



Vinification sans SO₂
Utilisation de Bio-protection
en phases pré-fermentaires

Projets
Bioprotection/RESPECT et
vin de Bordeaux sans SO₂

Introduction

Les projets

WILDWINE
2012/2015

Caractérisation et sélection de levures et bactéries pour réalisation de levain mixte avec notamment Levures Non saccharomyces

Bioprotection
2016/2017

Evaluation d'outils microbiologiques pour réaliser des vinification sans SO2

RESPECT
2017/2020

Vins sans SO2
Caractérisation, nouveaux outils d'analyses, outils microbiologique et physique pour réaliser des vin sans SO2 de la vinification à la mise en bouteille

2012

2020

CASDAR Levain Bio
2012/2015

Levures et bactéries indigènes
Analyse de la diversité
Fermentation et sélection

Brettanomyces et la tolérance au SO2
?/?

Caractérisation Brettanomyces
identification propriété et analyses

VINS de BORDEAUX SANS SO2
2017/2020

Cofinancement CIVB de respect

Pied de Cuve indigène pour les fermentation Malolactique
2017/2020

Suite Casdar Levain Bio sur la partie Bactérie

Partenaires bioprotection



Partenaires RESPECT/Vin de BORDEAUX sans SO2

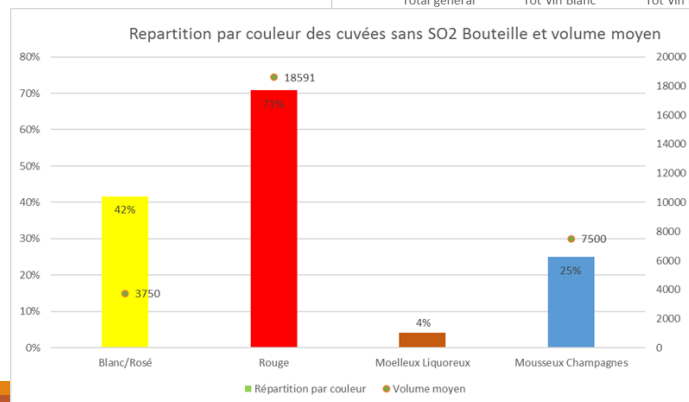
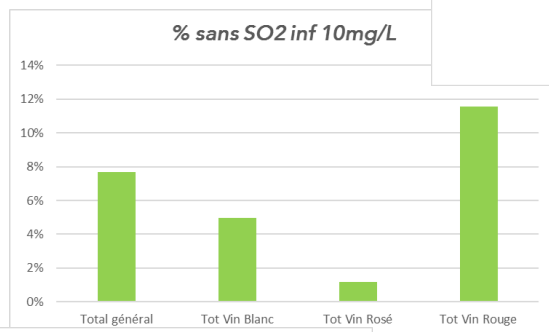


Les Financeurs

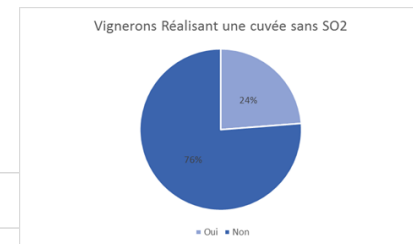
Contexte



Font: ITAB – Étude sur les niveaux de SO2 des vins bio en France (2015)



Font: ITAB – Enquête sur les pratiques œnologiques 2017



Une forte volonté de réduction et de réalisation de vin Sans Sulfite ajouté

Mention « Vin sans sulfites ajoutées »

“Elle pourra apparaître sur l’étiquette de tout vin, dès lors que l’opérateur peut prouver qu’aucun sulfite n’a été utilisé dans la fabrication du produit. Toutefois si les teneurs en sulfites sont $\geq 10\text{mg/l}$ (SO_2T), la mention « contient des sulfites » est obligatoire.”

Font: OIV

Développement de nouveaux outils à évaluer

Bio-protection



Objectif: occuper le milieu (moût) rapidement pour les compétiteurs et éviter le développement des organismes indésirables

- De plus en plus d’information sur levures Non-*Saccharomyces* et ses avantages
- Au niveau du Bio-protection il y a peu information scientifique (info commercial)

La réduction voire l’absence du SO2 pose néanmoins des questions techniques aux vignerons :

- Gestion des fermentations et de l’élevage
- Maîtrise des phénomènes d’oxydation
- Maitrise des déviations microbiennes
- Préservation de la typicité des vins
- Aptitude au vieillissement des vins

Bioprotection

Paramètres d'étude du projet

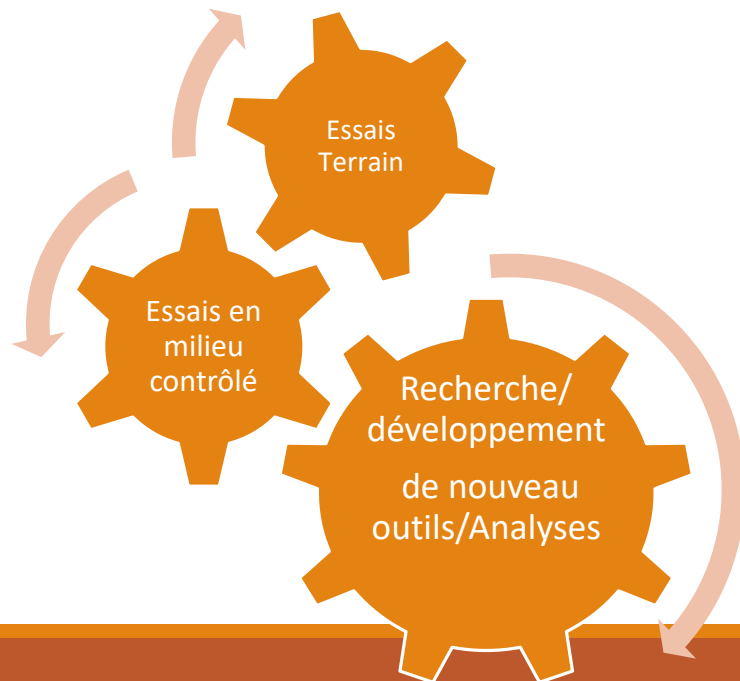
« Evaluation de l'impact d'outil de vinification sans SO₂ dont des préparations de type « bio protection » à base de levures *Sacch-* et/ou *Non-Saccharomyces* dans le but de vinifier des vins sans SO₂. »

Impact sur l'occupation de l'espace microbiologique
(levures + bactéries)

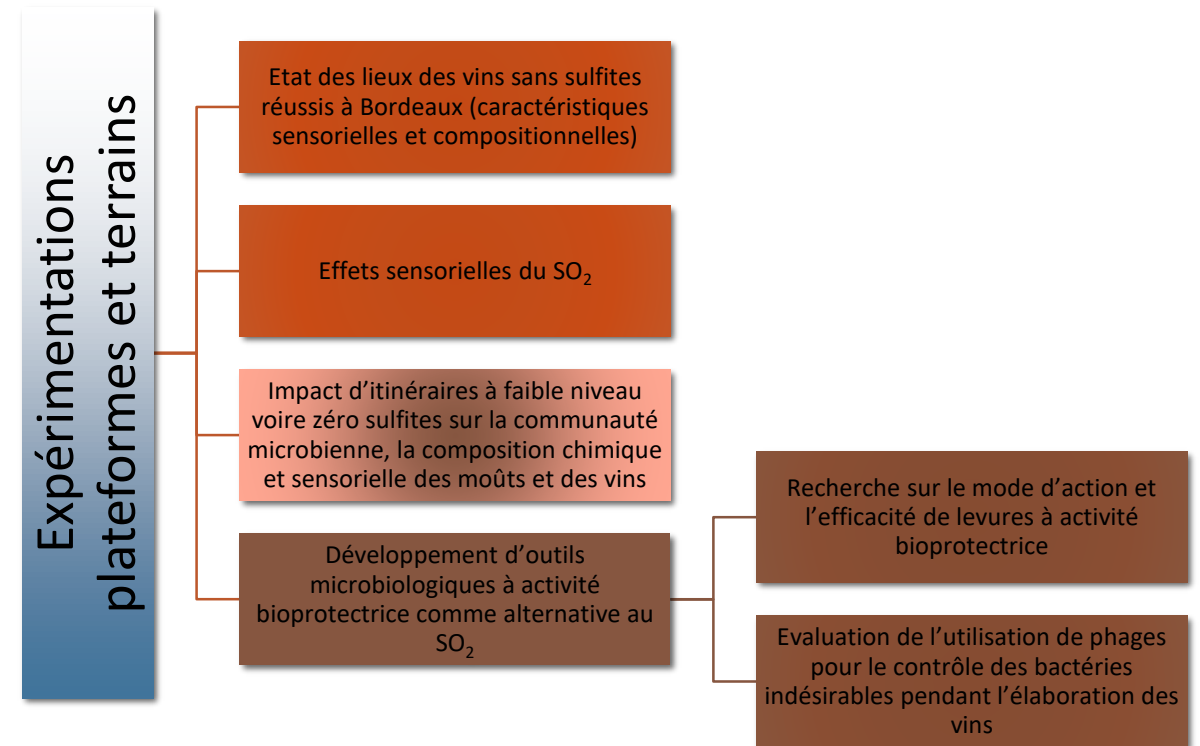
Impact sur l'oxydation des moûts et des vins

Impact sur la fermentation alcoolique

Impact aromatique



Respect/Vin de Bordeaux sans SO₂



Bioprotection

Microvinification ISVV

Vin blanc

Sauvignon Blanc

- Sulfitage 5gr/Hl
- 5gr/Hl Primaflora VB avant pressurage
- Zéro ajout
- 5gr/Hl Zymaflore X5 avant pressurage

mini cuve de 4,5L

Zymaflore X5 20gr/Hl

Différentes Cépages : Sauvignon/Sauvignon Blanc/Merlots/Cabernet Franc

Modalité Sans SO2

Modalité avec SO2

Bioprotection vendange

Bioprotection Mout

Différentes souches de non saccharomyces

Ensemencement précoce en saccharomyces

Levurage

	Château La Conseillante	Château Carbonnieux	Château du Bourdieu	
	Vin rouge	Vin blanc	Vin blanc	Vin rouge
Cépage	Merlot	Sauvignon Blanc	Sauv. Gris	Merlot
Modalités	2x -Sulfitage 3 gr/Hl -5gr/Hl Primaflora VB sur mout -Zéro ajout -LSA	2x -Sulfitage 5gr/Hl -5gr/Hl Primaflora VB avant pressurage -Zéro ajout -5gr/Hl Zymaflore X5 avant pressurage	1x -Sulfitage 5gr/Hl -5gr/Hl Primaflora VB sur mout	1x -Sulfitage 3gr/Hl -5gr/Hl Primaflora VR sur mout
FA	8 Barriques 400 hl	8 Barriques (250L)	2 Cuves ciment 60 Hl	2 Cuves inox 110 Hl
Lévurage	Excellence XR 15 gr/Hl	Zymaflore X5 20 gr/Hl	Zymaf. X5 20gr/Hl	Fermol Rouge à 15 gr/Hl

Respect/Vin de bordeaux sans SO2

2017

	IFV	ISVV
	Vin rouge	VIN BLANC
	15/09/17 ET 22/09/17	
Cépage	Merlot	Sauvignon Blanc
Modalités	2x - Sulfitage 5g/hL - Sulfitage 2,5g/hL - Zéro ajout - Zymaflore Egide 5g/hL sur vendange	IDEM - Sulfitage 5g/hL - Pas sulfitage - Zéro ajout - BioProtection 5g/hL
FA	21,30 L	4,5hL
FA	F33 20g/hL	Zymaflore X5 20g/hL
FML	Vitilactic F1 1%	

	CHATEAU LA CONSEILLANTE	AMPELIDAE
	In situ	In situ
	Vin rouge	VIN BLANC
Cépage	Merlot	Sauvignon Blanc
Modalités	2x - Sulfitage 5g/hL - Zéro ajout - Zymaflore Egide 5g/hL sur vendange	2x - Sulfitage 5g/hL - BioProtection 5g/hL
FA	Barriques Vinification Intégrale 225L	Barriques 225L
FA	Excellence XR 15g/hL	Zymaflore X5 20g/hL
FML		

2018

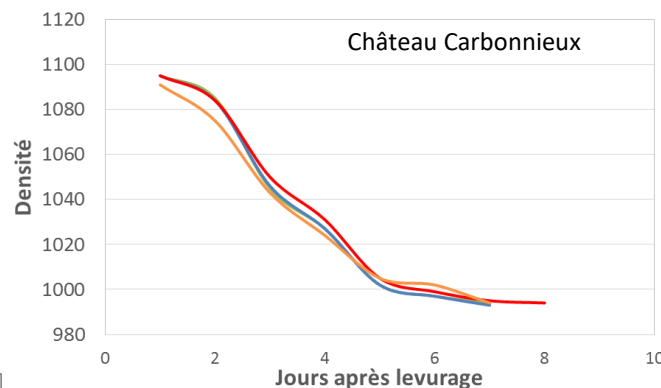
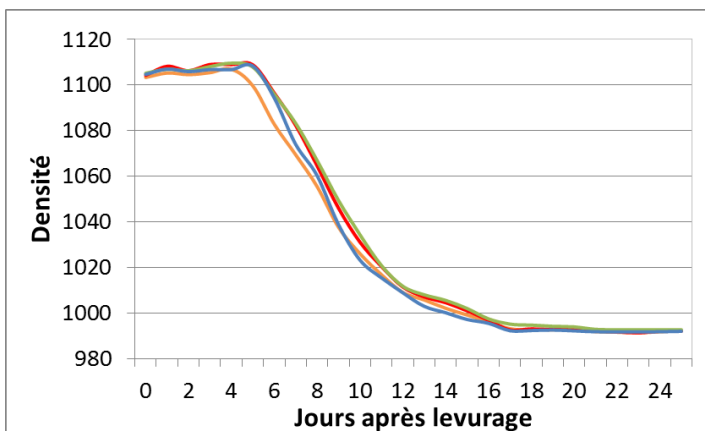
Château Du Bourdieu	Château Luchey Halde	IFV		ISVV	Château Luchey Halde	Château La Conseillante
Sauvignon Gris	Sauvignon Blanc	Merlot		Merlot	Merlot	Merlot
Modalités : en duplicat essai en barriques	Modalités : en duplicat essai en barriques	Modalité en duplicat cuve de 30 l		Modalités : en duplicat	Modalités : en duplicat essai en barriques	Modalités : en duplicata
-ajout Bio Protection Zymaflore EGIDE sur vendange (5g/hL)	-Modalité avec SO2 (5g/hL)	Date de récolte normale du domaine	maturité + 10 Jours surmaturité	- zéro ajout	-LSA à 5g/hl sur vendange s	-ajout Bio Protection sur vendange 5g/hl
-ajout SO2 (5g/hl)	-Modalité sans SO2	ajout Bio Protection 1 Zymaflore EGIDE sur vendanges (5g/hL)		- ajout SO2 5g/hl	-zéro ajout	-zéro ajout
-Sans SO2	-Modalité Bioprotection Zymaflore EGIDE (5g/hL)	ajout Bio Protection 2 Excellence nature sur vendanges (5g/hL)		-Bioprotection Zymaflore Egide sur vendanges (5g/hL)	-ajout SO2 5g/hl	-ajout SO2 5g/hl
		- Sans SO2		- Bioprotection Zymaflore Egide sur vendanges (5g/hL) + phages (un cocktail de 3 phages virulents sera ajouté à ~75% de la FA pour remédier aux FML sous marc : duplicatas ?)	-Bioprotection Zymaflore Egide à 5g/hl sur vendanges	
		-ajout SO2 (5g/hL)		- Bioprotection Lachancea thermotolerans sur vendanges (5g/hL)		
X5 à 20g/hl	X5 à 20g/hl	F33 à 20g/hl		F33 à 20g/hl	15g/hL pour la modalité « LSA sur vendanges » ; les autres modalités seront levurées avec F33 à 20g/hl	Excellence XR à 15gr/Hl

Résultats Bioprotection

Fermentations

Pas de grande variation des courbes de fermentation entre les différentes modalités.

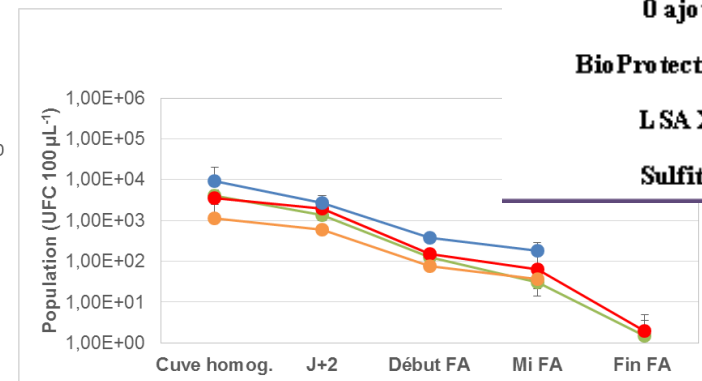
Château La Conseillante



Bactéries acétiques

Au niveau des acidités volatiles les valeurs sont corrects.

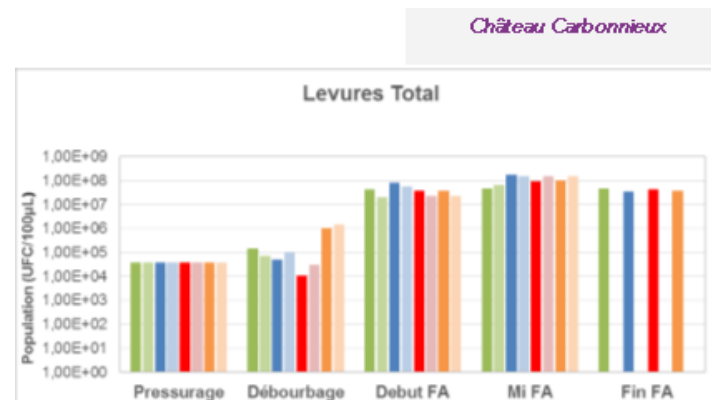
	AT	AV
0 ajouts	4,55	0,280
BioProtection moût	4,75	0,345
LSA XR	4,45	0,355
Sulfitage	4,75	0,315



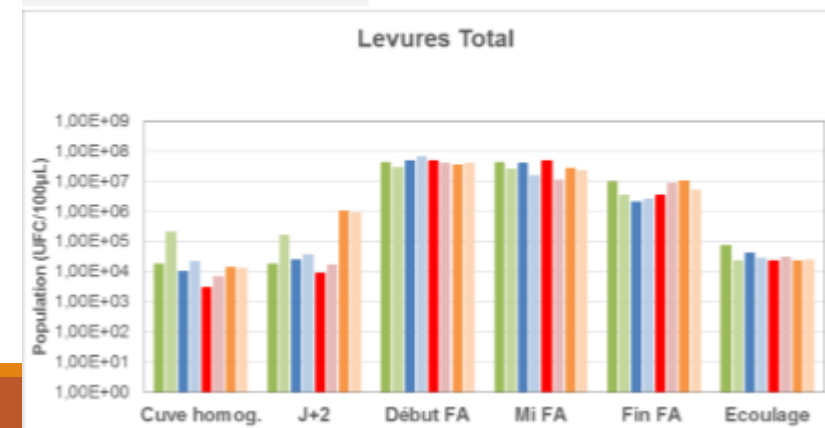
Château La Conseillante

Dénombrement microbiologique

Les modalités sulfités subissent une diminution des levures totales ce qui est logique et les modalités LSA une augmentation plus rapide dû à une implantation plus précoce de saccharomyces plus adaptée au milieu

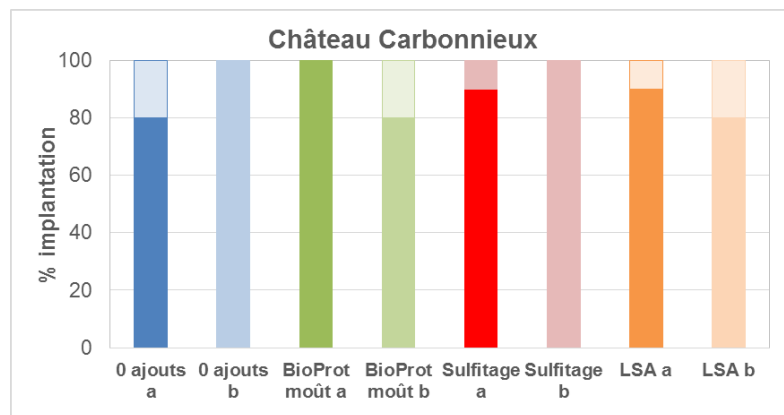


Château La Conseillante



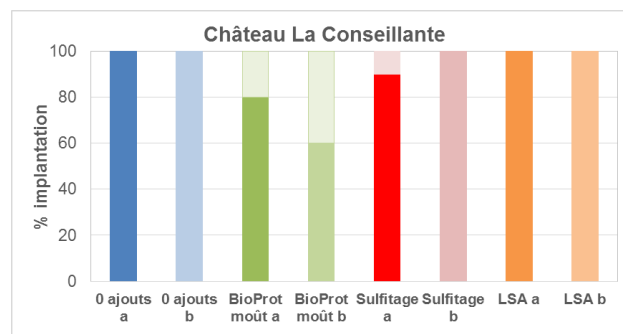
Contrôle d'implantation

Non Saccharomyces

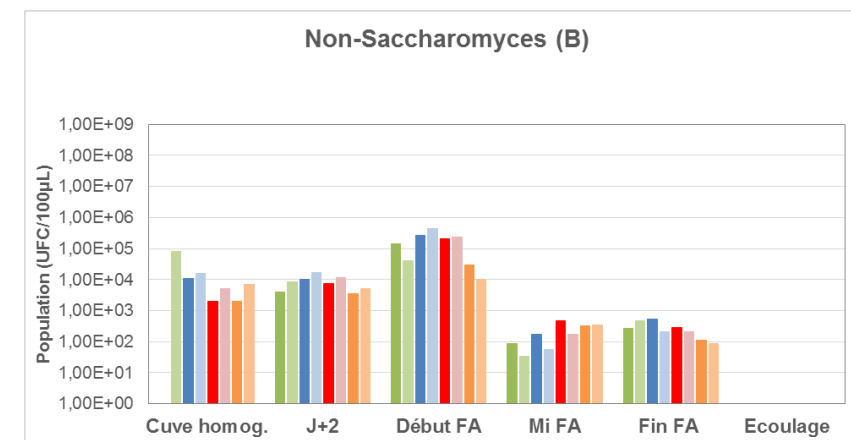


Globalement nous constatons une bonne implantation de la souche de *Saccharomyces cerevisiae* inoculé par levurage.

La Conseillante :
Mauvaise implantation sur les 2 répétitions de la modalité bio protection Cela explique le retard au démarrage de la fermentation que nous avons constaté.



L'explication vient sans doute en partie à la présence d'un mélange sach/non sach dans la bio protection. La *saccharomyces* présent dans la bio protection ayant perturbé la *sacharomyces* utilisé pour la fermentation



A la Conseillante

L'implantation des non-saccharomyces en modalité bio protection semble bonne avec des niveaux plus élevés.

Les résultats du dénombrement microbiologique montrent un effet significatif sur population Non-Saccharomyces au début FA dans les modalités Bioprotection et LSA XR.

Par contre nous trouvons des populations plus élevées pour les modalités zéro ajouts et sulfitee au cours de la fermentation.

Résultats RESPECT

Objectif : Comparer des itinéraires pauvres en sulfites afin de rechercher des solutions alternatives à leur utilisation et ainsi diminuer leurs teneurs finales dans les vins.

Essai: merlot AOP Bordeaux rouge 2017

1 ^{ère} date de récolte	2 ^{ème} date de récolte
Modalité 1 : SO2 5g/hL	Modalité 1 : SO2 5g/hL
Modalité 2 : SO2 2,5g/hL	Modalité 2 : SO2 2,5g/hL
Modalité 3 : Sans SO2	Modalité 3 : Sans SO2
Modalité 4 : Bioprotection NS vendange+sans SO2	Modalité 4 : Bio protection NS vendange + sans SO2

Vins rouges de Bordeaux sans SO2

Itinéraire technique - Date 1 et 2

	Modalités			
	M1 (S)	M2 (1/2S)	M3 (O)	M4 (BV)
V	Vendange			
	Chambre froide à 4°C			
J 0				Zymaflore Egide 5g/Hl sur vendange
	Eraflage - Foulage - Encuvage			
	SO2 5g/Hl	SO2 2,5g/hL		
J+1	Mise à 10°C			
J+2	Levurage F33 20g/Hl			
	FA 26-28°C			
Fin FA	Dosage des sucres + Inertage			
Ecoulage	Hygiène irréprochable et inertage			
	Assemblage des triplicats pour faire des duplicats			
FML	Vitolactic F 1%			
Fin FML	SO2 5g/Hl (SO2 27 mg/L SO2 libre)	SO2 2,5 g/Hl (SO2 13 mg/L SO2 libre)		
Elevage	Contrôle SO2 + Dégustation des modalités			
	Contrôle SO2, soutirage mise au froid 15j fin Déc. , Hygiène + Inertage			
	Contrôle SO2 / soutirage Hygiène + Inertage tous les deux tt			
Filtration	Cartouche: 5 et 1 micron	Cartouche: 5 et 1 micron	Cartouche: 5 et 1 micron	Cartouche: 5 et 1 micron
Mise en bouteille	25 mg/L SO2 libre	13 mg/L SO2 libre		
Bouchage	Bouchage synthétique			

Prélèvements et analyses - Date 1 et 2

- Paramètres contrôlés:
 - Contrôles analytiques à différents stades: sur moûts, sur vins fin FA, fin FML, en élevage
 - Contrôles microbiologiques (LT,BT,NS) aux mêmes stades
 - Analyses sensorielles à la mise et après un an de conservation en bouteilles.

Fermentation alcoolique

	Modalités	Temps de latence	Durée de FA
DATE I	Modalité 1 : SO2 5g/hL	1 jour	10 jours
	Modalité 2 : SO2 2,5 g/hL	1 jour	10 jours
	Modalité 3 : SO2 sans SO2	1 jour	10 jours
	Modalité 4 : Bioprotection	1 jour	10 jours
DATE II	Modalité 1 : SO2 5g/hL	2 jours	11 jours
	Modalité 2 : SO2 2,5 g/hL	2 jours	11 jours
	Modalité 3 : SO2 sans SO2	2 jours	11 jours
	Modalité 4 : Bioprotection	2 jours	11 jours

Analyses oenologiques après FA – Date 1

Nature de l'analyse	Modalités											
	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3	4.1	4.2	4.3
TAV (% vol)	13,40	13,50	13,55	13,30	13,50	13,55	13,50	13,50	13,50	13,30	13,40	13,40
AT (g/L H ₂ SO ₄)	3,80	3,80	3,90	3,80	3,90	3,90	3,90	3,90	4,00	3,90	3,80	4,00
AV (g/L H ₂ SO ₄)	0,14	0,14	0,13	0,15	0,16	0,13	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15	0,14
SO2 Libre (mg/L)	10	10	10	6	6	6	6	6	6	6	6	6
pH	3,64	3,65	3,64	3,63	3,63	3,63	3,60	3,60	3,61	3,61	3,64	3,61
Acide malique (g/L)	1,9	1,9	1,9	1,8	1,8	1,8	1,9	1,9	1,9	2,0	2,0	2,0
IPT	52	54	52	48	48	54	50	51	51	49	49	49
Brett. (UFC/ml)	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0

Vins rouges de Bordeaux sans SO2

Analyses oenologiques après FA – Date II

Nature de l'analyse	Modalités								
	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2	4.1	4.2	4.3
TAV (% vol)	14,10	14,30	14,10	14,30	14,00	14,20	14,00	14,20	14,15
AT (g/L H ₂ SO ₄)	3,70	3,80	3,80	3,80	3,80	3,90	3,80	3,90	3,90
AV (g/L H ₂ SO ₄)	0,10	0,10	0,10	0,09	0,09	0,08	0,10	0,10	0,09
SO2 Libre (mg/L)	10	10	6	6	6	6	6	6	6
pH	3,72	3,72	3,70	3,70	3,69	3,69	3,68	3,68	3,68
Acide malique (g/L)	1,9	2,0	1,9	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
IPT	64	64	66	67	62	64	62	63	62
Brett. (UFC/ml)	0	0	0	0	<1	0	0	0	0

Vins rouges de Bordeaux sans SO2

Analyses oenologiques après FML à la mise – Date I

Nature de l'analyse	Modalités							
	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2	4.1	4.2
AT (g/L H ₂ SO ₄)	2,9	3,0	3,2	3,0	2,9	3,0	3,0	3,0
AV (g/L H ₂ SO ₄)	0,21	0,21	0,24	0,26	0,24	0,24	0,26	0,26
SO2 Libre (mg/L)	20	24	14	10	0	0	0	0
SO2 Total (mg/L)	68	69	19	15	5	1	1	1
Anthocyanes (mg/L)	417	461	347	353	325	332	300	349
pH	3,69	3,68	3,68	3,68	3,66	3,66	3,67	3,67
ICM corrigée (sous 1mm x 10)	12,50	12,75	11,94	11,98	12,40	12,78	12,12	12,23
IPT	48	49	47	48	47	48	46	47

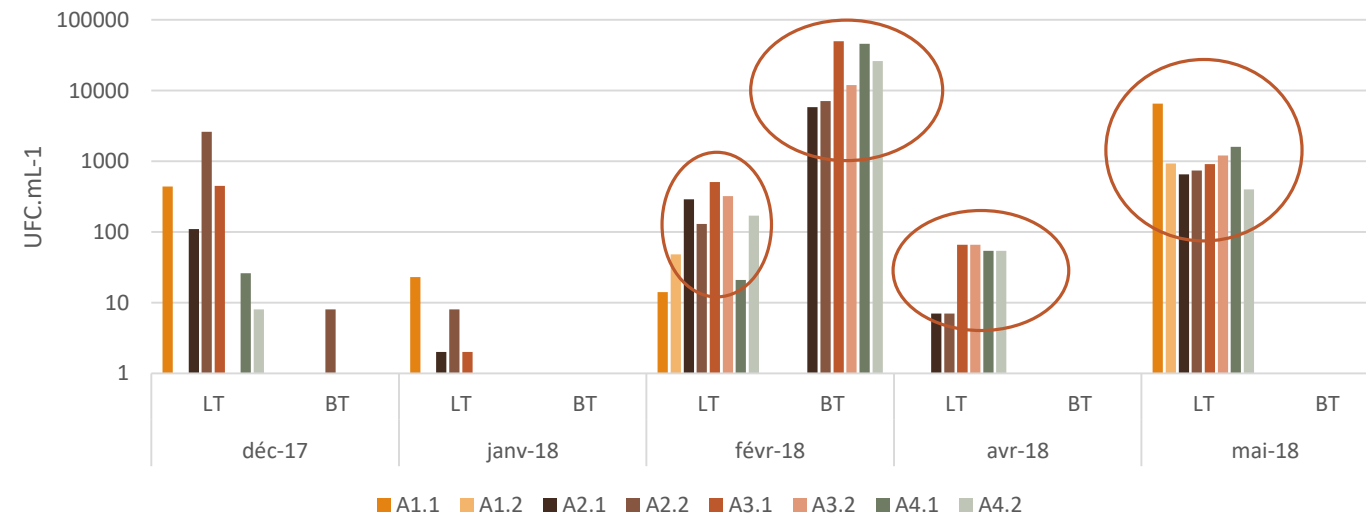
Analyses oenologiques après FML à la mise – Date II

Nature de l'analyse	Modalités							
	1.1	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2	4.1	4.2
AT (g/L H ₂ SO ₄)	3,0	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1
AV (g/L H ₂ SO ₄)	0,18	0,18	0,20	0,21	0,23	0,23	0,24	0,24
SO ₂ Libre (mg/L)	25	30	16	16	0	0	0	0
SO ₂ Total (mg/L)	74	78	35	35	3	1	1	1
Anthocyanes (mg/L)	480	515	450	445	382	351	328	318
pH	3,77	3,76	3,75	3,75	3,75	3,76	3,76	3,76
ICM corrigée (sous 1mm x 10)	14,25	14,97	14,83	14,98	14,46	14,30	14,30	14,43
IPT	59	60	59	58	59	58	58	58

Vins rouges de Bordeaux sans SO2

Suivi microbiologique LT/BT

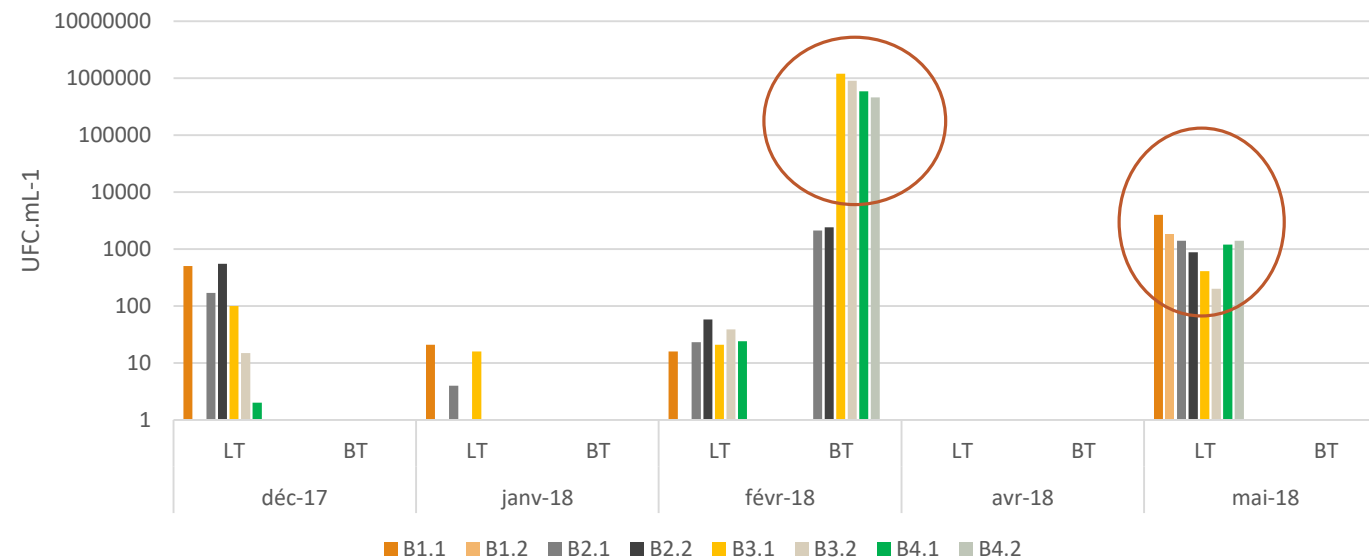
Suivi microbiologique - Essais réduction des sulfites 2017 -
DATE 1 - IFV Bordeaux Blanquefort



Vins rouges de Bordeaux sans SO2

Suivi microbiologique LT/BT

Suivi microbiologique - Essais réduction des sulfites 2017 -
DATE 2 - IFV Bordeaux Blanquefort

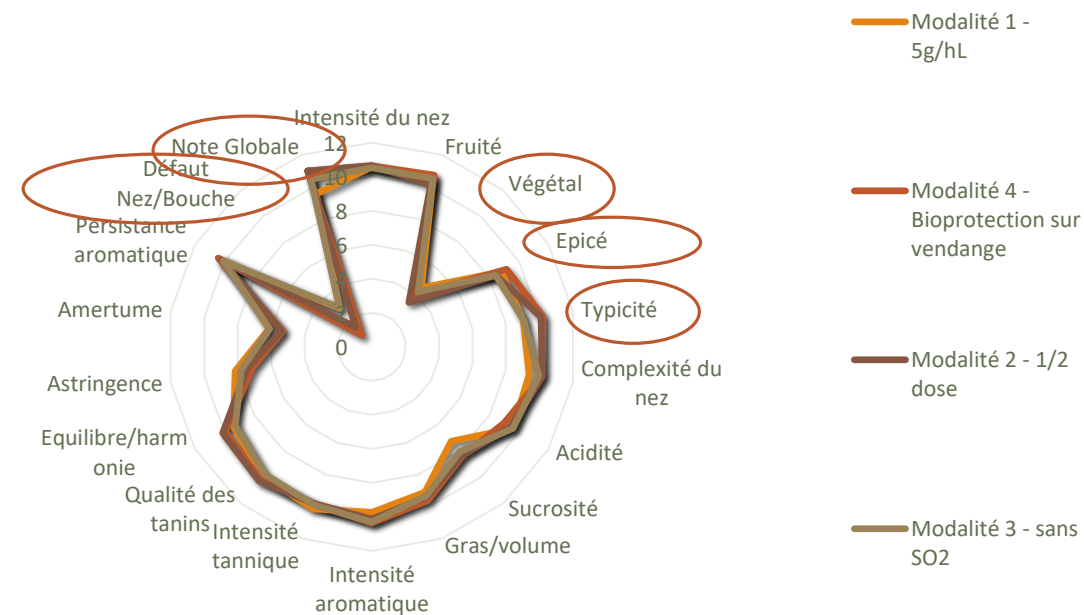
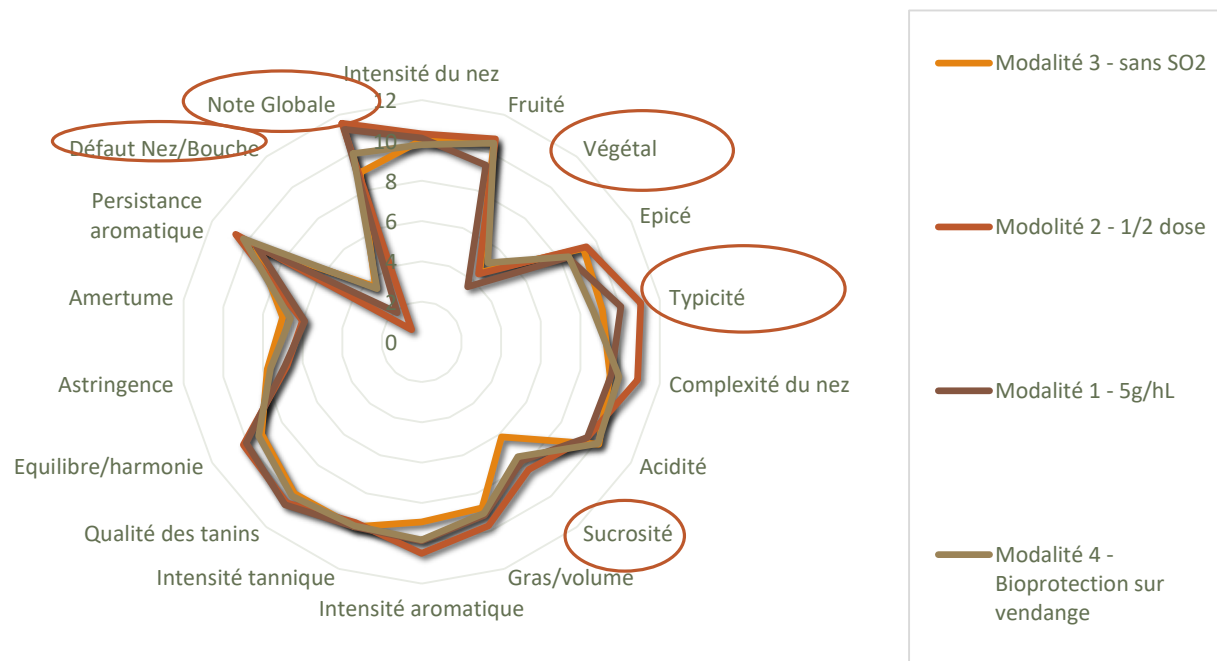


Vins rouges de Bordeaux sans SO2

Dégustation Essai 3 1472A-17 / Date 1

Essai 3 1472B-17 / Date 2

Dégustation du 24/04/2018



Rappel des questions posées dans le projet

Quelles sont les conséquences de la réduction voire l'absence de sulfitage en phase préfermentaire d'un point de vue microbiologique et chimique?

La bioprotection (par ajout de levure) peut-elle constituer une alternative aux sulfites durant les premières étapes de la vinification?

Rappel des questions posées dans le projet

Suivi microbiologique

Analyse des niveaux de population

Analyse de la diversité
(espèces, souches)

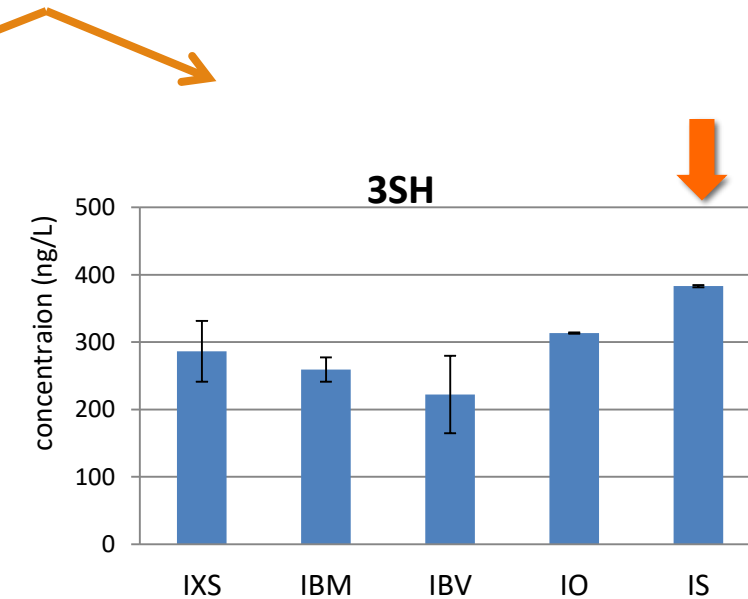
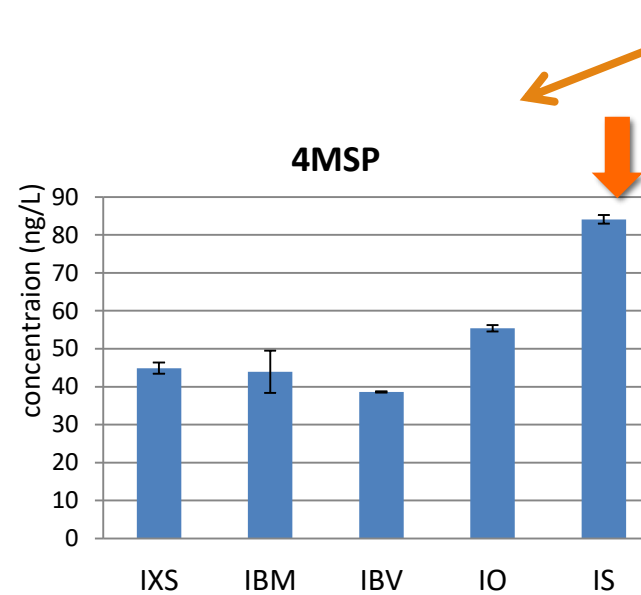
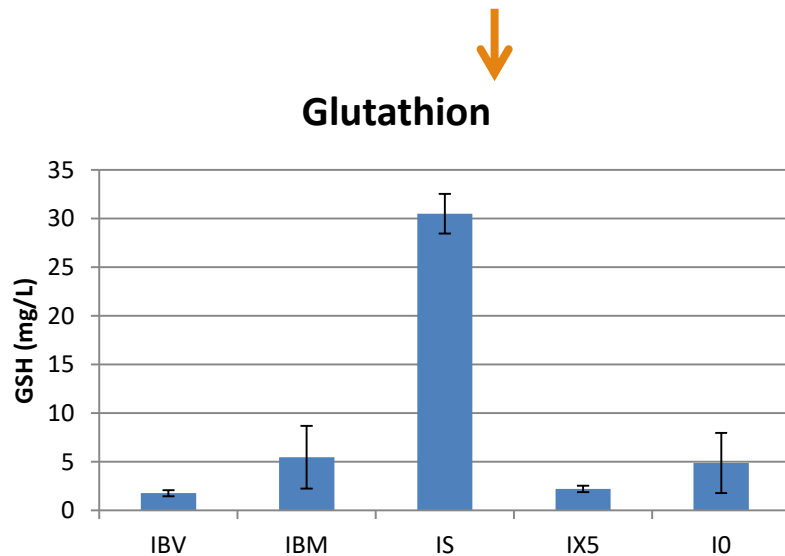
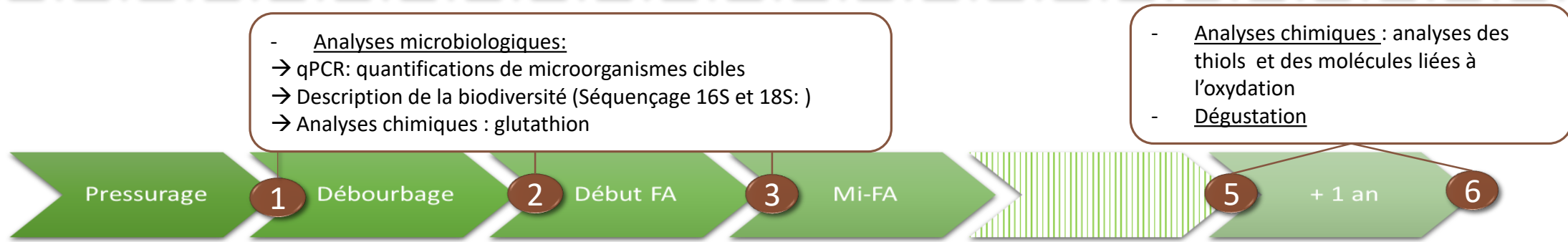
Suivi chimique et sensoriel

Dosage des composés volatils

Dosage des marqueurs de l'oxydation

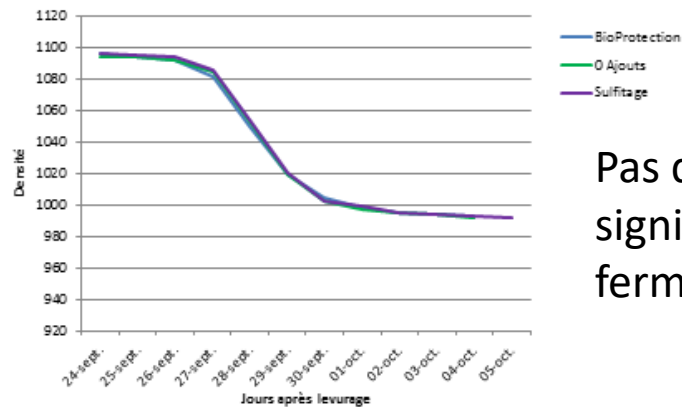
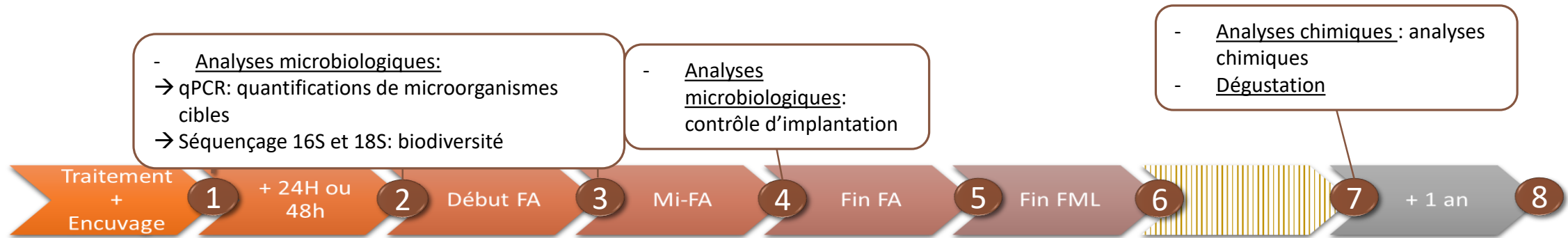
Dégustation

Vinification en Blanc : question de la protection du milieu vis à vis des phénomènes d'oxydation (Microvinifications-2017)



- Niveau plus élevé en GSH modalité sulfitée
- Les teneurs en thiols volatils sont impactées de manière identique en absence de SO₂ et en présence de bioprotection
- Pas de différences significatives entre modalités au niveau analyse sensorielle

Vinification en rouge: question de l'occupation de la niche, limiter le développement des microorganismes d'altération (Essai cave-2017)

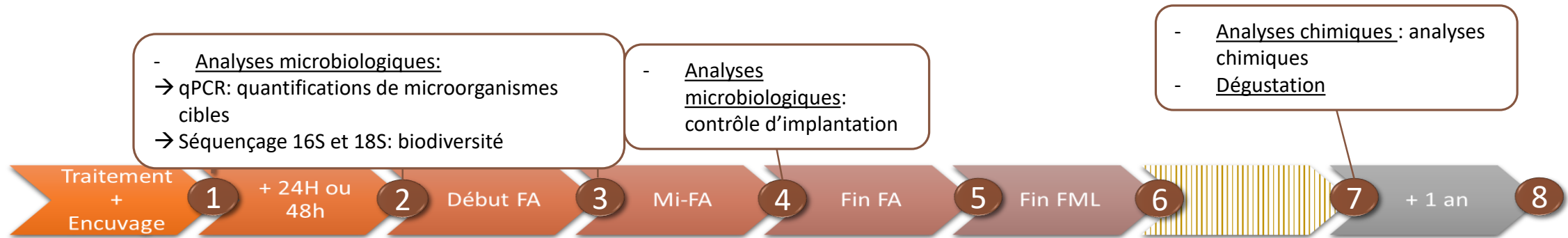


Pas de différences significatives: cinétique fermentaire

Mod	G+F g/l	AV	AM
BPA	0,1	0,33	<0,2
BPB	0,1	0,34	<0,2
OA	0,1	0,3	<0,2
OB	0,1	0,32	<0,2
SA	0,1	0,28	1,7
SB	0,1	0,28	1,6

Modalités sans sulfites et Bioprotection : FML sous marc

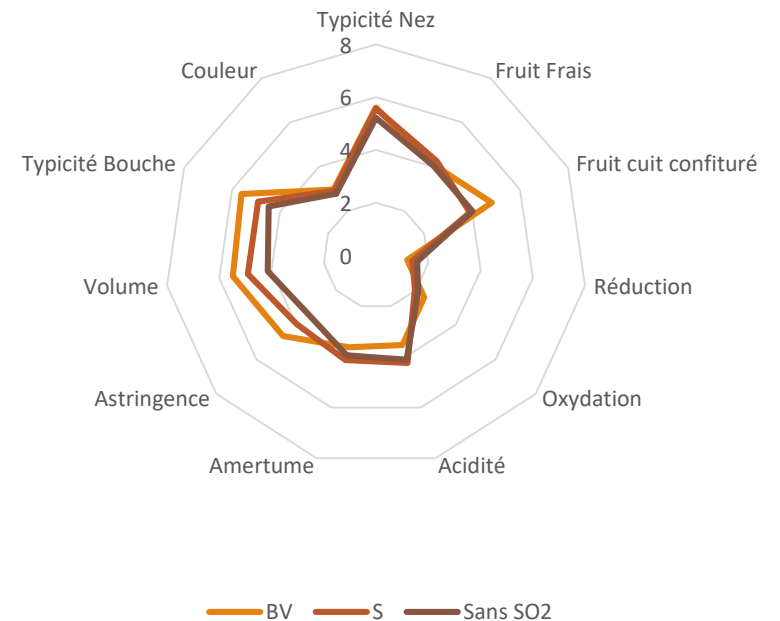
Vinification en rouge: question de l'occupation de la niche, limiter le développement des microorganismes d'altération (Essai cave-2017)



Analyses d'un grand nombre de composés aromatiques et dégustation :

- ♦Furanones, lactones, thiols, esters...
- ♦Analyses sensorielles

➔Aucune différence significative entre les modalités



Résultats Microbiologiques

Vinification en rouge: question de l'occupation de la niche, limiter le développement des microorganismes d'altération (Essai cave-2017)

- Analyses microbiologiques:

- qPCR: quantifications de microorganismes cibles
- Séquençage 16S et 18S: biodiversité

- Analyses microbiologiques:

- contrôle d'implantation

Traitement
+
Encuvage

1

+ 24H ou
48h

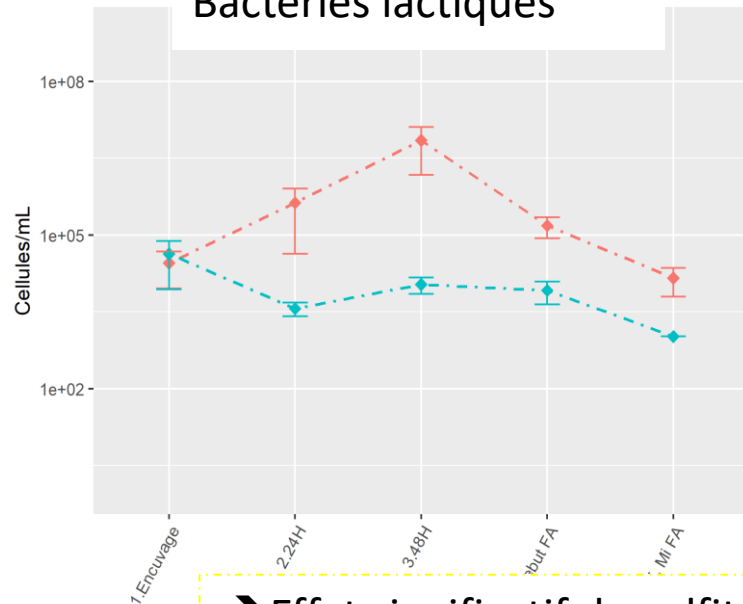
2

Début FA

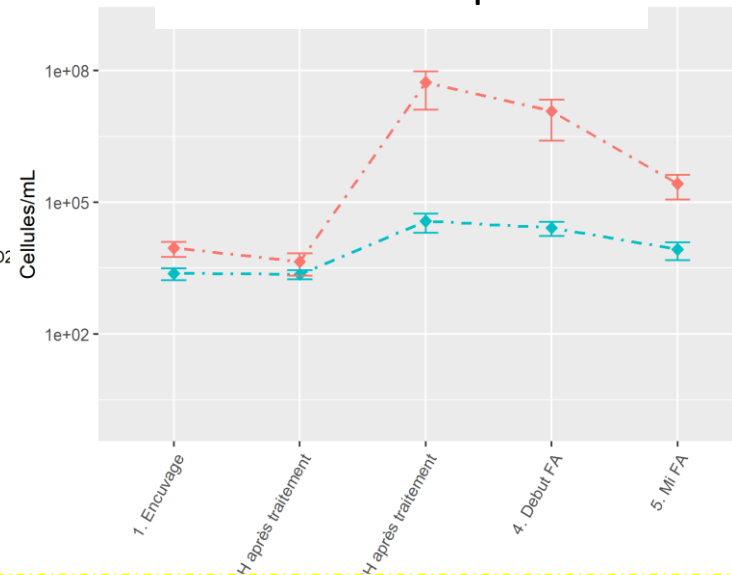
3

Mi-FA

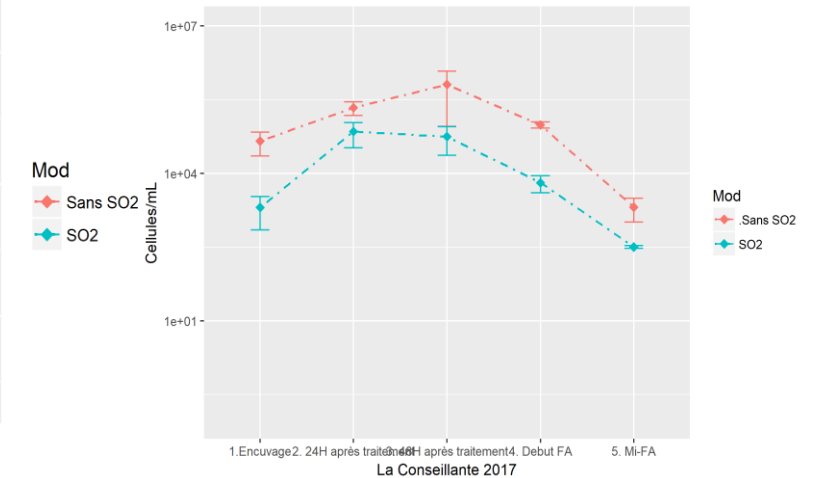
Bactéries lactiques



Bactéries acétiques



Hanseniaspora uvarum



➔ Effet significatif du sulfitage sur les niveaux de populations bactériennes et l'espèce *Hanseniaspora uvarum*.

Vinification en rouge: question de l'occupation de la niche, limiter le développement des microorganismes d'altération (Essai cave-2017)

- Analyses microbiologiques:
→ qPCR: quantifications de microorganismes cibles
→ Séquençage 16S et 18S: biodiversité

- Analyses microbiologiques:
contrôle d'implantation

Traitement
+
Encuvage

1

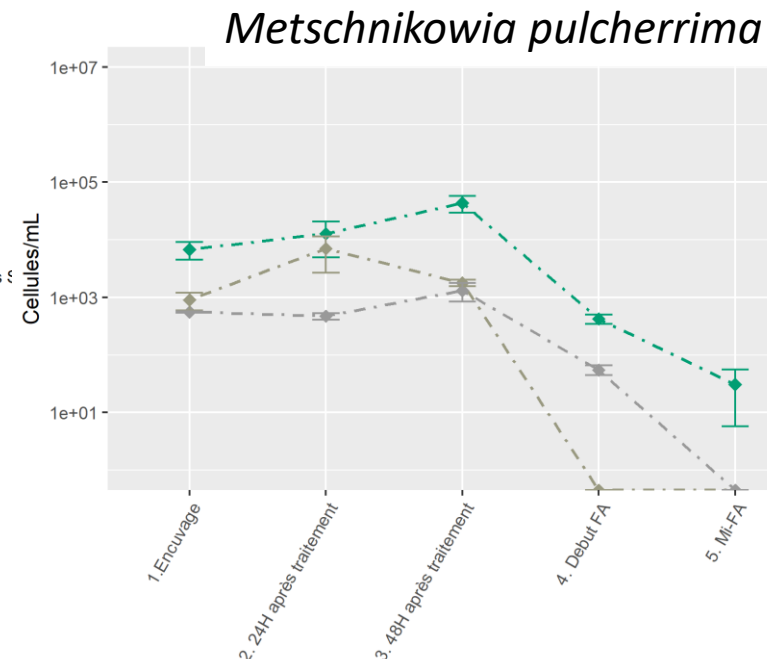
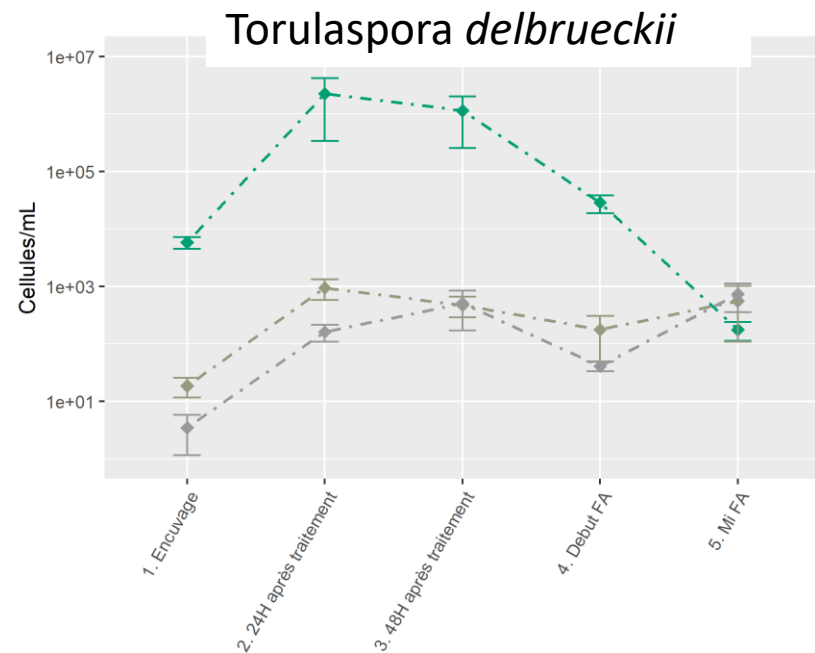
+ 24H ou
48h

2

Début FA

3

Mi-FA



Bioprotection : mélange *T. delbrueckii* et *M. pulcherrima*

➔ Implantation effective des levures non-*Saccharomyces* à activité bioprotectrice

Vinification en rouge: question de l'occupation de la niche, limiter le développement des microorganismes d'altération (Essai cave-2017)

- Analyses microbiologiques:
 - qPCR: quantifications de microorganismes cibles
 - Séquençage 16S et 18S: biodiversité

- Analyses microbiologiques:
 - contrôle d'implantation

Traitement
+
Encuvage

1

+ 24H ou
48h

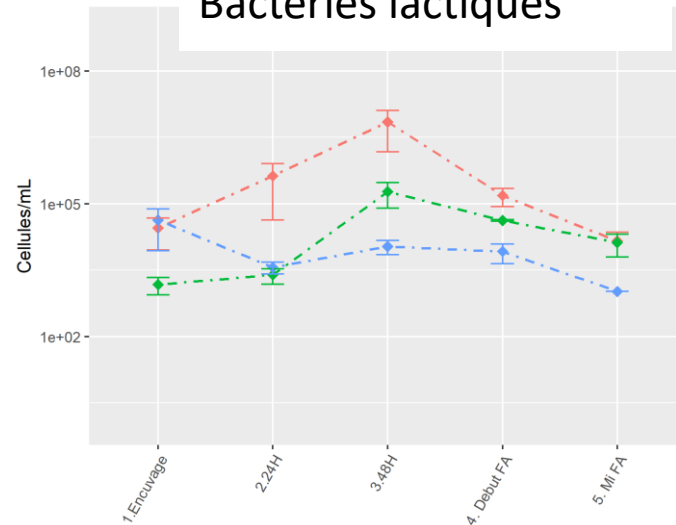
2

Début FA

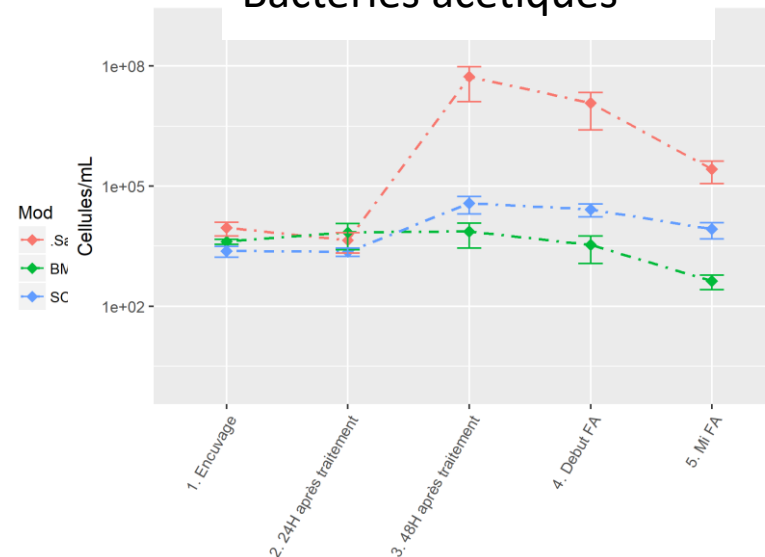
3

Mi-FA

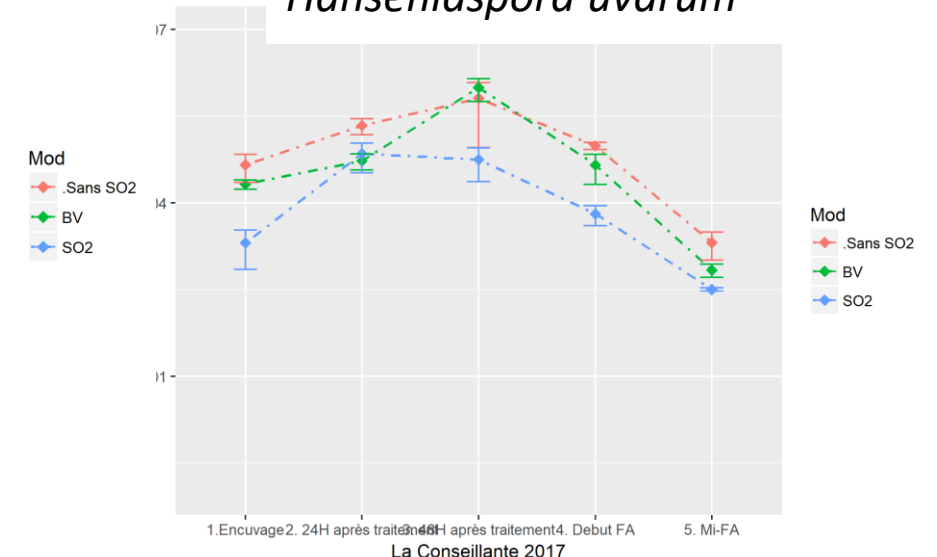
Bactéries lactiques



Bactéries acétiques



Hanseniaspora uvarum



➔ Effet significatif de la **bioprotection** sur les niveaux de populations bactériennes mais moindre sur les niveaux de populations d'*Hanseniaspora uvarum*.

Synthèse de ces premiers résultats

Dans nos conditions expérimentales (vendanges saines)

➔ pas de différences significatives entre les modalités du point de vue de la cinétique fermentaire et de l'analyse sensorielle

Résultats préliminaires

En vinification en blanc

➔ l'absence de sulfitage se traduit par une perte du potentiel antioxydant et de potentiel aromatique, qui n'est pas compensée par l'utilisation de Bioprotection.

En vinification en rouge

➔ effet significatif de la bioprotection sur les niveaux de populations de bactéries lactiques et acétiques probablement lié à l'occupation de la niche

Poursuite des analyses pour les expérimentations 2018 et l'interprétation des résultats obtenus en 2017...