# Stevia en œnologie

# Rapport d'expérimentation Vendanges 2011

*Cette action a bénéficié du soutien financier de Vignerons indépendants, Vignerons coopérateurs, Association IGP, Vin de Pays d'Oc, Chambre d'Agriculture de l'Hérault, Conseil Général de l'Hérault, ICV*

# Sommaire

**A. Rappel du contexte ..... 3**
1. La culture de STEVIA : un enjeu d'actualité ..... 3
2. La culture de STEVIA : mode d'emploi ..... 3
3. La STEVIA en œnologie : les essais ..... 4

**B. Matériel et méthodes ..... 5**
1. Matières premières ..... 5
2. Protocole ..... 5

**C. Résultats ..... 7**
1. Cinétiques fermentaires ..... 7
2. Suivis analytiques ..... 7
3. Suivi microbiologique et stabilité du produit ..... 8
4. Impact organoleptique ..... 10

**D. Conclusions ..... 11**

**E. Annexe : bulletins d'analyses des stéviosides ..... 12**

## GIE ICV-VVS

**Tél : 04 67 07 04 90 - Fax : 04 67 07 04 95 - icv@icv.fr -www.icv.fr**
**Responsable technique de l'action :** Lucile PIC (lpic@icv.fr)

**Situation de l'essai :** GIE ICV-VVS - Cave expérimentale - La Jasse de Maurin 34970 LATTES

## Chambre d'agriculture de l'Hérault

**Tél : 04 67 20 88 32 – Fax : 04 67 20 88 95 www.hérault.chambagri.fr**
**Responsable du dossier :** Laurent GOURDON (gourdon@hérault.chambagr.fr)

# A. Rappel du contexte

La Chambre d'Agriculture de l'Hérault a initié une réflexion sur la culture et la valorisation de la STEVIA, plante qui synthétise des édulcorants naturels.

## 1. La culture de STEVIA : un enjeu d'actualité

*Stévia rébaudiana* est une plante de la famille des Astéracées originaire du Paraguay qui peut atteindre 1 mètre de haut. Depuis des siècles, les indiens Guarani exploitent la Stévia. Elle portait chez eux le nom de "Ka'à he'ê" qui peut se traduire par "la feuille comme du miel".

En effet, ses feuilles contiennent des glycosides, qui sont, pour une grande part, des stéviosides dont la Rébaudioside A. Cette molécule, jusqu'à 300 fois plus sucrée que le sucre, ne contient aucune calorie (car elle n'est pas métabolisée par l'organisme), et n'a pas d'effet toxique, notamment pour les patients diabétiques. La plante peut donc aussi fournir un édulcorant compatible avec les régimes pour diabétiques et les régimes hypoglycémiques.

Les stéviosides sont très utilisées au Japon depuis l'interdiction des édulcorants artificiels en 1970, mais aussi en Amérique latine, en Chine, en Corée. La production commerciale a principalement lieu au Paraguay, en Uruguay, en Amérique Centrale, aux Etats-Unis, en Israël, en Thaïlande et en Chine. Sa culture est réalisée aussi au Canada et des essais débutent en Allemagne ; elle est donc en culture sous des climats très variés.

L'intérêt de la rébaudioside A est connu depuis de nombreuses années par l'industrie agro-alimentaire qui recherche une alternative aux édulcorants artificiels, décriés quant à leur effet néfaste sur la santé. Mais l'utilisation de cette molécule naturelle n'était pas jusqu'à présent autorisée en France.
L'arrêté interministériel du 26 août 2009 qui autorise l'emploi du Rébaudioside A (extrait de *Stévia rébaudiana*) comme additif alimentaire et celui du 8 janvier 2010, qui l'autorise comme édulcorant de table, ont rendu pertinent l'enjeu de la culture de Stevia en France. Le règlement n°1131/2011 (JOUE du 12/11/11) qui autorise au niveau européen la famille entière des glycosides de stéviol (E960) dans plusieurs catégories de denrées, renforce encore cette pertinence.

L'implantation de la Stévia dans l'Hérault est alors une opportunité de diversification à saisir et la technologie liée à sa transformation pourrait se satisfaire d'éléments utilisés dans les unités viticoles comme les distilleries.

## 2. La culture de STEVIA : mode d'emploi

La Stévia tire partie de terres à potentiel agronomique variable. Sa culture est tantôt proche de la cueillette tantôt plus intensive. On peut penser raisonnablement que la demande en Stévia va être très importante dans les années à venir.

La garantie des modes de production, de son d'origine et de sa transformation, seront des éléments importants liés à sa demande. Les techniques culturales de la Stévia, sa rentabilité, ses points forts, ses points faibles sont autant d'inconnues à découvrir, aucune référence technique n'existe en France.

Le service Productions Végétales de la Chambre d'Agriculture de l'Hérault, en étroite collaboration avec le Centre Expérimental Horticole de Marsillargues (CEHM), vise à définir la meilleure rentabilité technico-économique par la mise en place de zones de culture dans le département, pour :

- Acquérir des références techniques (type de sol, densité, fertilisation, irrigation, production biologique)
- Permettre la sélection variétale, essentielle en termes de production de biomasse et de teneur en Rébaudioside A
- Obtenir une production de plants maîtrisée

Un tel projet se heurte à des difficultés d'ordre économique et structurel. En effet, les contraintes techniques au champ s'assortissent d'autres types de contraintes à résoudre pour assurer la pérennité de la filière :

- La disponibilité et le prix des plants (50cts par plant aujourd'hui) : afin de réduire les coûts et de développer cette culture, une unité de multiplication doit être mise en place pour maîtriser la production et la sélection des plants.
- La récolte, le séchage des feuilles et l'extraction de la Rébaudioside A : afin d'assurer les débouchés, des partenariats avec des ateliers de transformation sont donc nécessaires.

## 3. La STEVIA en œnologie : les essais

Dans le cadre de cette réflexion stratégique, la valorisation de la plante en œnologie mérite une étude particulière dans notre région à dominante viticole.

Parmi les usages envisagés, celui d'agent d'édulcoration est le plus évident. Il serait ainsi :

- Une alternative potentielle à l'utilisation des MCR, certes viticoles mais importés
- Une alternative pour l'édulcoration des vins, moins risqué pour leur conservation par rapport au MCR (les stéviols sont a priori non fermentescibles) et donc une réduction des contraintes de stérilisation à mettre en oeuvre au conditionnement.
- La Stevia apporte en outre l'avantage du faible apport calorifique.

Par ailleurs, les différents éléments techniques recueillis lors de ces essais permettront de constituer un dossier afin de franchir les différentes étapes nécessaires pour obtenir une évolution des textes autorisant son usage (Réglementation spécifique de la filière).

Pour atteindre ses objectifs, deux axes expérimentaux sont proposés :

- Axe 1 : Mesure de l'impact analytique et organoleptique des différentes molécules issues de la Stevia en comparaison au MCR
- Axe 2 : Validation de la non fermentescibilité par les principaux germes du vin des différentes molécules du Stéviol, afin d'évaluer la stabilité microbiologique des vins additionnés de ces molécules

Enfin ces travaux permettront aussi de mesurer l'intérêt du développement de recherches sur le volet agronomie. Des résultats positifs encourageront à s'intéresser à la sélection clonale, aux modes de culture, à l'impact de l'irrigation, des sols... pour maximiser les composés intéressants à valoriser.

Les essais sont réalisés durant les vendanges 2011, avec une attention particulière sur l'Axe 2.

# B. Matériel et méthodes

## 1. Matières premières

### a) Stevia

La poudre que nous avons utilisée pour ces essais est une poudre de Stevia à 60% de Rébaudioside A et 95% de Stéviols glycosides. Les contrôles analytiques ont confirmé ces caractéristiques

| | |
|---|---|
| Rébaudioside A | 63.5% poids sec |
| Stéviols glycosides | 96.5% poids sec |
| Pouvoir sucrant (comparé au glucose) | 200 à 300 fois |

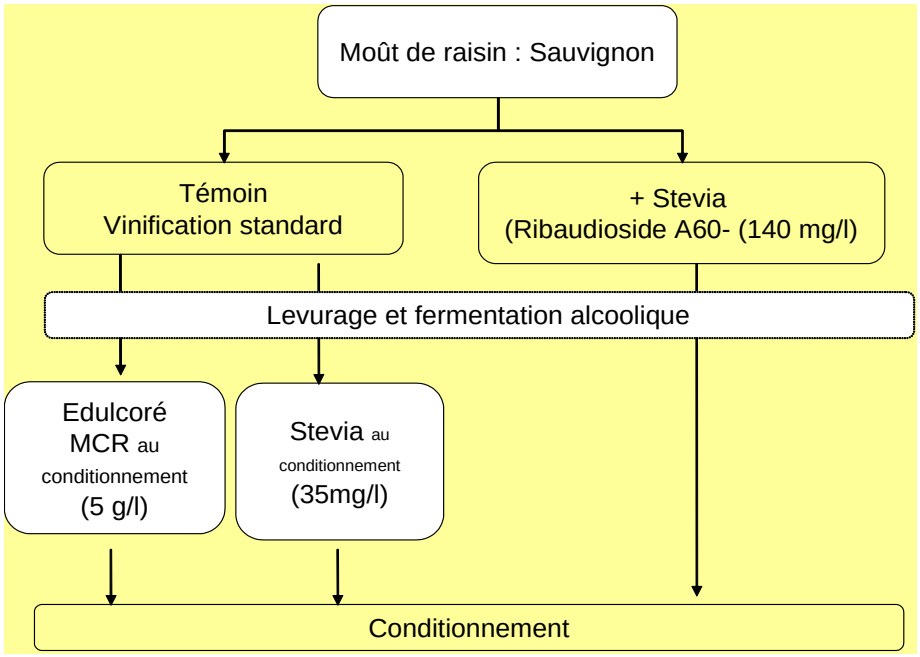
### b) Jus blanc

Le jus blanc utilisé est un jus de Sauvignon, riche en sucres mais qui conserve un pH bas et des teneurs en acides maliques et tartriques importantes.

| Sucre (g/l) | Ac Totale (gH2SO4/l) | Ac Volatile (gH2SO4/l) | pH | Ac. Malique (g/l) | Ac Tartrique (g/l) | Potassium (g/l) | N Ass en mg/l | Turbidité en NTU |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 217.8 | 5.01 | <0.1 | 3.23 | 4.08 | 5.90 | 1.21 | 114 | 40 |

## 2. Protocole

### a) Minivinifications



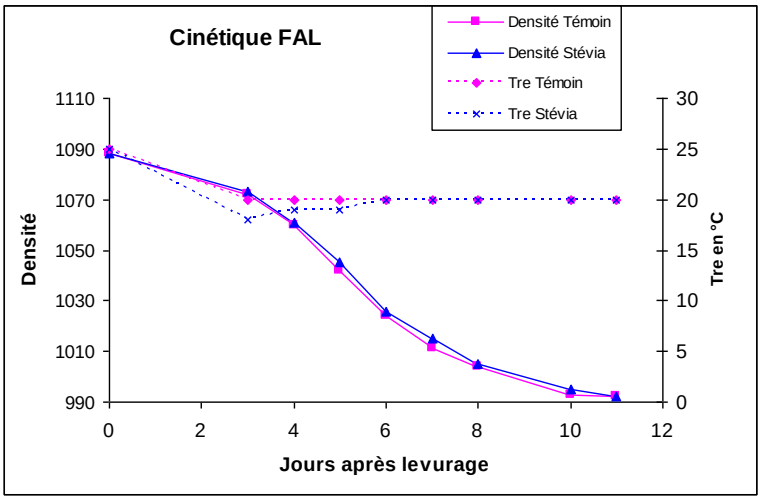
## b) Plan de contrôle

- Bilan analytique chimique complet du moût (dont Rébaudioside A)
- Suivi des fermentations alcooliques
- Suivi des cinétiques de populations de *Saccharomyces cerevisiae*
- Bilan analytique chimique complet en fin de FA : Glucose+ fructose, TAV, pH, Acide malique, acide lactique, acide tartrique, acidité totale), Stéviosides, Rébaudioside A,
- Bilan microbiologique complet en fin de FA dénombrement des bactéries lactiques et acétiques, des levures de type *Saccharomyces* et *Brettanomyces*.
- Analyse Sensorielle Descriptive Quantifiée des 3 vins

# C. Résultats

## 1. Cinétiques fermentaires

**Figure 1 : Comparaison des cinétiques fermentaires des jus avec ou sans ajout de Stéviosides avant FA**




Le suivi des fermentations alcooliques met en évidence l'absence d'impact de la présence des rébaudiosides sur la cinétique de dégradation des sucres.

## 2. Suivis analytiques

Le suivi analytique aux différents stades de la vinification (**Tableau 1** à **Tableau 3**) ne montre aucune différence significative entre les lots. Seul l'ajout de MCR effectué en fin de FA modifie comme il se doit la teneur en glucose et fructose.

**Tableau 1 : profils analytiques des jus avant levurage**

| Lot | Glucose + fructose (g/l) | Ac Totale (gH2SO4/l) | Ac Volatile (gH2SO4/l) | pH | Ac. Malique (g/l) | Ac Tartrique (g/l) | Potassium (g/l) | N Ass en mg/l | Turbidité en NTU |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 217.8 | 5.01 | <0.1 | 3.23 | 4.08 | 5.90 | 1.21 | 114 | 40 |
| + Stevia sur moût | 217.3 | 4.92 | <0.1 | 3.27 | 4.07 | 5.49 | 1.27 | 108 | 59 |

**Tableau 2 : profils analytiques des vins en fin de FA avant sulfitage**

| Lot | Glucose + fructose (g/l) | Degré en % | Ac Totale (gH2SO4/l) | Ac Volatile (gH2SO4/l) | SO2 Libre (mg/l) | SO2 Total (mg/l) | pH | Ac. Malique (g/l) | Ac Tartrique (g/l) | Potassium (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 0.5 | 12.61 | 5.39 | 0.31 | <10 | 72 | 3.17 | 2.7 | 4.01 | 0.76 |
| + Stevia sur moût | 0.4 | 12.80 | 5.35 | 0.35 | <10 | 73 | 3.16 | 2.66 | 4.02 | 0.79 |

**Tableau 3 : profils analytiques des vins 2 semaines après conditionnement**

| Lot | Glucose + fructose (g/l) | Degré en % | Ac Totale (gH2SO4/l) | Ac Volatile (gH2SO4/l) | SO2 Libre (mg/l) | SO2 Total (mg/l) | pH | Ac. Malique (g/l) | Ac Tartrique (g/l) | Potassium (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| + MCR sur vin | 4.1 | 12.31 | 4.75 | 0.34 | 26 | 126 | 3.17 | 2.70 | 2.90 | 0.7 |
| + Stevia sur moût | 0.4 | 12.60 | 4.82 | 0.38 | 34 | 144 | 3.16 | 2.81 | 2.79 | 0.71 |
| + Stevia sur vin | 0.1 | 12.41 | 4.81 | 0.36 | 23 | 119 | 3.15 | 2.77 | 3.05 | 0.71 |

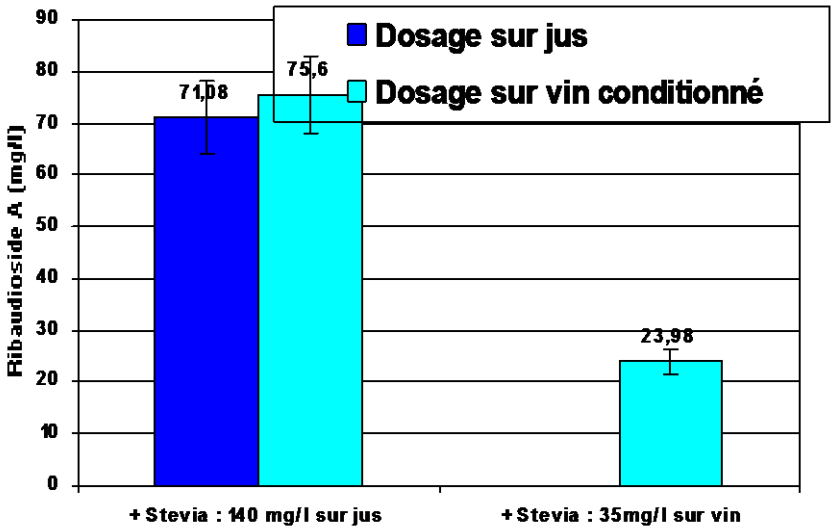
## 3. Suivi microbiologique et stabilité du produit

Les suivis microbiologiques ne mettent en évidence aucun impact de la présence de Stevia dans le jus sur les niveaux de populations viables.

**Tableau 4 : Suivi microbiologique des lots- Germes en unités formant colonies/ml**

| | 1050 | | Fin FA | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lot | levures SC | Bactéries acétiques | levures SC | Bactéries acétiques | levures type Brettanomyces | Bactéries lactiques |
| + MCR sur vin | 45 Millions | < 1 000 | 3 Millions | < 1 000 | < 1 000 | < 1 000 |
| + Stevia sur moût | 48 millions | < 1 000 | 2 Millions | < 1 000 | < 1 000 | < 1 000 |
| + Stevia sur vin | ND | ND | 2.5 Millions | < 1 000 | < 1 000 | < 1 000 |

**Figure 2 : teneurs en Rébaudioside A mesurée sur jus et sur vin conditionné sur chacun des lots de l'essai**



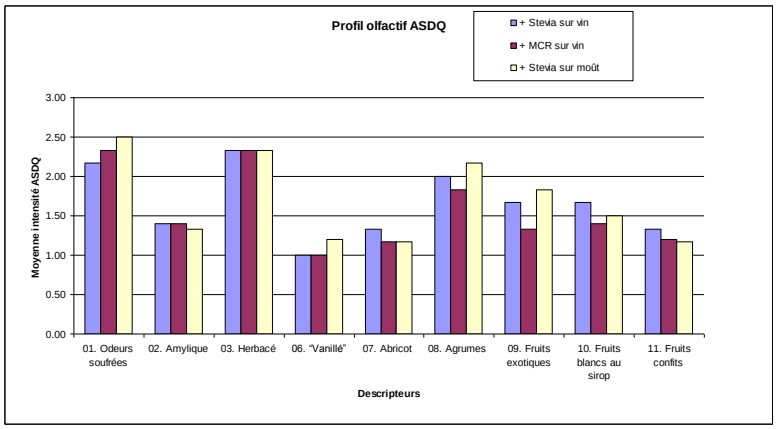

Rébaudioside A attendu 88.9 mg/l

Rébaudioside A attendu 22.22 mg/l

La Figure 2 met en évidence que la teneur en Rébaudioside A n'évolue pas au cours de la fermentation alcoolique et de l'élevage (l'écart mesuré entre jus et vin conditionné est lié à l'incertitude de mesure de l'analyse). Par ailleurs, sur les deux lots, nous vérifions que la teneur mesurée est cohérente avec la teneur attendue au regard de la quantité de poudre ajoutée et de sa concentration en Rébaudioside A.

## 4. Impact organoleptique

Les profils organoleptiques des vins ont été réalisés 3 mois après conditionnement des essais par un jury expert selon la méthode d'Analyse Sensorielle Descriptive Quantifiée.




D'un point de vue olfactif les différences sont faibles : on notera cependant que les deux lots ayant bénéficié d'un ajout de Stevia présentent des notes Agrumes, Fruits exotiques et fruits blancs plus intenses.

D'un point de vue gustatif, les effets sont plus marqués : notamment, l'ajout sur moût (140 mg/l) conduit à une forte hausse de la sensation de volume, qui s'accompagne d'une baisse de l'acidité mais aussi d'une hausse de la sécheresse et de l'amertume.
L'ajout effectué sur vin, réalisé en quantité plus faible (35mg/l) a des effets gustatifs différents : le volume est comparable à celui du vin additionné de MCR, mais l'astringence, la rugosité la sécheresse et l'amertume sont fortement réduits.

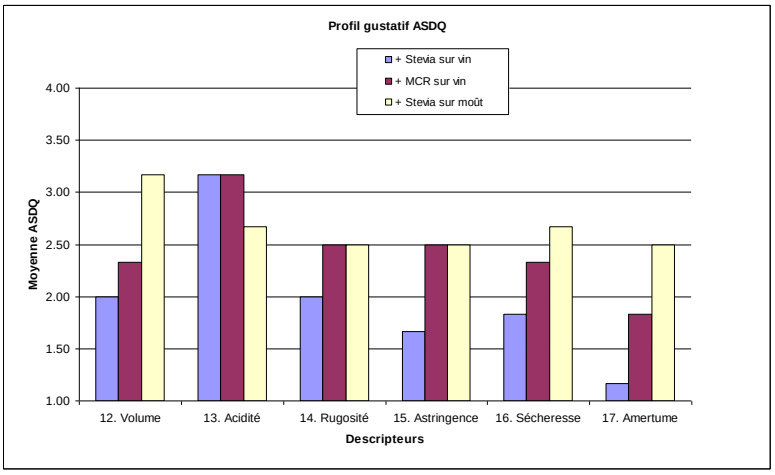



**Figure 3 : profils organoleptiques des vins trois mois après conditionnement**

NB : Nous avions envisagé de réaliser une dégustation supplémentaire (non prévue initialement) afin de comparer à concentration égale l'impact d'un ajout réalisé sur vin quelques jours avant la dégustation et plusieurs mois avant. Cet essai aurait permis de déterminer une éventuelle évolution de l'effet organoleptique dans le temps. Mais l'absence de vin comparable au vin de l'essai et non encore édulcoré ne nous permet pas de conduire cet essai.

## D. Conclusions

L'ensemble des suivis réalisés sur ce Sauvignon n'a mis en évidence :

- ni d'impact pénalisant de la présence de Stéviosides (Rébaudioside A majoritairement) dans les jus sur le développement des levures et sur leur activité fermentaire,
- ni d'instabilité de cette molécule en présence des principaux micro-organismes du vin (teneurs stables entre le jus et le conditionnement)

Par ailleurs, nous n'avons mesuré aucun impact analytique de l'ajout de Stéviosides (Rébaudioside A majoritaires) sur les principaux paramètres analytiques de ces vins blancs.

Le profil organoleptique qui a été réalisé a mis en évidence un impact fort de l'ajout effectué sur jus sur le profil gustatif, mais ces conclusions sont à nuancer au regard de la quantité ajoutée à ce stade (140 mg/l) qui en terme de pouvoir sucrant correspond à environ 40 g/l de glucose/fructose.

L'ajout réalisé sur vin fini est moins marqué, en lien probablement avec la quantité employée (35 mg/l), équivalent à un pouvoir sucrant de 10g/l de glucose/fructose. Cependant ce lot se distingue encore nettement du vin édulcoré au MCR (5g/l), mais là encore les conclusions doivent être nuancées par les différences de pouvoir sucrant des deux vins.

Ces premiers résultats sont encourageant quant à l'intérêt de Stevia comme édulcorant non fermentescibles et donc stable en milieu œnologiques.
Il serait cependant intéressant d'affiner l'impact organoleptique de ce produit sur blanc et de l'évaluer sur d'autres types de matrices.

# E. Annexe : bulletins d'analyses des stéviosides

Tecnosud
Site 21 - Batiment 1A
280, rue james Watt
66 100 PERPIGNAN
Tél. : 04 68 83 93 85
Fax : 04 68 68 65 71
E-mail : m.steiner@pure-environnement.com

**RAPPORT D'ANALYSE**

**N° : O1202227-20-1**

F(PRC)06/B

**GIE ICV-VVS**
**Centre Oenologique de Maurin LA JASSE DE MAURIN**
**34970 LATTES**

à l'attention de Mme. Lucile PIC

Perpignan, le 28 Février 2012

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dossier n° : | OF201202227 | Échantillon n° : | O1202227-20-1 |
| Date de réception : | 20/01/12 | Référence client : | 010-11 Sauvignon OM302403 Edulcoré MCR fin FA 27/8 |
| Désignation de l'échantillon : | Vin blanc | | |
| État à réception : | rien à signaler | | |

**Objet de l'essai :** Recherche et dosage du steviol, stevioside et Rebaudioside A dans un échantillon de vin.

**Préparation de l'échantillon :** Prise d'essai de 20 mL. Purification sur cartouche SPE. Analyse par HPLC avec détection à l'UV (202 nm).

| PARAMÈTRES ANALYSÉS | Méthodes | Résultats | Unités | LDQ* |
|---|---|---|---|---|
| Steviol + Stevioside | Interne | < LDQ | mg/L | 2,50 |
| Rebaudioside A | Interne | < LDQ | mg/L | 1,25 |

(*) LDQ : Limite de quantification

*Avertissement : Les échantillons sont analysés en leur état de réception. Le présent rapport d'essai ne concerne que les prélèvements soumis à l'essai.*

*La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous la forme de fac-similé photographique intégral. Il comporte 1 page.*

Visa du Responsable des analyses

Signature numérique de Matthieu CARRERE

Ingénieur Chimiste

Tecnosud
Site 21 - Batiment 1A
280, rue james Watt
66 100 PERPIGNAN
Tél. : 04 68 83 93 85
Fax : 04 68 68 65 71
E-mail : m.steiner@pure-environnement.com

F(PRC)06/B

**RAPPORT D'ANALYSE**

**N° : O1202227-20-2**

**GIE ICV-VVS**
**Centre Oenologique de Maurin LA JASSE DE MAURIN**
**34970 LATTES**

à l'attention de Mme. Lucile PIC

Perpignan, le 28 Février 2012

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dossier n° : | OF201202227 | Échantillon n° : | O1202227-20-2 |
| Date de réception : | 20/01/12 | Référence client : | 164-11 Sauvignon OM302403 edulcoré Stevia fin FA |
| Désignation de l'échantillon : | Vin blanc | | |
| État à réception : | rien à signaler | | |

**Objet de l'essai :** Recherche et dosage du steviol, stevioside et Rebaudioside A dans un échantillon de vin.

**Préparation de l'échantillon :** Prise d'essai de 20 mL. Purification sur cartouche SPE. Analyse par HPLC avec détection à l'UV (202 nm).

| PARAMÈTRES ANALYSÉS | Méthodes | Résultats | Unités | LDQ* |
|---|---|---|---|---|
| Steviol + Stevioside | **Interne** | 5,12 | mg/L | 2,50 |
| Rebaudioside A | **Interne** | 23,98 | mg/L | 1,25 |

(*) LDQ : Limite de quantification

*Avertissement : Les échantillons sont analysés en leur état de réception. Le présent rapport d'essai ne concerne que les prélèvements soumis à l'essai.*

*La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous la forme de fac-similé photographique intégral. Il comporte 1 page.*

Visa du Responsable des analyses

Signature numérique de Matthieu CARRERE

Ingénieur Chimiste

Tecnosud
Site 21 - Batiment 1A
280, rue james Watt
66 100 PERPIGNAN
Tél. : 04 68 83 93 85
Fax : 04 68 68 65 71
E-mail : m.steiner@pure-environnement.com

**RAPPORT D'ANALYSE**

**N° : O1202227-20-3**

F(PRC)06/B

**GIE ICV-VVS**
**Centre Oenologique de Maurin LA JASSE DE MAURIN**
**34970 LATTES**

à l'attention de Mme. Lucile PIC

Perpignan, le 28 Février 2012

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dossier n° : | OF201202227 | Échantillon n° : | O1202227-20-3 |
| Date de réception : | 20/01/12 | Référence client : | 11-11 Sauvignon OM302403 edulcoré Stevia début FA |
| Désignation de l'échantillon : | Vin blanc | | |
| État à réception : | rien à signaler | | |

**Objet de l'essai :** Recherche et dosage du steviol, stevioside et Rebaudioside A dans un échantillon de vin.

**Préparation de l'échantillon :** Prise d'essai de 20 mL. Purification sur cartouche SPE. Analyse par HPLC avec détection à l'UV (202 nm).

| PARAMÈTRES ANALYSÉS | Méthodes | Résultats | Unités | LDQ* |
|---|---|---|---|---|
| Steviol + Stevioside | **Interne** | 15,57 | mg/L | 2,50 |
| Rebaudioside A | **Interne** | 75,60 | mg/L | 1,25 |

(*) LDQ : Limite de quantification

*Avertissement : Les échantillons sont analysés en leur état de réception. Le présent rapport d'essai ne concerne que les prélèvements soumis à l'essai.*

*La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous la forme de fac-similé photographique intégral. Il comporte 1 page.*

Visa du Responsable des analyses

Signature numérique de Matthieu CARRERE

Ingénieur Chimiste

PURE environnement
Tecnosud
Site 21 - Batiment 1A
280, rue james Watt
66 100 PERPIGNAN
Tél. : 04 68 83 93 85
Fax : 04 68 68 65 71
E-mail : m.steiner@pure-environnement.com

F(PRC)06/B

# RAPPORT D'ANALYSE

**N° : O1202227-20-4**

**GIE ICV-VVS**
**Centre Oenologique de Maurin LA JASSE DE MAURIN**
**34970 LATTES**

à l'attention de Mme. Lucile PIC

Perpignan, le 28 Février 2012

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dossier n° : | OF201202227 | Échantillon n° : | O1202227-20-4 |
| Date de réception : | 20/01/12 | Référence client : | 011-11 19/8 |
| Désignation de l'échantillon : | Liquide | | |
| État à réception : | rien à signaler | | |

**Objet de l'essai :** Recherche et dosage du steviol, stevioside et Rebaudioside A dans un échantillon de liquide.

**Préparation de l'échantillon :** Prise d'essai de 20 mL. Purification sur cartouche SPE. Analyse par HPLC avec détection à l'UV (202 nm).

| PARAMÈTRES ANALYSÉS | Méthodes | Résultats** | Unités | LDQ* |
|---|---|---|---|---|
| Steviol + Stevioside | **Interne** | 13,87 | mg/L | 2,50 |
| Rebaudioside A | **Interne** | 71,08 | mg/L | 1,25 |

(*) LDQ : Limite de quantification

(**) Echantillon très visqueux, saturation de la cartouche SPE envisageable, valeurs calculées sous réserve.

*Avertissement : Les échantillons sont analysés en leur état de réception. Le présent rapport d'essai ne concerne que les prélèvements soumis à l'essai.*

*La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous la forme de fac-similé photographique intégral. Il comporte 1 page.*

Visa du Responsable des analyses

Signature numérique de Matthieu CARRERE

Ingénieur Chimiste