

Institut d'Oenologie, Université de Bordeaux II
et Institut National de la Recherche Agronomique, Talence, France

Premières observations sur l'action de *Botrytis cinerea* cultivé sur moût de raisins, à l'égard du métabolisme des bactéries lactiques dans les moûts et dans les vins

par

MARIA VITÓRIA SAN ROMAO¹⁾ et SUZANNE LAFON-LAFOURCADE

Initial observations regarding the metabolism of lactic acid bacteria in botrytised musts and resulting wines

S u m m a r y . — The growth of *Botrytis cinerea* in grape must stimulates the fermentation of sugar by lactic acid bacteria both in musts and wines. In wines containing malic acid, the bacterial degradation of residual sugar is not accompanied by the formation of acetic acid; this formation appears when malo-lactic fermentation is achieved. In wines which come from a must infected by *Botrytis cinerea*, glycerol is often the main product in the lactic fermentation.

Introduction

L'inhibition des levures dans les moûts de raisins parasités par *Botrytis cinerea* est bien connue (RIBÉREAU-GAYON *et al.* 1975). Par contre, l'incidence de *Botrytis cinerea* sur les bactéries lactiques n'a jamais été étudiée.

Dans le cas des grands vins liquoreux, issus de la «pourriture noble», tout est mis en oeuvre pour éviter la prolifération des bactéries; des cas de piqûres lactiques se rencontrent néanmoins.

A propos de vins rouges, il n'est pas sans intérêt de préciser le rôle éventuel d'une attaque partielle des raisins par *Botrytis cinerea*, sur le déroulement de la fermentation malolactique; on sait que ce phénomène, non exergonique, suppose la dégradation bactérienne préalable d'une petite quantité de sucre, qui fournit l'énergie nécessaire au développement des bactéries (RADLER 1967).

Ce travail se propose d'étudier, pour quatre bactéries lactiques homo- et hétérofermentaires, l'incidence du développement de *Botrytis cinerea* dans le moût de raisin, sur la fermentation bactérienne des sucres et de l'acide malique dans les moûts et les vins.

Matériel et méthodes

Protocole d'essai

Le moût de raisin (Tableau 1) est réparti dans des erlens de 2 l à raison de 1 l par erlen, bouchés d'un tampon d'ouate. Après stérilisation 15 min à 120 °C, on en-

¹⁾ Adresse actuelle: Instituto Nacional de Investigação Agrária, ex Centro Nacional de Estudos Vitivinícolas, 2575 Dois Portos, Portugal.

T a b l e a u 1
 Modifications apportées au moût de raisin par le développement de *Botrytis cinerea*
 Modifications of musts by *Botrytis cinerea* development

g/l	Moût sain	Moût parasité par <i>Botrytis cinerea</i>
Sucre	188	175
Acidité totale	3,7	2,6
Acide acétique	0,16	0,16
Acide malique	3,87	3,02
Acide tartrique	2,1	1,4
Acide citrique	0,22	0,24
Acide L(+) lactique	traces	traces
Acide D(-) lactique	traces	traces
Acide pyruvique	traces	traces
Acide α -cétoglutarique	traces	traces
Acide gluconique	0,74	1,02
Glycérol	0,6	3,67
Alcool	0,75	0,23
pH	3,5	3,6

semence avec quelques gouttes d'un levain de *Botrytis cinerea* et on porte à incubation à 25 °C. Le développement du champignon est suivi par dosage du glycérol dans le milieu.

Les moûts botrytisés sont alors assemblés, ramenés au pH et à la concentration en sucre du moût sain. On en fait deux lots que l'on répartit en flacons; l'un estensemencé avec des bactéries et subit une fermentation lactique, l'autre estensemencé avec des levures et subit une fermentation alcoolique; le vin correspondant décanté et réparti en flacons pleins bouchés hermétiquement, reçoit des populations bactériennes de l'ordre de 10^6 cellules/ml.

Les différents milieux sont soumis à l'analyse après 5 semaines d'incubation à 25 °C. Les microorganismes utilisés sont les suivants:

Botrytis cinerea: souche B₁₆ INRA

Bactéries lactiques:

Lactobacillus plantarum A 8014 (homofermentaire)

Lactobacillus hilgardii Bc₂ (hétérofermentaire)

Pediococcus cerevisiae Ja₂ (homofermentaire)

Leuconostoc oinos 34 b, (hétérofermentaire)

Levures:

Saccharomyces cerevisiae (préparation industrielle de levure sèche)

D é t e r m i n a t i o n s

Dans les moûts et les milieux fermentés, on a dosé: les sucres (méthode BERTRAND; RIBÉREAU-GAYON *et al.* 1972); l'alcool (distillation et aérométrie ou méthode enzymatique (LUCMARET 1978)); les acides malique, acétique, citrique, L(+) et D(-) lactique, pyruvique, α -cétoglutarique, gluconique; le glycérol (méthodes enzymatiques, BERGMAYER 1971, LAFON-LAFOURCADE 1978).

Tableau 2

Principaux produits formés pour 100 g de sucre/l métabolisé par les bactéries lactiques dans les moûts de raisins sains et parasités par *Botrytis cinerea*

Principal products formed in botrytised and non-botrytised musts per 100 g sugar/l metabolised by lactic acid bacteria

	Substrats dégradés (g/l)			Produits formés pour 100 g de sucre métabolisé (g/l)			
	Sucre	Acide gluconique	Acide malique	Alcool	Acide acétique	Acide lactique ¹⁾ L(+) + D(-)	Glycérol
<i>Leuconostoc oinos:</i>							
moût sain	51	0,31	3,87	58,0	1,23	9,5	2,50
moût parasité	68	0,98	3,02	74,0	2,24	9,5	3,90
<i>Pediococcus cerevisiae:</i>							
moût sain	35	0,74	3,87	16,0	1,08	13,0	2,70
moût parasité	52	1,01	3,02	3,4	7,30	29,0	2,70
<i>Lactobacillus hilgardii:</i>							
moût sain	45	0,73	3,87	28,7	10,90	13,9	1,20
moût parasité	88	1,01	3,02	19,5	8,10	9,7	2,30
<i>Lactobacillus plantarum:</i>							
moût sain	116	0	3,87	3,9	0,72	7,1	2,76
moût parasité	161	0,34	3,02	4,4	0,48	4,6	2,15

¹⁾ Acide lactique total diminué de l'acide L(+) lactique provenant de la dégradation de l'acide malique.

Résultats

1^o) Incidence de *Botrytis cinerea* sur la fermentescibilité lactique des moûts (Tableau 2):

Pour les quatre bactéries expérimentées, les plus fortes dégradations de sucre s'observent dans les milieux botrytisés où elles excèdent de 33 à 48 % celles qui se produisent dans les moûts sains.

Chacune des bactéries fermente totalement l'acide malique; la dégradation de l'acide gluconique est variable en fonction du milieu et de la souche.

Dans les deux types de moût, les produits principaux du métabolisme bactérien sont l'acide lactique et l'alcool. L'alcool est formé aussi bien par les souches homofermentaires que par les hétérofermentaires; dans le cas de *Pediococcus cerevisiae* l'alcool est produit en quantité plus importante que l'acide lactique; également, l'acide acétique et le glycérol apparaissent dans chacun des milieux et quelque soit le type fermentaire de la souche.

2^o) Incidence de *Botrytis cinerea* sur la fermentescibilité lactique des vins (Tableau 3):

Les poids de sucre fermentés sont faibles, de l'ordre du g/l; néanmoins glucose et fructose résiduels sont presque totalement métabolisés. La dégradation de l'acide gluconique varie selon le milieu et la souche.

Parmi les principaux produits qui en résultent, l'éthanol n'a pas pu être déterminé dans le vin, car il existe déjà à forte concentration; l'acide lactique est un

Tableau 3

Métabolisme des bactéries lactiques dans les vins provenant de moût sain et du même moût parasité

Metabolism of lactic acid bacteria in wines from botrytised and non-botrytised musts

	Substrats métabolisés (g/l)			Principaux produits formés ¹⁾ (g/l)		
	Sucre	Acide gluconique	Acide malique	Acide lactique ²⁾	Acide acétique	Glycérol
<i>Leuconostoc oinos:</i>						
vin sain ³⁾	1,09	0,25	0,2	0,02	0,07	0
vin parasité ⁴⁾	1,29	0,28	0,2	0,03	0,08	1,12
<i>Pediococcus cerevisiae:</i>						
vin sain	0,75	0,24	0,58	0,41	0,07	0
vin parasité	1,6	0,32	2,5	1,6	0,12	1,2
<i>Lactobacillus hilgardii:</i>						
vin sain	0,9	0,26	0,58	0,04	0,08	0
vin parasité	1,05	0,28	0,35	0,21	0,09	0,83
<i>Lactobacillus plantarum:</i>						
vin sain	0,26	0,12	3,0	0,26	0	0,9
vin parasité	0,5	0,15	3,8	0,24	0	0,9

¹⁾ L'éthanol formé par les bactéries n'a pu être déterminé du fait de la forte concentration de cette substance dans le vin.

²⁾ Acide lactique total diminué de l'acide L(+) lactique provenant de la dégradation de l'acide malique.

³⁾ Vin provenant de moût sain.

⁴⁾ Vin provenant de moût parasité par *Botrytis cinerea*.

peu plus abondant dans les vins issus de moûts parasités. Mais en outre, on note tout particulièrement:

a) les productions d'acide acétique demeurent très faibles dans toutes les conditions;

b) dans le vin issu de moût parasité, dans le cas de trois souches bactériennes, le glycérol est le produit principal du métabolisme; il représente de 63 à 100 % du poids des sucres et acide gluconique dégradés; par contre, il n'apparaît pas dans les vins provenant de moût sain.

Le taux de fermentation de l'acide malique varie en fonction de la souche et du milieu.

Discussion

Les résultats montrent que le développement préalable de *Botrytis cinerea* sur moût de raisin favorise la fermentation bactérienne des sucres dans les moûts et les vins qui en découlent; rappelons qu'à l'inverse il agit comme inhibiteur de la fermentation alcoolique. Le développement de *Botrytis cinerea* sur moût de raisin n'a pas d'incidence significative à l'égard de la fermentation malolactique des vins.

Nous confirmons en outre, que les notions d'homo- et hétérofermentation, déterminées par rapport à la fermentation du glucose, ont peu d'intérêt technologique; une bactérie homofermentaire peut être à l'origine, dans le moût de raisin, d'une forte production d'alcool, d'acide acétique et de glycérol.

D'un autre côté, dans les vins, parmi les sucres résiduels, les hexoses sont dégradés préférentiellement, même en présence d'acide malique. Cette dégradation ne s'accompagne pas de production notable d'acide acétique; la dégradation concomitante d'acide malique non plus; ceci confirme les observations de BRECHOT *et al.* (1974). L'augmentation d'acidité volatile observée dans la pratique des chais se produit effectivement après la fermentation malolactique proprement dite. Des expérimentations en cours, montrent qu'elle découle de la fermentation lactique des traces de sucres résiduels intervenant après la disparition complète de l'acide malique.

Enfin, dans les vins issus des moûts parasités, le métabolisme des bactéries peut se trouver totalement modifié; le glycérol devient alors le produit final prépondérant, quelque soit le caractère fermentaire de la bactérie. A notre connaissance ce fait n'avait pas été signalé jusqu'ici. On peut l'interpréter par l'intervention du mécanisme de la fermentation glycéro-pyruvique. De la même manière on observe dans les moûts de raisins parasités, une déviation du métabolisme des levures au profit d'une fermentation glycéro-pyruvique accrue (LUCMARET 1978).

Résumé

Le développement préalable de *Botrytis cinerea* sur moût de raisin favorise la fermentation bactérienne des sucres dans les moûts et les vins. Dans les vins issus de moûts parasités, le glycérol peut être le produit principal de la dégradation des sucres résiduels, quelque soit le caractère fermentaire de la bactérie.

Bibliographie

- BERGMEYER, H. U., 1971: *Methods of enzymatic analysis*. 4th Ed. Academic Press, London.
- BRECHOT, P., CHAUVET, J. et CROSON, M., 1974: Influence de la concentration initiale de l'acide malique des moûts sur le déclenchement et l'évolution de la fermentation malolactique. *Ann. Technol. Agric.* 23, 411—420.
- LAFON-LAFOURCADE, S., 1978: Application des méthodes enzymatiques à l'analyse des moûts et des vins. *Ann. Nutr. Aliment.* 32, 305—314.
- LUCMARET, V., 1978: Rapport pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies d'Oenologie et Ampélogie. Université de Bordeaux II.
- RADLER, F., 1967: Etude microbiologique de la fermentation malolactique. *Connaiss. Vigne Vin* 2, 73—91.
- RIBÉREAU-GAYON, J., PEYNAUD, E., RIBÉREAU-GAYON, P. et SUDRAUD, P., 1972: *Sciences et techniques du vin*, Tome I. Dunod, Paris.
- — , — — , — — et — — , 1975: *Sciences et techniques du vin*, Tome II. Dunod, Paris.

Eingegangen am 2. 2. 1979

Mme. SUZANNE LAFON-LAFOURCADE
Univ. de Bordeaux II, INRA
Inst. d'Oenologie
351 Cours de la Libération
Talence 33405
France