

RÉSOLUTION OIV-OENO 739-2025

GUIDE POUR L'ÉVALUATION DES PROPRIÉTÉS DE FERMENTATION DES SOUCHES DE *Saccharomyces cerevisiae*

Avertissement : Cette résolution va être introduite en annexe de la résolution suivante :

- OIV-OENO 370-2012, LIGNES DIRECTRICES POUR LA CARACTÉRISATION DES LEVURES DE VINIFICATION DU GENRE *SACCHAROMYCES* ISOLÉES DE MILIEUX VITIVINICOLES

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE,

VU l'article 2, paragraphe iv de l'Accord du 3 avril 2001 portant création de l'Organisation internationale de la vigne et du vin,

CONSIDÉRANT les travaux du Groupe d'experts « Microbiologie »,

DÉCIDE, sur proposition de la Commission « Œnologie », d'ajouter le paragraphe suivant dans le préambule de la résolution OIV-OENO 370-2012 :

L'évaluation des propriétés de fermentation des souches de *S. cerevisiae* est requise pour garantir une fermentation alcoolique de qualité et la production de vins présentant les propriétés sensorielles attendues (voir annexe 2). Des conditions expérimentales inadéquates peuvent conduire à des résultats incohérents ne reflétant pas la réalité de ces propriétés de fermentation.

DÉCIDE d'ajouter le « Protocole normalisé pour évaluer les propriétés de fermentation des souches de *S. cerevisiae* » en tant qu'annexe placée à la fin de la résolution OIV-OENO 370-2012 :

Annexe 2

GUIDE POUR L'ÉVALUATION DES PROPRIÉTÉS DE FERMENTATION DES SOUCHES DE *Saccharomyces cerevisiae*

INTRODUCTION

L'utilisation de souches de *Saccharomyces cerevisiae* possédant des caractères

sélectionnés est fondamentale pour moduler les caractéristiques finales du vin. Pour l'obtention de levains œnologiques de *S. cerevisiae*, la première étape consiste en une sélection clonale basée sur la caractérisation œnologique de souches de levures de vinification *S. cerevisiae* réalisée en évaluant plusieurs caractères phénotypiques sur la base de fermentations conduites en laboratoire dans des milieux synthétiques ou des moûts de raisin. Les moûts de raisin naturels sont considérés plus adéquats pour l'obtention d'une caractérisation fiable des levures œnologiques, mais leurs différences de composition chimique influencent les propriétés œnologiques des levures et rendent difficile la comparaison de souches de *S. cerevisiae* étudiées dans des laboratoires différents ou dans un même laboratoire à des moments différents. De plus, les résultats d'une telle caractérisation peuvent être amplement affectés par les conditions expérimentales utilisées pour conduire les essais de fermentation.

DOMAINE D'APPLICATION

Le tableau 1 de cette annexe présente un protocole validé et normalisé pour l'évaluation des propriétés fermentaires et métaboliques des souches œnologiques de *S. cerevisiae* dans un milieu synthétique, qui permet une comparaison directe et non biaisée des données expérimentales obtenues au cours de caractérisations de levures œnologiques conduites par différents laboratoires.

Tableau 1. Protocole pour la normalisation d'essais de fermentation dans un moût synthétique

Étape	Procédure
Source de la souche de levure	Le cas échéant, il convient d'utiliser des levures sèches actives (LSA) provenant d'un même lot après réhydratation. Si d'autres sources sont disponibles, préparer l'inoculum liquide de la manière suivante : inoculer 100 µL de culture mère dans 5 mL de milieu frais et laisser incuber 12 heures. Répéter cette opération trois fois afin de normaliser l'inoculum.
Préparation du moût synthétique	La composition du moût synthétique est indiquée au tableau 1 de la résolution OIV-OENO 370-2012.
Distribution du moût synthétique	Des fioles Erlenmeyer de 500 mL contenant 350 mL de moût synthétique et équipées de valves Müller sont utilisées. Les essais sont conduits trois fois (trois expérimentations indépendantes).

Réhydratation des levures	Conformément à la résolution OIV/OENO 329/2009, chaque souche de LSA est réhydratée de la manière suivante : • Peser 1 g de LSA en conditions d'asepsie, • Réhydrater dans 100 mL d'eau entre 36-40 °C en conditions stériles, • Homogénéiser doucement à l'aide d'un barreau ou d'un agitateur magnétique pendant 5 min, • Arrêter l'agitation et laisser reposer pendant 20 min, à une température de 36-40 °C, • Homogénéiser de nouveau à température ambiante pendant 5 min, • Prélever stérilement 10 mL et procéder ensuite au dénombrement des cellules de levure viables au moyen d'une chambre de comptage Thoma et d'une solution de bleu de méthylène à 0,1 % (m/v).
Inoculum de la souche de levure	Inoculer la levure réhydratée, ou la culture liquide précultivée, dans le moût synthétique pour obtenir 2×10^6 cellules viables /mL.
Conditions de l'essai de fermentation	Incuber les fioles Erlenmeyer obturées avec des valves Müller (contenant de l'acide sulfurique) à 25 °C ou 17 °C pour les vins rouges, blancs et rosés, respectivement, en conditions statiques pendant 15 jours.
Suivi de la fermentation	Contrôler quotidiennement la perte de masse après avoir agité manuellement chaque fiole Erlenmeyer pendant 1 min.
Arrangement des échantillons pour analyses	À la fin de la fermentation, centrifuger à $3000 \times g$ pendant 5 min à température ambiante et séparer les cellules du surnageant.
Analyses chimiques	1. Procéder à l'analyse chimique des vins obtenus à la fin de la fermentation alcoolique (sucres résiduels < 2 g/L). 2. Conduire les analyses chimiques suivantes : teneurs en éthanol, glucose, fructose, glycérol et acide acétique, ainsi que concentrations en acétaldéhyde, propan-1-ol, méthyl-2 butanol, acétate d'éthyle, 2-méthylpropan-1-ol et 3-méthylbutan-1-ol. 3. Les rendements des produits de fermentation (éthanol, glycérol et acide acétique) devront être normalisés en calculant la quantité de produits de fermentation par unité de sucre consommé. 4. Les analyses devraient être réalisées en utilisant des méthodes officielles de l'OIV dans un laboratoire certifié.

PRINCIPE DU PROTOCOLE

Le protocole indique les différentes phases et, pour chaque phase, les procédures

détaillées à exécuter pour définir les conditions normalisées à appliquer pour la caractérisation des propriétés œnologiques des souches de *S. cerevisiae*. Ce protocole a été validé par l'intermédiaire de fermentations comparatives interlaboratoires utilisant aussi bien des milieux synthétiques et que des moûts de raisin et après avoir vérifié l'obtention de résultats répétables, reproductibles, et valides du point de vue statistique. La répétabilité a été étudiée en utilisant des conditions expérimentales normalisées (en calculant les quantités de produits fermentaires par unité de sucre consommée) et en appliquant un traitement précis des données comprenant la combinaison de tests non paramétriques et d'approches de partitionnement (*clustering*).

Référence

1. Romano, P. *et al.*, (2022) « Validation of a standard protocol to assess the fermentative and chemical properties of *Saccharomyces cerevisiae* wine strains », *Frontiers in Microbiology*, 13: 830277. doi: 10.3389/fmicb.2022.830277