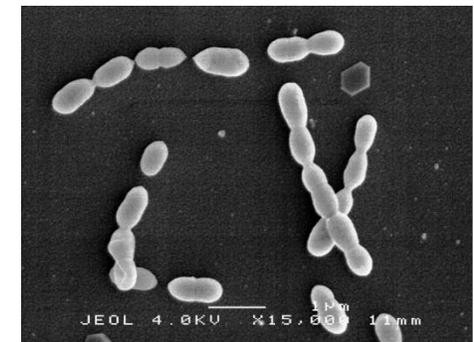
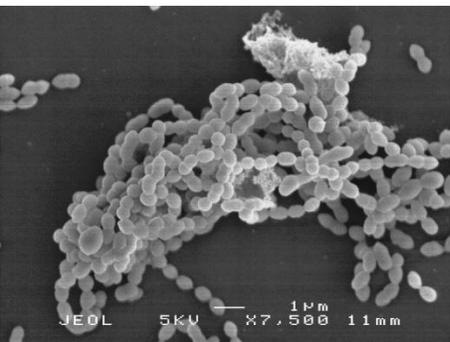




LES BACTÉRIES LACTIQUES DANS LES CIDRES À DISTILLER

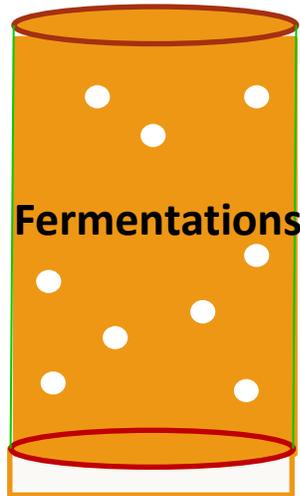
FERMENTATION MALOLACTIQUE ET PIQURE ACROLEIQUE



Quelle biodiversité microbienne dans les cidres de distillation?

Diversité en levures Fermentation alcoolique

- Non-Saccharomyces : *Pichia sp.*, *Hanseniaspora sp.*,...
- Saccharomyces sp.*
- Dekkera/Brettanomyces sp.*



Diversité en bactéries Autres fermentations dont FML

- Bactéries lactiques
 - Oenococcus sp.*, *Pediococcus sp.*, *Leuconostoc sp.*, et 4 genres de *Lactobacillaceae*
 - L.mali* devient *Liquorilactobacillus mali*
 - L. diolivorans* devient *Lentilactobacillus diolivorans*
 - L.brevis* devient *Levilactobacillus brevis*
 - L.collinoides* devient *Segundilactobacillus collinoides*
 - Fermentation malolactique (FML) non souhaitée car mal connue
- Bactéries acétiques (*Acetobacter*, *Gluconobacter*,...)
- Autres micro-organismes : *Enterobacteriaceae*, *Zymomonas mobilis*

BL impliquées à la fois dans la FML et la pique acroléique

Incidence de la FML sur le produit



- ↳ Modification de la saveur : baisse de l'acidité, évolution du produit vers plus de rondeur
- ↳ Modification des arômes : la synthèse de composés secondaires modifie les caractéristiques aromatiques des produits
- ↳ Teneur en éthanal : les bactéries lactiques peuvent faire baisser la teneur en éthanal
- ↳ FML associé à une richesse aromatique

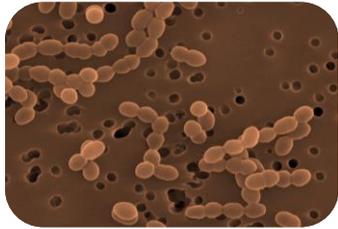


- ↳ Fragilisation du produit : l'augmentation du pH liée à la consommation de l'acide malique fragilise le produit.
- ↳ Modification de la couleur : l'augmentation du pH rend la couleur des cidres moins franche, plus sombre.
- ↳ Baisse de la fermentescibilité : la consommation des nutriments par les bactéries lactiques entraîne une baisse de la fermentescibilité qui peut rendre la prise de mousse ultérieure délicate

Espèces de bactéries lactiques et FML



Bactéries lactiques



Oenococcus sp.

O. oeni 8

O. pseudoeni sp. nov. 8

O. sicerae sp. nov. 2

O. kitaharae 1

O. alcoholitolerans 1



Lactobacillaceae

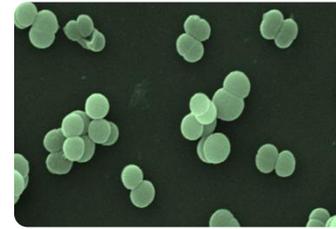
L. mali 8

S. collinoides 8

L. pomaceae sp. nov. 6

L. diolivorans 2

L. brevis 2

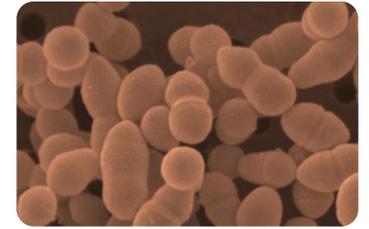


Pediococcus sp.

P. parvulus 6

P. ethanolidurans 6

P. inopinatus 2



Leuconostoc sp.

L. mesenteroides 6

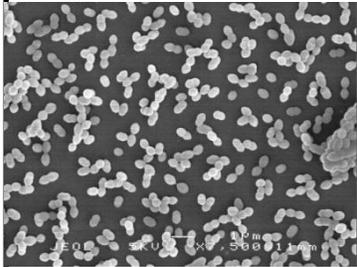
L. pseudomesenteroides 2

L. suionicum 2

L. sicerae sp. nov. 2

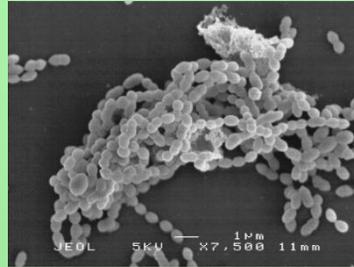
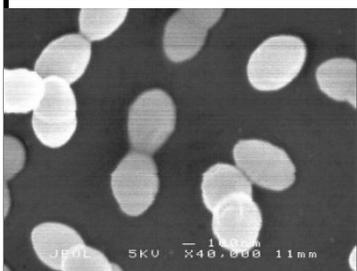
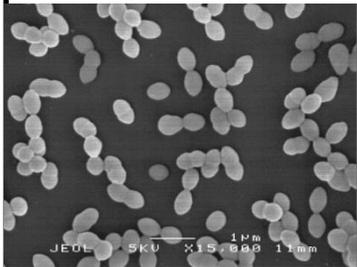
72 souches sélectionnées pour étudier leur capacité à réaliser la FML

De nouvelles espèces d'oenocoques dans le cidre



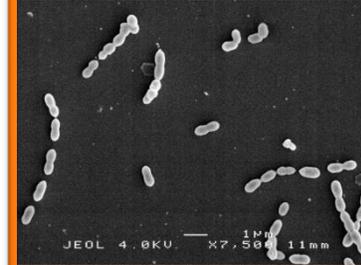
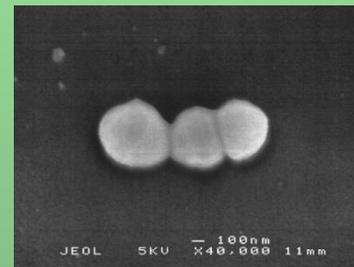
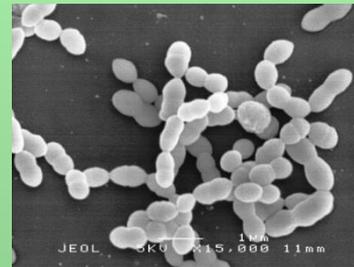
Oenococcus oeni
NCDO 1674^T
Source: Vin

T°C: 15 - 30
pH: 3 - 6.5
Max Ethanol: 10 %
Max NaCl: 3,5 %



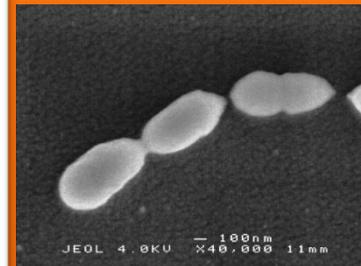
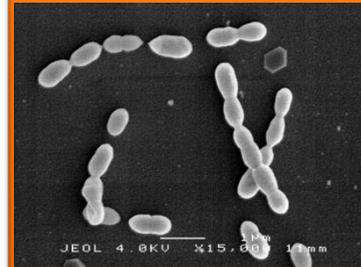
Oenococcus sicerae
UCMA 15228^T
Source: Cidre

T°C: 5 - 30
pH: 4 - 7
Max Ethanol: 6 %
Max NaCl: 2,5 %

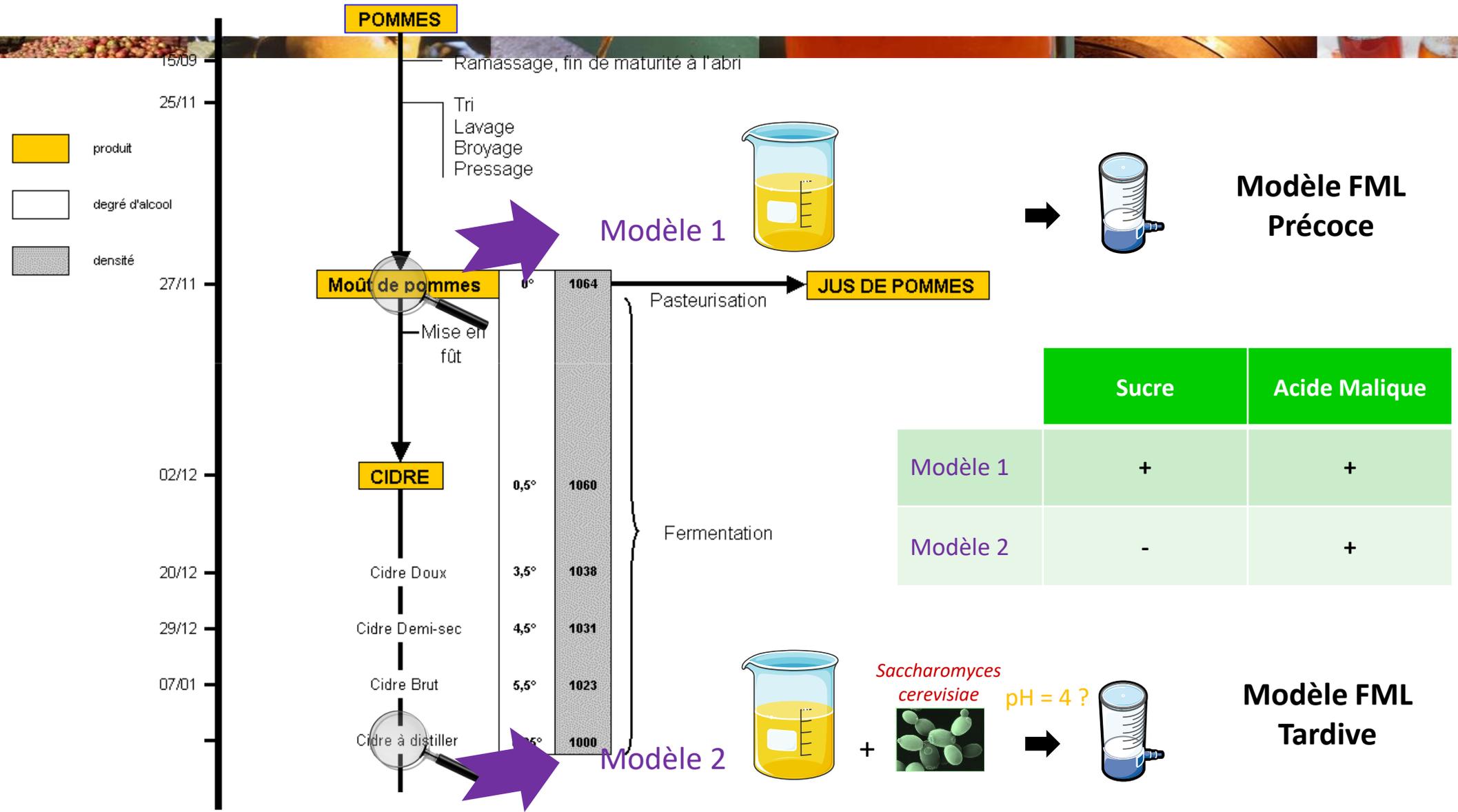


Oenococcus pseudoeni
UCMA 16435^T
Source : cidre

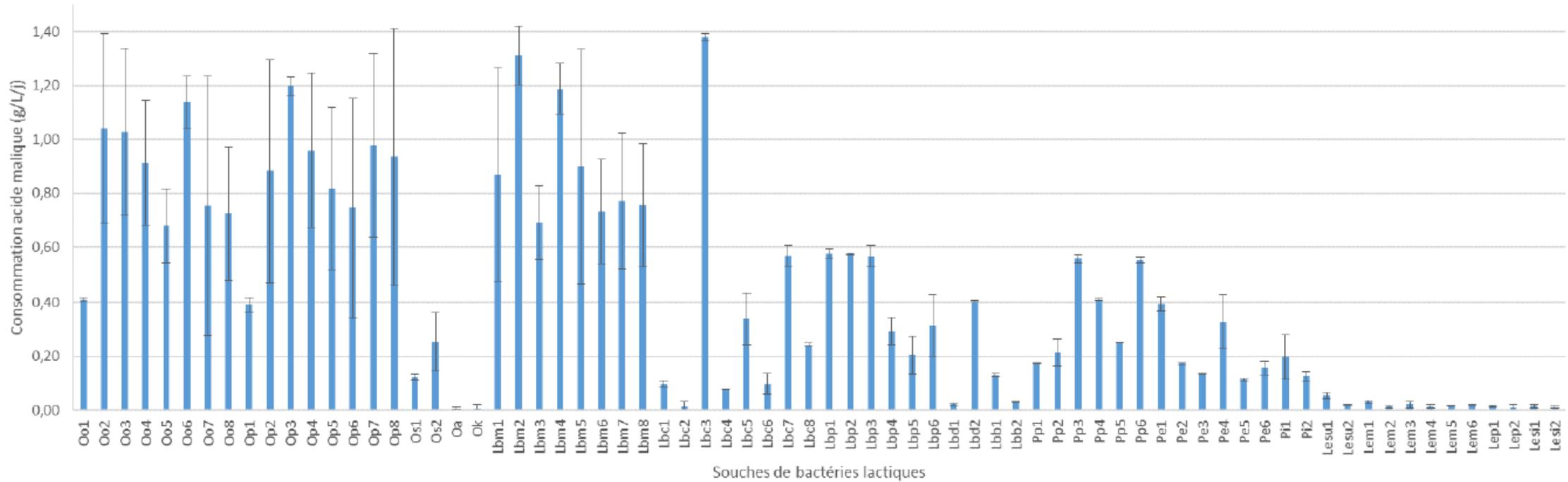
T°C: 10 - 30
pH: 3 - 6,5
Max Ethanol: 8 %
Max NaCl: 3 %



Deux modèles d'études de la capacité des BL à réaliser la FML



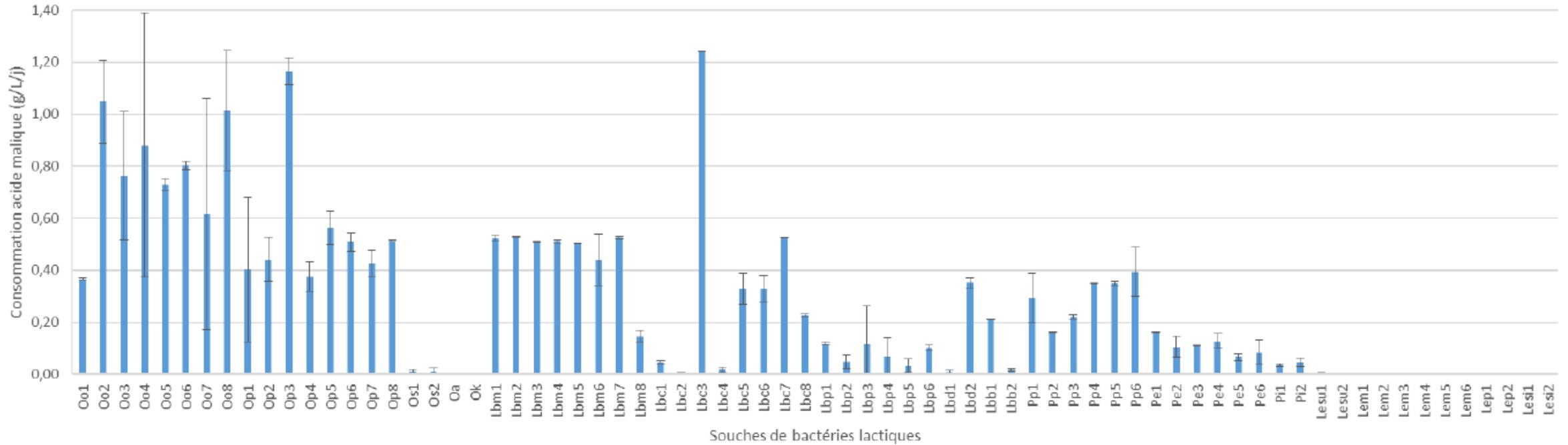
Bactéries lactiques et FML Précoce



↳ Oenocoques > Lactobacilles > Pediocoques > Leuconoctoques

↳ *S.collinoides* peut réaliser la FML

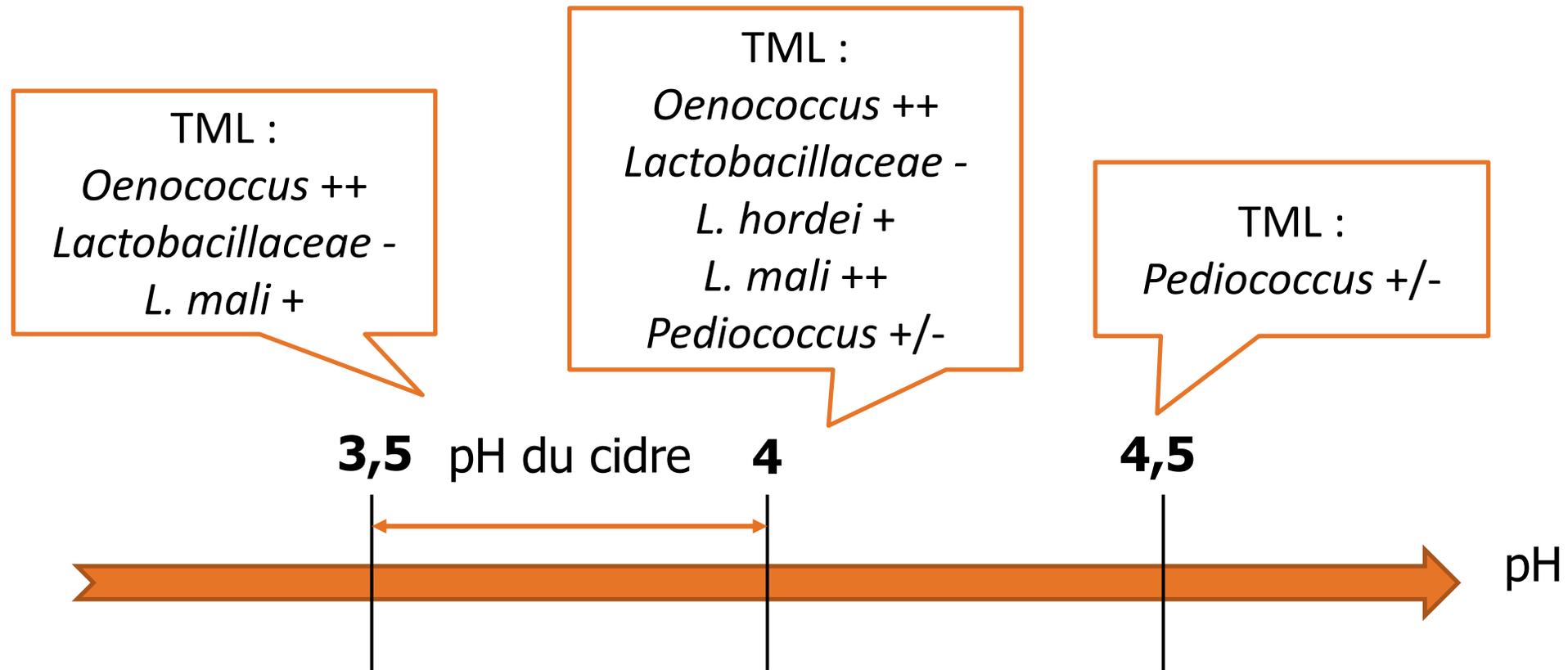
Bactéries lactiques et FML tardive



↳ Oenocoques > Lactobacilles > Pediocoques > Leuconoctoques

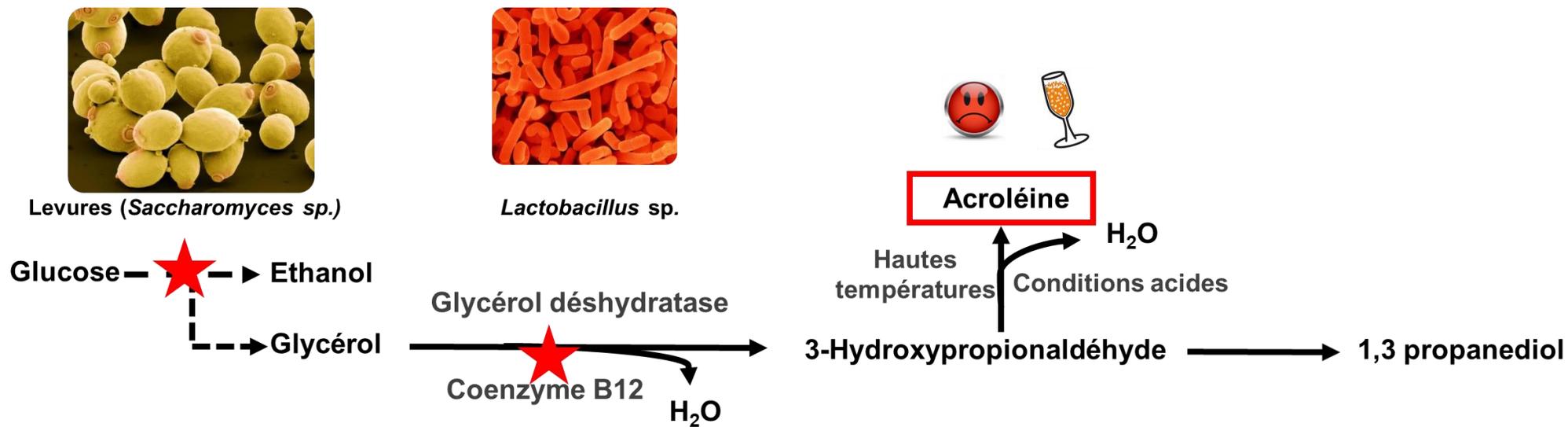
↳ Forte diminution de la capacité à réaliser la FML chez les *Lactobacillaceae*

Diversité BL et capacité à réaliser la FML



La capacité à réaliser la FML d'une souche dépend du pH et des espèces

Lactobacillaceae et piqûre acroléique dans les cidres à distiller



- Conversion enzymatique du glycérol en 3-hydroxypropionaldéhyde (3-HPA), précurseur de l'acroléine
- Métabolisme des bactéries lactiques, principalement *Secundilactobacillus collinoides* (
- Enzyme glycérol déshydratase coenzyme B12-dépendante (gènes *pdu*)

Acroléine et présence de *S. collinoides* dans les cidres à distiller

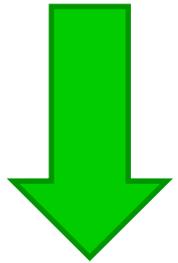


| Cuves | <i>S. collinoides</i> * | Acroléine |
|-----------|-------------------------|--|
| A/B/D1/D2 | ✓ | ✓(0,44-0,50mg/L cidres) (4,13 mg/L micro-distillat) |

| Cuves | <i>S. collinoides</i> * | Acroléine |
|------------------|-------------------------|-----------|
| C1/C2/C3/E1/E2/F | ✗ | ✗ |

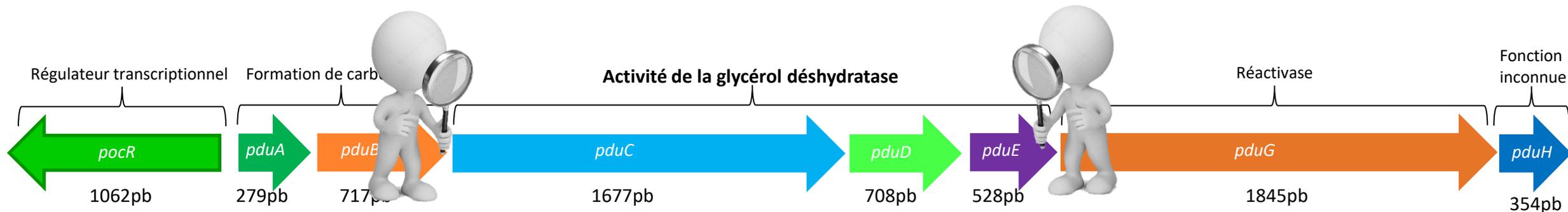
*Approche métagénétique et méthodes culturales

La production d'acroléine ne se fait qu'en présence de *S. collinoides*



Quantité d'acroléine faible dans notre étude (pas de pique acroléique)
 Détection d'acroléine non consistance entre les résultats dans les cidres à distiller et dans les distillats

Analyses in silico de l'opéron *pdu* chez *S. collinoides*



Analyses *in silico* des séquences *pduCDE*
(*S. collinoides* / *S. paracollinoides* / *L. hilgardii* / *L. diolivorans* / *L. brevis*)



Disparité de l'opéron chez *Secundilactobacillus collinoides* : 2 types d'opéron *pdu*

pdu type I : Souche de référence LMG18850

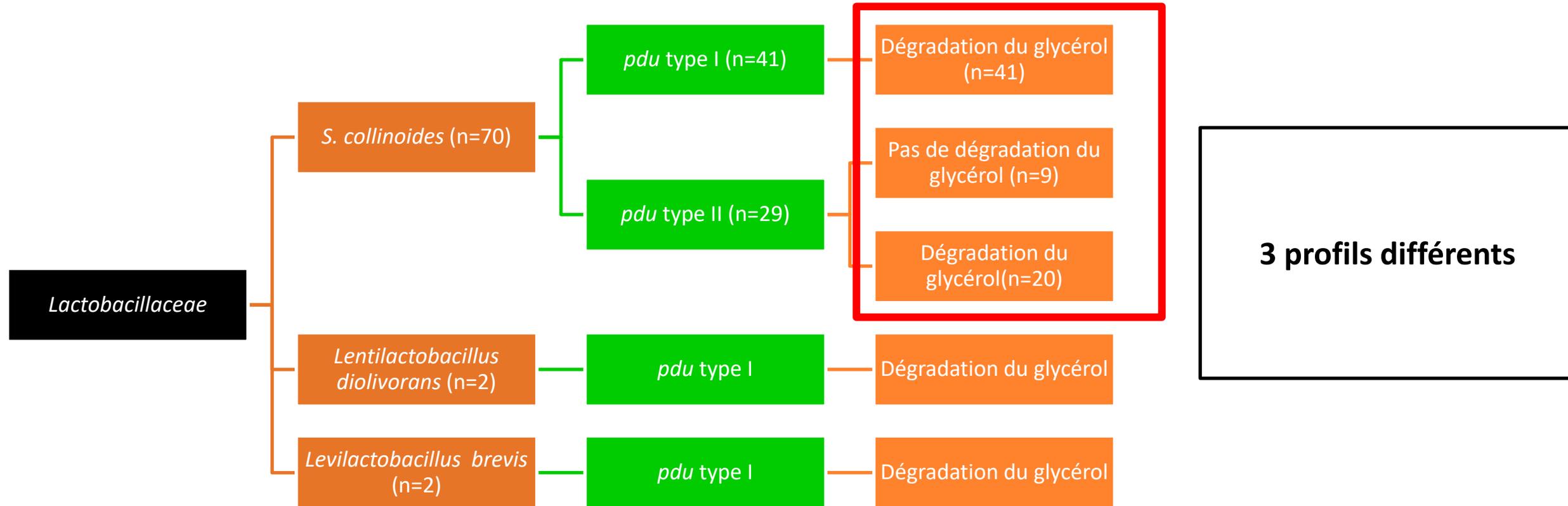
Glycérol

pdu type II : Souche de référence DSM20515^T

Glycérol

Dégradation du glycérol chez les *Lactobacillaceae*

68 souches de *S. collinoides* , 1 de *L. diolivorans*, 1 de *L. brevis* isolées du cidre.



Dégradation du glycerol et type de gène *pdu*

S. collinoides UCMA20009
(Opéron *pdu* type I)

| | |
|---------------|---|
| Sucres | ✗ |
| Acide malique | ✗ |
| Azote | ✗ |
| Ethanol | ✗ |
| pH | ✓ |

Forte dégradation du glycérol (60-100%) dans quasi toutes les conditions

S. collinoides UCMA20075
(Opéron *pdu* type II)

Incapable de dégrader le glycérol dans toutes les conditions

S. collinoides UCMA15355
(Opéron *pdu* type II)

| | |
|---------------|---|
| Sucres | ✗ |
| Acide malique | ✗ |
| Azote | ✗ |
| Ethanol | ✓ |
| pH | ✗ |

Dégradation glycérol (5-34%) en conditions favorables (Taux de sucres, azote, acide malique et pH élevés faible taux d'éthanol)

S. collinoides et risque de piqure acroléique

- ↳ 3 profils génétiques /métaboliques de dégradation du glycérol chez *S. collinoides*
- ↳ Un risque différent entre les souches de *S. collinoides* possédant l'opéron pdu type I vs type II

***S. collinoides* opéron pdu type I présente un risque plus important de piqure acroléique**

- ↳ Impact des paramètres environnementaux
 - ↳ Type I : pH élevé (4,5) favorise la dégradation du glycérol
 - ↳ Type II : Taux éthanol faible favorise la dégradation du glycérol

Que retenir ?

1. La diversité en bactéries lactiques des cidres à distiller est grande, inexploitée et à fort potentiel
2. Les bactéries lactiques réalisent plus facilement la FML avant/pendant la fermentation alcoolique
3. L'incidence de la FML n'est pas la même suivant le type de bactérie lactique la réalisant
4. Le risque de piquêre acroléique dépend du type de *S.collinoïdes*
5. La diversité des bactéries lactiques avant fermentations est importante pour évaluer l'équilibre entre bénéfiques/risques

MoNArC : Modulation des Notes aromatiques des Calvados

Partenaires



Entreprises



Financeurs



Expertise & Prestataires

INRAE, AgroParis Tech, ESA, ARAC