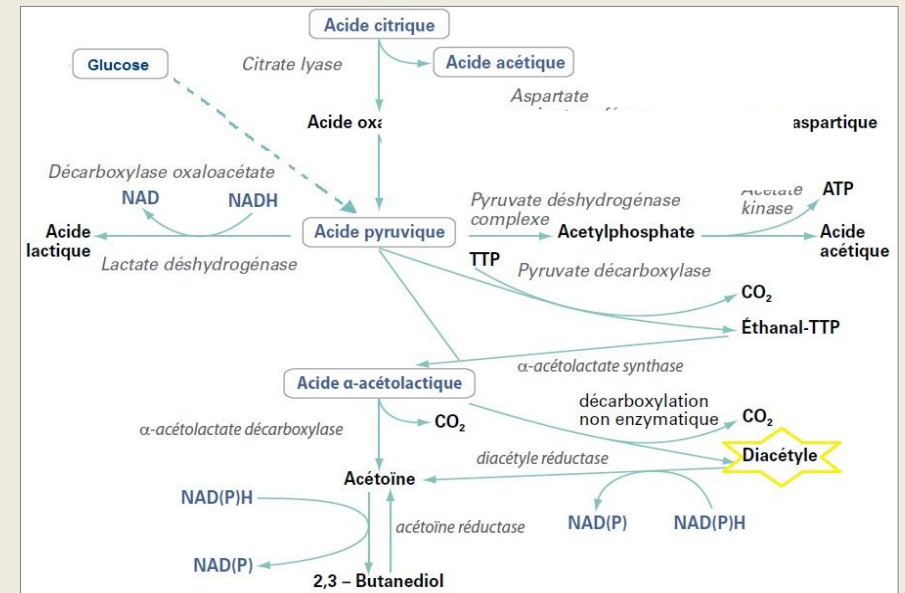


Figure 3 : Schéma des voies métaboliques de la dégradation de l'acide citrique par les bactéries lactiques

3- Paramètres influençant le démarrage et l'accomplissement de la FML

Trois paramètres primordiaux étroitement liés ont été identifiés comme jouant un rôle vital pour le démarrage et l'accomplissement d'une fermentation malolactique rapide :

- les paramètres physico-chimiques du vin (SO_2 , température, pH, et concentration en éthanol);
- une population bactérienne suffisante (il faut environ 10^6 cellules/ml);
- l' adaptation des bactéries au milieu vin.

Les cellules bactériennes doivent s'adapter à la température, au SO_2 , au pH, à la concentration en éthanol et en acide malique du vin avant de pouvoir commencer la fermentation malolactique. Ces facteurs doivent être dans les limites physiologiques acceptées par la souche bactérienne (voir tableau 1).

Tableau 1 :

Incidence de quelques paramètres physico-chimiques sur le déroulement de la FML		
Vin moins favorable à la FML	Paramètres	Vin plus favorable à la FML
↗ (> 13% vol)	Degré alcoolique	↘
↘ (< 3.30)	pH	↗
↘ (< 18°C)	Température	↗
↗ (> 50 mg/L)	Teneur en SO_2	↘
<1 g/L et >5 g/L	Acide malique	Entre 1 et 3 g/L

Une concentration élevée en acides gras à chaînes moyennes (C10, C12, et parfois C18) et en composés phénoliques peuvent également présenter un caractère limitant pour le développement des bactéries.

Il est important de rappeler que les effets des facteurs négatifs se cumulent entre eux.

3- Paramètres influençant le démarrage et l'accomplissement de la FML (suite)

Certaines techniques de vinification peuvent également avoir une incidence sur le bon déroulement de la FML, par exemple :

Tableau 2 :

Incidences de quelques techniques œnologiques sur le déroulement de la FML	
Techniques défavorables	Techniques favorables
Utilisation de levures productrices de SO ₂	Macération carbonique
Sulfitage*	Macération pelliculaire en blanc
Élevage des vins en caves froides	Utilisation de levures démaliquantes
Acidification* des moûts ou des vins	Désacidification* des moûts ou des vins
Macération pré fermentaire à Chaud (MPC)	

* Pratique à réaliser dans le respect de la réglementation en vigueur.

4- Comment assurer le bon déroulement de la FML?

Schématiquement, l'évolution de la population bactérienne dans un vin non ensemencé est la suivante (figure 4).

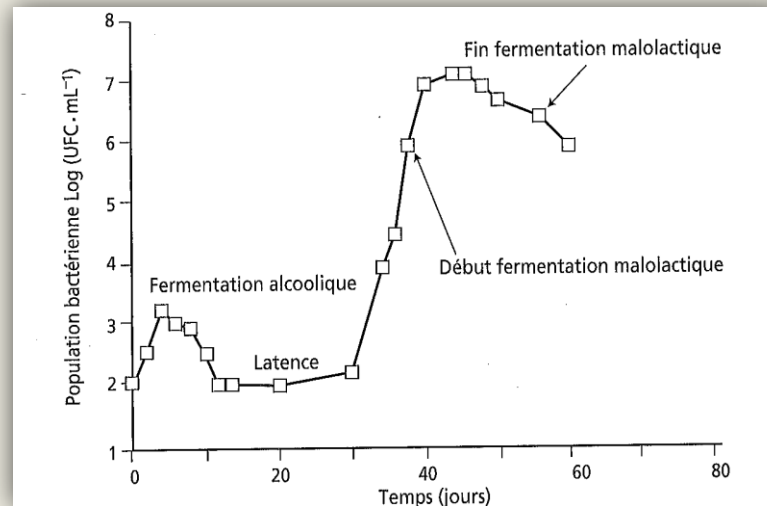


Figure 4 : Evolution de la population bactérienne durant les fermentations (traité d'œnologie –tome 1 ed 1998)

La population bactérienne augmente légèrement au début de la fermentation alcoolique (FA), mais reste en concentration insuffisante pour le déclenchement de la FML.

A la fin de la FA, la population de bactéries avoisine les 10² cellules /ml. Cette phase de latence entre FA et FML est plus ou moins longue suivant les vins (voir paragraphe précédent). Il faut que le niveau de population atteigne 10⁶ cellules /ml pour que la FML débute.

Si la phase de latence perdure, alors la place est libre dans le milieu pour des microorganismes indésirables tels que les levures *Brettanomyces* (peu affectées par le sulfitage initiale et la compétition liée à la FA).

Par conséquent, si la FML ne démarre pas dans les 15 jours suivants la FA, il faut se poser la question sur les risques encourus, notamment par rapport aux microorganismes contaminants.

4- Comment assurer le bon déroulement de la FML? (suite)

Le vinificateur doit agir pour favoriser la bonne succession des populations et un temps de latence le plus court possible entre les deux fermentations.

➤ **Tout d'abord la maîtrise de la FML commence par une bonne estimation de la qualité de la vendange.**

Dans le cas de vendanges altérées, pour diminuer les risques liés aux microorganismes de contamination, l'une des solutions est d'augmenter la dose de SO_2 (à l'encuvage pour les rouges et au débourage pour les blancs et rosés). Ceci entraîne une forte diminution de la population bactérienne qui peut être un facteur limitant par la suite (Si dose SO_2 total >50 mg/L après FA).

Le niveau de maturité aura également son importance (pH, TAV, teneur en acide malique).

➤ **Limiter les doses de SO_2**

Dans le cas de sulfitages modérés sur moût (5 à 6 g/HL), le déclenchement de la FML ne pose pas particulièrement de problème si les autres facteurs sont favorables. Dans des conditions optimales, à 20°C , il faut 3 jours pour que la population bactérienne soit multipliée par 10. Sachant que le SO_2 initial réduit d'un facteur 100 la population, il y aura donc environ une semaine de latence en plus, en l'absence d'inoculation.

Il faut donc être attentif au SO_2 apporté sur le vendange.

➤ **Maîtriser la température**

La fourchette idéale se situe entre 18°C et 22°C .

Il est important que la température soit constante et homogène pour l'ensemble du volume, tout au long de la FML.

➤ **Apporter des corrections pour que le vin soit plus favorable à la FML**

Désacidifier pour ramener le pH à un niveau plus favorable (en respectant la réglementation bien sûr)

Ajout d'écorces de levures pour amoindrir l'effet inhibiteur des acides gras à moyennes chaînes (à réaliser au moins 24 heures avant dans le cas d'un ensemencement en bactéries sélectionnées)

Ajout de nutriments spécifiques de la FML après avoir vérifié les autres facteurs d'inhibition.

➤ **Ensemencer avec des bactéries sélectionnées.**

Avant d'ensemencer une cuve en bactéries lactiques, il conviendra de s'assurer que les conditions sont réunies pour une FML réussie : l'ensemencement n'est pas une assurance tous risques. Ensemencer est avant tout un acte tactique d'occupation du terrain par un microorganisme connu et maîtrisable qui limite les possibilités de microorganismes indésirables. Les différentes souches du commerce et leurs utilisations sont développées dans le paragraphe suivant.

5- Les différentes sortes de bactéries du commerce et leurs applications

Il existe différents processus d'obtention des bactéries lactiques en usine. Une même souche de bactéries peut exister sous plusieurs formes.

➤ Les bactéries à ensemencement direct

Elles sont lyophilisées (type **Vitalactic F, Expertise Viva...**) et conservées au congélateur à -18°C . Il existe des formes non lyophilisées congelées à -50°C . Ces bactéries sont les plus simples à utiliser : il suffit de les incorporer au vin (après une éventuelle réhydratation pour les formes lyophilisées). Les fournisseurs garantissent un niveau de population seuil pour le déclenchement de la FML dans les conditions les plus favorables.

➤ Les bactéries pré acclimatées (type **Vitalactic H+ , expertise extrême..**)

Elles sont commercialisées avec un activateur spécifique (non autorisé en Bio). Elles sont préparées dans un mélange d'eau non chlorée et de vin à 20°C , puis inoculées dans le vin après 12 à 18 heures selon la teneur initiale en acide malique

➤ Les bactéries dites « standards » (type **Vitalactic Starter BL01**):

Leur mise en œuvre est longue (plusieurs jours) et assez lourde, cependant elles sont conseillées dans les conditions difficiles ou en cas d'arrêt de FML. Elles doivent être réhydratées dans de l'eau non chlorée, puis réactivées dans un mélange eau/vin, et doivent ensuite se multiplier dans un pied de cuve avant inoculation.

La mise en œuvre des bactéries lactiques du commerce peut se faire de différentes manières suivant les impératifs de production et les types de vin souhaités , soit par co-inoculation , soit par inoculation séquentielle.

➤ La co-inoculation

La co-inoculation consiste à ensemercer le milieu à la fois en levures et en bactéries afin d'éviter un temps de latence trop long entre FA et FML. Ceci permet notamment de diminuer le risque microbiologique (*Brettanomyces*), de diminuer les coûts (moins de chauffage) et d'assurer une mise en marché précoce. Il peut être nécessaire d'ajouter des nutriments spécifiques de la FML après avoir vérifié les autres facteurs d'inhibition.

Il existe plusieurs types de co-inoculation.

-La co-inoculation précoce :

Les bactéries sont inoculées 24 heures après le début de la FA (délai qui peut augmenter avec le niveau initial de sulfite : $<5 \text{ g/hl}$: 24 h – de $5 \text{ à } 8 \text{ g/hl}$: 48 h - $>8 \text{ g/hl}$ 72 h). La FML démarre alors que le FA n'est pas terminée, et se termine généralement quelques jours après la FA). Cette technique est utilisée dans le cas des vins primeurs.

5- Les différentes sortes de bactéries du commerce et leurs applications (suite)

-La co-inoculation séquentielle :

Les bactéries sont inoculées dans les vins à partir d'une densité de 10¹⁰ (généralement après décuvage pour les vins rouges du beaujolais). Les bactéries s'adaptent ainsi au milieu pendant que la FA se termine et ne démarrent la FML théoriquement qu'une fois la FA terminée.

Quelque soit le type de co-inoculation qu'il veut mettre en œuvre le vinificateur est confronté à diverses contraintes. La principale étant la température. Tout choc thermique est à proscrire (exemple des températures trop élevées en macération peuvent entraîner une forte diminution de la population bactérienne). D'autre part, pour le choix de la souche de bactérie, il faudra aussi tenir compte des paramètres du moût (pH, SO₂, ainsi que le TAV en cas de co-inoculation tardive).

Par ailleurs la co-inoculation nécessite une surveillance de l'acidité volatile et de la teneur en acide malique. Lorsque la FML se termine avant la fin de la FA, il sera préférable de sulfiter à 2 g/hl (ou d'ajouter du lysozyme*) pour bloquer les bactéries lactiques, l'acidité volatile ne devant pas monter de plus de 0,1 g/L H₂SO₄ par jour (au-delà c'est un début de piqure lactique).

Bactéries lactiques indigènes ou du commerce?

La plupart des études de coût montrent que l'utilisation de levain malolactique coûte moins cher qu'une fermentation malolactique spontanée. Ces conclusions sont toutefois à moduler pour les chais dans lesquels la FML se fait spontanément après la FA.

Sur le plan organoleptique, les bactéries sélectionnées ne produisent que des quantités faibles d'amines biogènes (pas de masquage aromatique). Concernant la production de précurseurs des phénols volatils (indésirables en cas de contamination *Brettanomyces*), les bactéries indigènes ou du commerce de genre *Oenococcus oeni* n'en produisent que de faibles quantités dans les conditions du milieu vin. A noter que certaines souches du commerce ont été caractérisées « phénols négatives » (ex: Vitilactic BL01), pour autant cela ne veut pas dire que les autres sont « phénols positives ».

6- Conclusion

Bien que les connaissances scientifiques et les recherches en cours rendent la FML moins mystérieuse, elle réserve encore une grande part d'inconnu. Les œnologues du Laboratoire le Morgon, grâce à leurs connaissances, aux retours terrains et aux analyses réalisées en laboratoire, seront là pour vous orienter vers la stratégie la mieux adaptée.

*enzyme rentrant dans la catégorie des allergènes – utilisation interdite en vinification biologique.