HAL open science

Développement d'un procédé continu de fermentations alcoolique et maloalcoolique simultanées pour la vinification en rouge.

Caroline Kassim, Marion Alliet, Jean-Luc Favarel, Pierre Strehaiano, Patricia Taillandier

To cite this version:

Caroline Kassim, Marion Alliet, Jean-Luc Favarel, Pierre Strehaiano, Patricia Taillandier. Développement d'un procédé continu de fermentations alcoolique et maloalcoolique simultanées pour la vinification en rouge.. Œno 2011 : 9ème édition du Symposium International d'Œnologie., Jun 2011, Bordeaux, France. pp.0. hal-04025775

HAL Id: hal-04025775

https://hal.science/hal-04025775v1

Submitted on 13 Mar 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Open Archive Toulouse Archive Ouverte (OATAO)
OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in: http://oatao.univ-toulouse.fr/
Eprints ID: 4949

To cite this document: Kassim, Caroline and Alliet-Gaubert, Marion and Favarel, Jean-Luc and Strehaiano, Pierre and Taillandier, Patricia *Développement d'un procédé continu de fermentations alcoolique et maloalcoolique simultanées pour la vinification en rouge.* In: Œno 2011 : 9ème édition du Symposium International d'Œnologie. , 15, 16 et 17 juin 2011, Bordeaux.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr

Développement d'un procédé continu de fermentations alcoolique et maloalcoolique simultanées pour la vinification en rouge.

C.KASSIM[AB], M.ALLIET[AB], J.L.FAVAREL[C], P.STREHAIANO[AB], P.TAILLANDIER[AB]

[A] *Université de Toulouse ; INPT, UPS ; Laboratoire de Génie Chimique ; 4, Allée Emile Monso, F-31030 Toulouse, France*

[B] *CNRS ; Laboratoire de Génie Chimique ; F-31030 Toulouse, France*

[C] *Le Matériel PERA ; Route d'Agde ; F-34510 Florensac, France*

Mots-clés: Levures immobilisées, *Saccharomyces.cerevisiae*, *Schizosaccharomyces.pombe*, Vinification continue.

Introduction

Au cours de ces dernières années, de nouvelles technologies se sont développées en oenologie. L'apparition notamment de nouveaux outils de traitements thermiques, permettant l'extraction continue de la couleur et des polyphénols, ont fait apparaître le schéma de vinification en rouge en phase liquide. Dans ce schéma là, toutes les étapes se font en continu à l'exception des étapes de fermentation alcoolique et malolactique. Au niveau industriel, la difficulté de maîtrise et les risques d'un passage en fonctionnement continu n'encourage pas à sa mise en œuvre. Cependant, avec l'apparition sur le marché des levures immobilisées, la fermentation continue peut être un réel progrès technique permettant l'obtention d'un produit de qualité constante et en un temps plus court.

La vinification par des levures immobilisées a fait l'objet de nombreuses études. L'immobilisation présente de nombreux avantages tels que : augmentation de productivité, facilité de séparation et récupération des produits, réutilisation des biocatalyseurs, diminution des risques de contamination ainsi qu'une mise en œuvre en continu facilitée (Singh et Sooch, 2009). Les supports mentionnés dans la littérature sont nombreux (Strehaiano et al., 2006), mais peu sont arrivés au stade industriel. L'exemple le plus répandu est l'inclusion dans de l'alginate de calcium. Une application originale est l'utilisation séquentielle de levures *Sch.pombe* immobilisées et *S.cerevisiae* libres (Silva et al., 2003), une alternative à la fermentation malolactique sans créer de défaut aromatique ni faux goût. D'une même façon, ces deux souches testées sous forme immobilisée pour réaliser en même temps la fermentation alcoolique et fermentation maloalcoolique en batch sur du moût blanc (Yokotsuka et al., 1993), pourraient être utilisées en production continu sur moût rouge : ceci a été notre objectif de travail.

Matériel et méthodes

Levures : Les levures *S.cerevisiae* QA23 et *Sch.pombe* G2 respectivement immobilisées dans de l'alginate de calcium (ProRestart® et ProMalic®) ont été fournies par Proenol Lda, Portugal.

Milieu de fermentation : Les essais laboratoire ont été réalisé sur du jus de raisin rouge commercial ('100% pur jus de raisin' Carrefour Discount, France) supplémenté en sucres (30 g/L glucose, 30 g/L fructose), en sulfate d'ammonium (225 mg/L) et en dioxyde de soufre (5 g/hL). La concentration en acide malique a été ajustée à 5 g/L. L'essai pilote a été réalisé sur un jus thermotraité produit par la cave de Rabastens (81 – Tarn) à partir de cépages Gamay, Duras et Negrette principalement.

Fermentation batch: Les billes sont réhydratées suivant le protocole Proneol avant d'être placées dans les fioles contenant le jus puis incubées à 20 °C sous une agitation de 100 tpm. En fin de fermentation, un renouvellement du milieu est effectué pour un nouveau cycle de fermentation.

Fermentation continue : Une colonne de diamètre interne de 7,5 cm et de hauteur 50 cm est utilisée au laboratoire. Après réhydratation, billes et jus sont introduits dans la colonne pour une phase de batch. Puis le continu est mis en route (Pompe Gilson Minipuls 3). La température est maintenue à 20 °C.

L'essai sur site industriel a été réalisé sur un pilote de 150 L en suivant les conditions laboratoire.

Analyses : Une fraction des échantillons est utilisée pour un comptage cellulaire sur cellule de Thoma. La deuxième fraction est centrifugée à 12000 tpm pendant 5 min (Microcentrifuge Jouan A12) pour analyses. La concentration en sucres réducteurs est estimée suivant la méthode de l'acide dinitrosalicylique (DNS) (Miller, 1959). La concentration en acide L-malique est mesurée par méthode enzymatique. Pour les échantillons industriels, sucres, éthanol, acidité volatile et acidité totale sont déterminés par infrarouge.

Résultats et discussion

Fermentation en batch:

Des cultures pures de *S.cerevisiae* et *Sch.pombe* ont été réalisées à différentes concentrations de billes (30, 20, 10 et 2,5 % v/v pour *S.cerevisiae* et 3, 1,5 et 0,3 % v/v pour *Sch.pombe*) sur plusieurs cycles afin d'évaluer l'effet concentration et cycles sur les cinétiques de consommation de sucres et d'acide malique respectivement.

Les cinétiques de fermentation alcoolique peuvent être découpées en deux phases (Figure 1): une 'phase rapide' de 210 à 10 g/L de sucres (vitesses entre -3 et -7 g/L/h) et une 'phase lente' à partir de 10 g/L de sucres (vitesse < -1 g/L/h). Selon Silva et al. (2002), ce ralentissement résulte essentiellement de l'inhibition des levures par l'éthanol. Pour la fermentation maloalcoolique, les vitesses obtenues varient de 0,09 à 0,03 g/L/h. Pour les deux fermentations, plus la concentration en billes est faible, plus la cinétique est lente. Mais cet effet concentration, évident, n'est pas linéaire (Figure 1).

Un autre point commun aux deux fermentations est l'accélération des vitesses de consommation au cours de cycles et ceci quelle que soit la concentration en billes. La figure 2, exemple de la fermentation alcoolique, illustre bien cette observation déjà mentionnée par Kourkoutas et al. (2001) pour *S.cerevisiae* immobilisée sur de la pomme et Taillandier et al. (1991) pour *Sch.pombe* inclus dans de l'alginate de calcium. A l'origine de cette accélération se trouvent la croissance des levures dans le support, leur relargage dans le milieu et la croissance des ces levures relarguées. Et ce phénomène est d'autant plus important que la concentration en billes est faible, probablement du fait d'une plus faible concurrence face aux nutriments pour les faibles concentrations en billes (Vives et al. 1993). Ceci explique que la stabilisation des cinétiques soit d'autant plus rapide que la concentration en billes est faible.

Suite à cela, des essais de culture mixte ont été réalisés avec une concentration en *S.cerevisiae* (10 % v/v) et plusieurs concentrations en *Sch.pombe* (3, 1,5 and 0,3 % v/v). En effet, les temps de fermentations étant relativement proches, une double fermentation peut être envisagée.

Pour ces cultures mixtes, les vitesses de démalication ont été les mêmes qu'en cultures pures, *S.cerevisiae* n'a donc pas eu d'influence directe sur l'activité démalicante de *Sch.pombe*. Cependant, aucun relargage de levures *Sch.pombe* n'a été observé, traduisant une inhibition de la croissance de *Sch.pombe* par *S.cerevisiae* comme mentionné par Taillandier et al. (1995) et Yokotsuka et al. (2003). En conséquence, aucune accélération dans les cinétiques de démalication n'a été observée au cours des recyclages. Pour la fermentation alcoolique, aucune différence n'a été détectée, l'accélération au cours des cycles a eu lieu comme en culture pure.

Il apparaît donc possible de réaliser une double fermentation avec *S.cerevisiae* et *Sch.pombe* immobilisées.

Fermentation en continu:

A partir des données batch, une concentration en billes de *Sch.pombe* a été calculée pour avoir en un même temps fermentation alcoolique et maloalcoolique. Puis un essai a été réalisé, en faisant varier les temps de séjour, sur un lit fixe (LF) fonctionnant en continu, l'objectif étant d'avoir en sortie 10 g/L de sucres résiduels et 0,5 g/L d'acide malique au maximum.

Les deux temps de séjours (35h et 22h) en accord avec la littérature (Drichoutis et al. 2007) ont permis une stabilisation des concentrations autour de respectivement 6 et 10 g/L de sucres et 0 et 0,1 g/L d'acide malique.

Cependant, une certaine rétention de gaz a été remarquée : le CO_2 produit par les levures a tendance à former des poches au sein du lit. Le gaz s'échappe de façon plus ou moins régulière provoquant un phénomène de fluidisation intermittente des billes. Malgré ce phénomène de pseudo fluidisation, durant les trois semaines d'essai continu, aucun dysfonctionnement n'a été constaté.

Validation pilote :
Le procédé développé a ensuite fait l'objet d'une validation en pilote de 150L sur site industriel lors de la campagne 2010. Les caractéristiques du procédé et du produit sont données dans les Tableaux 1 et 2.

Tableau 1 : Caractéristiques du procédé continu

Caractéristiques	Température (°C)	Débit d'alimentation et de soutirage (L/h)	Temps de séjour (h)
Valeur moyenne ± Ecart type	19 ± 2	4,34 ± 0,33	37,1 ± 3,7

Tableau 2 : Caractéristiques du vin produit en continu

Caractéristiques	Sucres résiduels (g/L)	Acides Malique (g/L)	Ethanol (% v/v)	Acidité totale (gH_2SO_4/L)	Acidité volatile (g/L)
Valeur moyenne ± Ecart type	7,4 ± 2,2	0,76 ± 0,43	11,4 ± 0,7	3,2 ± 0,3	0,11 ± 0,08

Durant 4 semaines, le réacteur a fonctionné en continu avec un temps de séjour de 37 h. Malgré les fluctuations de température (19 °C ± 2 °C) et de matière première, le vin obtenu en sortie présentait les caractéristiques attendues à savoir 10 g/L de sucres résiduels et 0,5 g/L d'acide malique. Les dégustations quotidiennes ont montré des profils gustatifs corrects. Enfin, d'un point de vue hydrodynamique, les mêmes phénomènes de pseudo fluidisation observés au laboratoire ont pu être remarqués, mais aucun dysfonctionnement lié à une rétention de gaz permanente n'a eu lieu. Le procédé a donc été positivement validé à l'échelle pilote en condition réelle, une extrapolation à plus grande échelle est envisagée pour la prochaine campagne.

Conclusion

En vinification, l'utilisation de levures immobilisées peut être un moyen de réaliser les deux étapes de fermentation, alcoolique et maloalcoolique en continu. A partir des suivis cinétiques de cultures batch de *S.cerevisiae* et *Sch.pombe* immobilisées, nous avons déterminé une concentration en billes pour chacune des deux souches permettant de réaliser les deux fermentations en un même temps et donc de passer en fonctionnement continu. Après validation sur un montage laboratoire, le procédé a été testé à l'échelle pilote sur site industriel. Durant 4 semaines, celui-ci a fonctionné de façon stable permettant l'obtention d'un vin correspondant à nos attentes tant au niveau analytique qu'au niveau organoleptique. Le procédé intensifié ainsi développé peut donc être transféré à l'échelle industrielle.

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre de VINNEO, un projet de Recherche et Développement collaboratif dirigé par Vinovalie – Vignerons de Rabastens et soutenu par la République Française, l'Union Européenne, Oseo, les Régions Midi-Pyrénées et Languedoc-Roussillon, et le Conseil Général du Tarn.

Références bibliographiques

Drichoutis P., Nerantzis E.T., Liouni M., 2007, ‘‘Continuous production of wine in a tower fermentor using entrapped yeast cells in double layer alginate – chitosan beads’’, *e-journal of Science and Technology*, 3 2 51-60.

Kourkoutas Y., Komaitis M, Koutinas A.A. et al., 2001, ‘‘Wine production using yeast immobilized on apple pieces at low and room temperature’’, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 49, 1417-1425.

Miller G.L., 1959, ‘‘Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for determination of reducing sugar’’, *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.

Silva S., Ramon Portugal F., Silva P. et al. 2002, ‘‘Utilisation de levures incluses pour le traitement des arrêts de fermentations’’, *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 36, 161-168.

Silva S., Ramon Portugal F., Andrade P. et al., 2003, ‘‘Malic acid consumption by dry immobilized cells of *Schizosaccharomyces pombe*’’, *American Journal of Enology and Viticulture*, 54, 50-55.

Singh R.S., Sooch B.S., 2009, ‘‘High cell density reactors in production of fruits wine with special reference to cider – An overview’’, *Natural Product Radiance*, 8, 4, 323-333.

Strehaiano P., Ramon Portugal F., Taillandier P., 2006, ‘‘Yeasts as biocatalysts’’ dans: *The Yeast Handbook vol.2 : Yeasts in food and beverages*, Querol A. et Fleet G. (Eds), 243-283.

Taillandier P., Riba J-P., Strehaiano P., 1991, ‘‘Malate degradation by *Schizosaccharomyces* yeasts included in alginate beads’’, *Bioprocess Engineering*, 7, 141-144.

Taillandier P., Gilis M., Strehaiano P., 1995, ‘‘Deacidification by *Schizosaccharomyces*: interactions with *Saccharomyces*’’, *Journal of Biotechnology*, 40, 199-205.

Vives C., Casas C., Godia F. et al., 1993, ‘‘Determination of the intrinsic fermentation kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized in Ca-Alginate beads and observations on their growth’’, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 38, 467-472.

Yokotsuka K., OtakiI A., Naitoh A. et al., 1993, ‘‘Controlled simultaenous deacidification and alcohol fermentation of high acid grape must using two immobilized yeasts, *Schizosaccharomyces pombe* and *Saccharomyces cerevisiae*’’, *American Journal of Enology and Viticulture*, 44, 371-377.

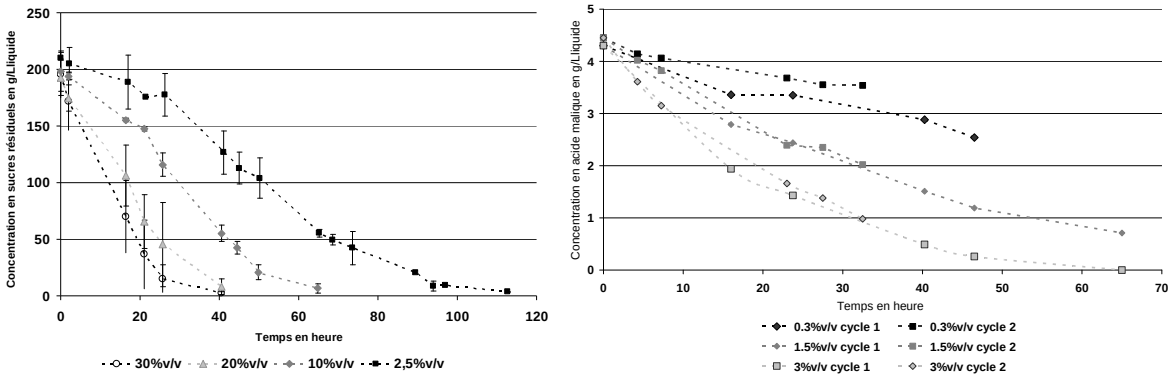

Figure 1. Cinétiques de consommation des sucres (à droite) et acide malique (à gauche) pour différentes concentrations en billes de *S.cerevisiae* et *Sch.pombe* respectivement.

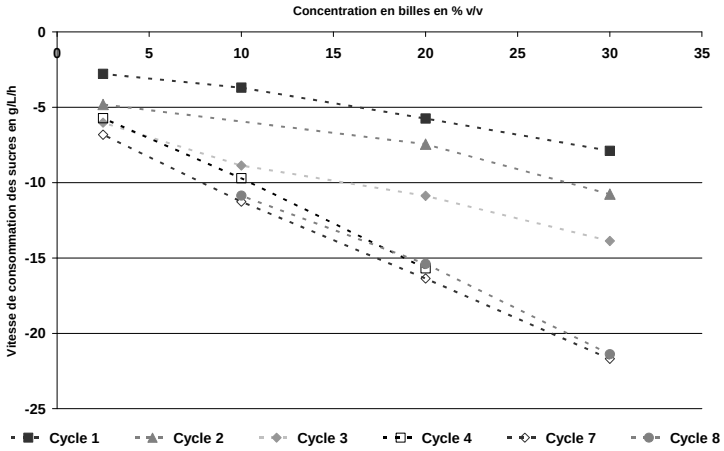

Figure 2. Accélération des cinétiques de fermentation alcoolique au fur et à mesure des cycles pour différentes concentrations en billes.