

Valérie PLADEAU (Sudvinbio) | Lucile PIC (ICV) | Philippe COTTEREAU (IFV) | Nicolas RICHARD (Inter Rhône)

Bioprotection

et gestion des fermentations alcooliques en bio

RÉSULTATS D'EXPÉRIMENTATIONS
EN LANGUEDOC-ROUSSILLON
(RÉGION OCCITANIE)

NOVEMBRE 2019



DOCUMENT RÉALISÉ AVEC LE SOUTIEN FINANCIER DE

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des partenaires du projet : les partenaires techniques qui ont mis en œuvre les essais en cave expérimentale, les laboratoires d'analyse et les vigneron (domaine de Valescure, le caveau d'Héracles, le château de Caraguilhes et le Domaine Cazes) qui ont testé en grandeur réelle la bioprotection tout au long du projet. Ils ont ainsi permis de tirer les conclusions essentielles et pratiques sur la bioprotection.

Nous remercions également le financeur du projet de recherche (la Région Occitanie) et les partenaires financiers qui nous ont permis d'éditer ce document (la Région Occitanie, l'Etat et l'Europe).

Merci aux collègues de Sudvinbio pour leur contribution à l'élaboration du document, Thierry et Chrystelle pour la relecture. Merci enfin à Alexandrine qui a su mettre en valeur cette brochure.

Projet de recherche et expérimentation régionale :
**« Maitrise et gestion innovantes
des populations microbiennes en bio »**

PARTENAIRES



FINANCEUR



Pourquoi ? ce document ?

La tendance à diminuer les apports de sulfites en vinification est toujours plus forte d'autant plus en bio !

Ce document fait la synthèse d'un travail réalisé dans le cadre du projet de recherche « **Maitrise et gestion innovantes des populations microbiennes en bio** », financé par la région Languedoc-Roussillon puis la région Occitanie. Le partenariat régional, coordonné par Sudvinbio et qui rassemble la Chambre d'Agriculture des Pyrénées Orientales, l'ICV, l'IFV, et Inter Rhône a permis de vinifier sur trois ans, de 2015 à 2017, plus de 70 modalités de bioprotection sur des cépages régionaux et de réaliser des tests en conditions réelles de vinification.

Ce document vise donc à proposer des solutions alternatives, efficaces au sulfitage pré-fermentaire, via la mise en œuvre de pratiques de bioprotection avec des levures non *Saccharomyces* mais également des levures *Saccharomyces*.

Concrètement, la multiplicité et la diversité des essais menés dans le cadre du projet ont permis d'évaluer l'efficacité globale d'une stratégie de bioprotection sur des vinifications types du Languedoc-Roussillon (Région Occitanie).

Les paramètres suivants ont pu être évalués :

- l'implantation et le niveau de colonisation des souches testées
- l'impact sur la réduction du niveau de la flore indigène en pré-fermentaire
- l'impact sur les cinétiques fermentaires, les paramètres analytiques et la qualité organoleptique des vins.

Ce document technique présente la synthèse des résultats obtenus et les recommandations de vinification en condition de non sulfitage des moûts en pré-fermentaire.

Valérie PLADEAU (Sudvinbio)
Lucile PIC (ICV)
Philippe COTTEREAU (IFV)
Nicolas RICHARD (Inter Rhône)

sommaire

p° 5 > 6

01. Flore indigène et risques microbiens associés

1. Diversité de la flore des raisins, du moût et du vin
2. Les altérations de la qualité des moûts et des vins, d'origine microbienne

p° 7 > 10

02. Les stratégies de bioprotection en Languedoc-Roussillon

1. Qu'est-ce que la bioprotection en œnologie ?
2. Les stratégies testées en bioprotection.
3. L'identification des populations microbiennes : une méthodologie d'analyse simple et représentative
4. Les protocoles de mise en œuvre de la bioprotection
5. Une innovation pratique : la non réhydratation des levures de bioprotection

p° 11 > 14

03. La bioprotection peut-elle maîtriser complètement le risque microbien ?

1. Le sulfitage: l'effet choc en pré-fermentaire
2. Le froid en pré-fermentaire : une solution à ne pas négliger
3. L'effet de la bioprotection en alternative au SO₂
4. La bioprotection sur des moûts fortement contaminés en *Hanseniaspora uvarum*

p° 15 > 18

04. Quel impact de la bioprotection sur les profils fermentaires ?

1. Peu d'écart entre bioprotection et témoin non sulfité dans les essais
2. La gestion de la nutrition azotée
3. Les conséquences sur la qualité organoleptique des vins

p° 19 > 22

05. La bioprotection avec des levures non *Saccharomyces* fermentaires

1. *Torulaspota sp.* s'implante dans la plupart des cas, mais...
2. *Torulaspota sp.* peut initier rapidement une activité fermentaire !
3. L'impact de *Torulaspota sp.* sur la cinétique fermentaire

p° 23 > 26

06. La bioprotection avec des levures non *Saccharomyces* peu ou pas fermentaires

1. Un bon taux de colonisation par les souches de *Metschnikowia sp.*
2. Cas des vinifications avec macération sur bourbes en pré-fermentaire
3. *Metschnikowia sp.* ne gêne pas l'implantation de la levure utilisée pour la fermentation

p° 27 > 29

07. La bioprotection avec des levures *Saccharomyces*

1. Une pratique simple et efficace à réserver aux vinifications en rouge
2. La gestion du départ en fermentation alcoolique
3. Relevage ou pas après la bioprotection ?

p° 30 > 31

08. Les bonnes pratiques de mise en œuvre de la bioprotection

1. Vinification en blanc et rosé
2. Vinification en rouge

p° 32 > 33

09. Foire aux questions

p° 34 > 38

10. Annexes

p° 39

11. Bibliographie

A background image showing a dense field of microscopic yeast cells, likely Saccharomyces cerevisiae, against a light green background. The cells are depicted as small, oval shapes with distinct outlines, some showing budding or chain-like arrangements.

01.

Flore indigène et risques microbiens associés

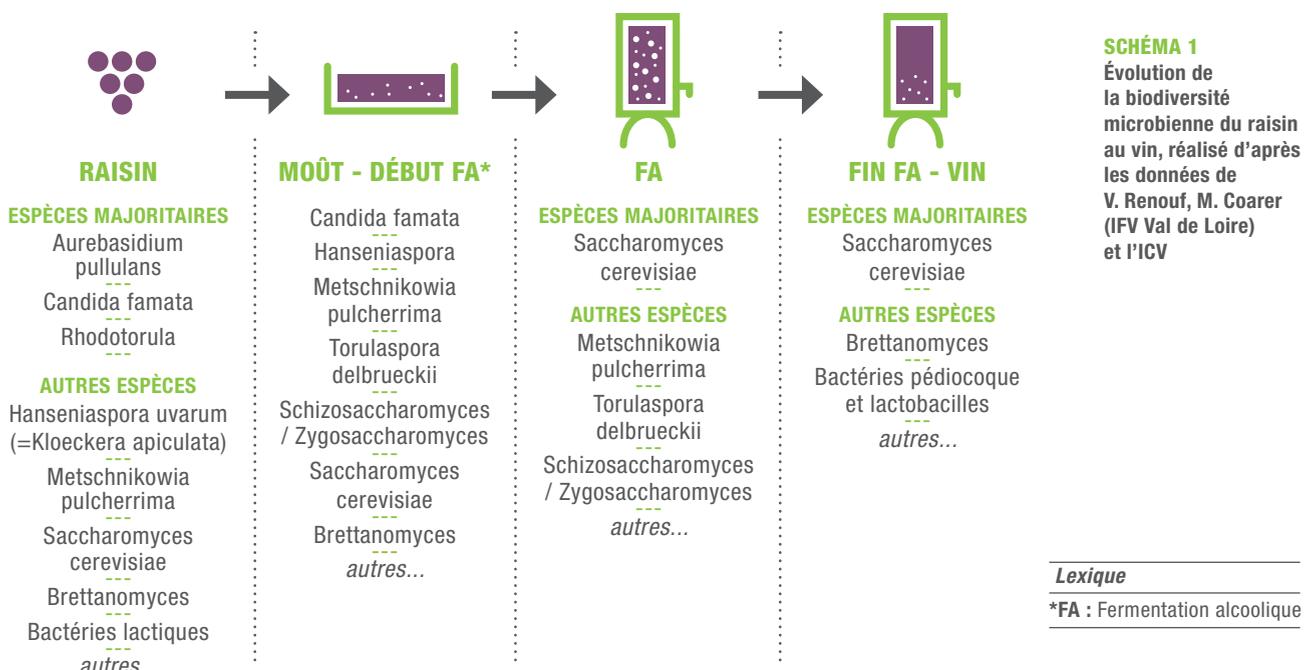
1. Diversité de la flore des raisins, du moût et du vin
2. Les altérations de la qualité des moûts et des vins, d'origine microbienne

1. Diversité de la flore des raisins, du moût et du vin

Les populations de microorganismes à la vigne sont composées de levures et de bactéries aérobies mais également de moisissures, de champignons et une multitude d'espèces méconnues en œnologie. La microflore connue en œnologie est présente au vignoble, sur raisin et au chai, mais reste minoritaire. On retrouve, des levures *Saccharomyces* et non *Saccharomyces*, des bactéries acétiques mais aussi, des germes d'altération (*Brettanomyces*, *pediocoque*...) (V. Renouf, 2006) et des bactéries lactiques (M. Coarer, 2002).

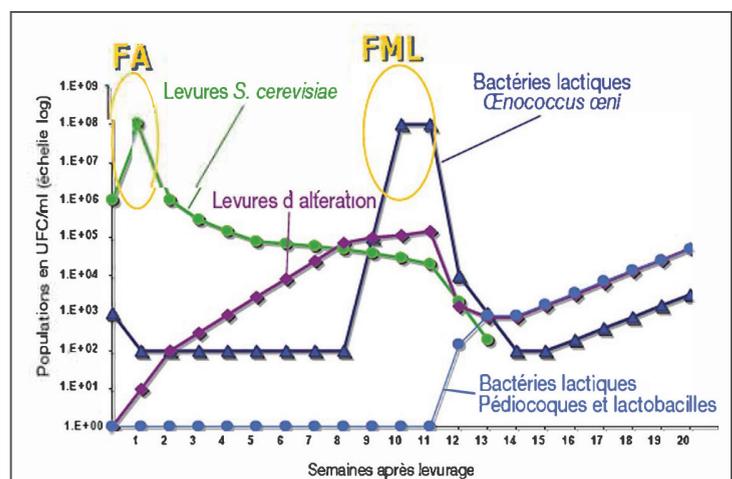
La population de souches de *Saccharomyces cerevisiae* retrouvée au vignoble se distingue génétiquement de celle retrouvée au chai (P. Lucas et al, 2015). Des transferts de souches bidirectionnels vignoble-chai sont supposés bien que limités dans le sens chai-vignoble. Ils semblent plus importants dans le sens vignoble-chai (travaux Casdar levain bio, 2016). Un équilibre des populations de levures semble s'opérer entre les deux pool (JL. Legras, 2018).

L'entrée du moût en cave et les changements rapides des conditions du milieu (variation de température, production d'alcool, SO₂, absence d'oxygène, niveau d'acidité et pH...) vont entraîner une sélection des populations microbiennes les plus résistantes aux facteurs environnementaux. Cette microflore va rapidement évoluer avec le changement d'état du raisin (moût, jus, accès au sucre).



2. Les altérations de la qualité des moûts et des vins, d'origine microbienne

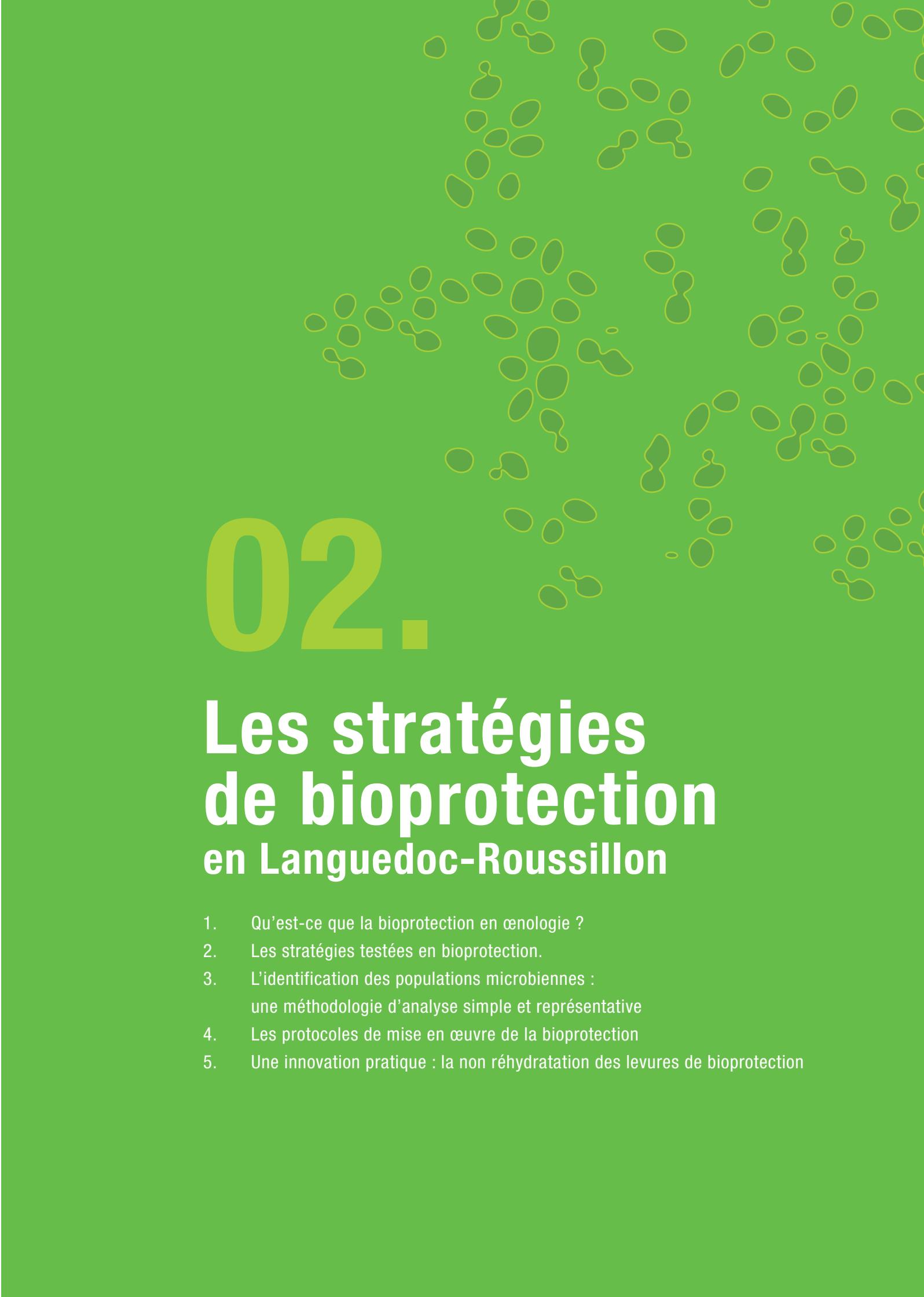
Les populations microbiennes, dont certaines responsables d'altérations (levures non *Saccharomyces* et/ou bactéries) trouvent dans le moût les conditions favorables à leur multiplication (oxygène, sucre) (annexe 1). La réduction ou la suppression de l'usage du SO₂ en pré-fermentaire a pour conséquence le maintien de cette flore potentiellement indésirable. Elle favorise son développement jusqu'à atteindre un seuil qui peut être préjudiciable à la qualité des produits. Certaines espèces (*Brettanomyces*, bactéries lactiques) plus résistantes au SO₂ et à l'éthanol peuvent également ressurgir en fin de fermentation alcoolique (FA) et provoquer d'autres altérations : en cas notamment de FA languissante et dans des conditions favorables (pH élevé ou niveau réduit de SO₂) (graph 1).



GRAPHIQUE 1
Schéma de la succession des flores dans le cas d'une cuve où la FA est languissante et la fermentation malo-lactique est longue à s'enclencher (source ICV)

Echelle logarithmique (log) :
L'échelle logarithmique place les valeurs sur l'axe en croissance exponentielle : des points écartés d'une même distance représentent des valeurs dans le même rapport.

1E+01 = 10
1E+02 = 100
1E+03 = 1000
1E+04 = 10 000
...

A background image showing a dense population of yeast cells, likely Saccharomyces cerevisiae, under a microscope. The cells are small, oval-shaped, and some are budding, appearing as light-colored outlines against a dark background.

02.

Les stratégies de bioprotection en Languedoc-Roussillon

1. Qu'est-ce que la bioprotection en œnologie ?
2. Les stratégies testées en bioprotection.
3. L'identification des populations microbiennes :
une méthodologie d'analyse simple et représentative
4. Les protocoles de mise en œuvre de la bioprotection
5. Une innovation pratique : la non réhydratation des levures de bioprotection

1. Qu'est-ce que la bioprotection en œnologie ?

La « nature a horreur du vide ! », les populations microbiennes sont continuellement « en compétition » pour occuper la place. Les conditions du milieu favorisent l'une ou l'autre des espèces d'une flore en perpétuelle évolution tout au long du processus de vinification !

En absence de sulfites, il est donc important d'occuper rapidement et intensément la place par une population microbienne connue et maîtrisable. C'est le rôle attendu de la bioprotection.

- Cependant, peut-on considérer la bioprotection comme une solution alternative complète au SO₂ ?
- Est-ce que la bioprotection garantit le biocontrôle des populations indigènes (c'est-à-dire la réduction significative de ces dernières) ?
- Peut-elle influencer sur les risques d'oxydation des moûts notamment en blanc et rosé ?

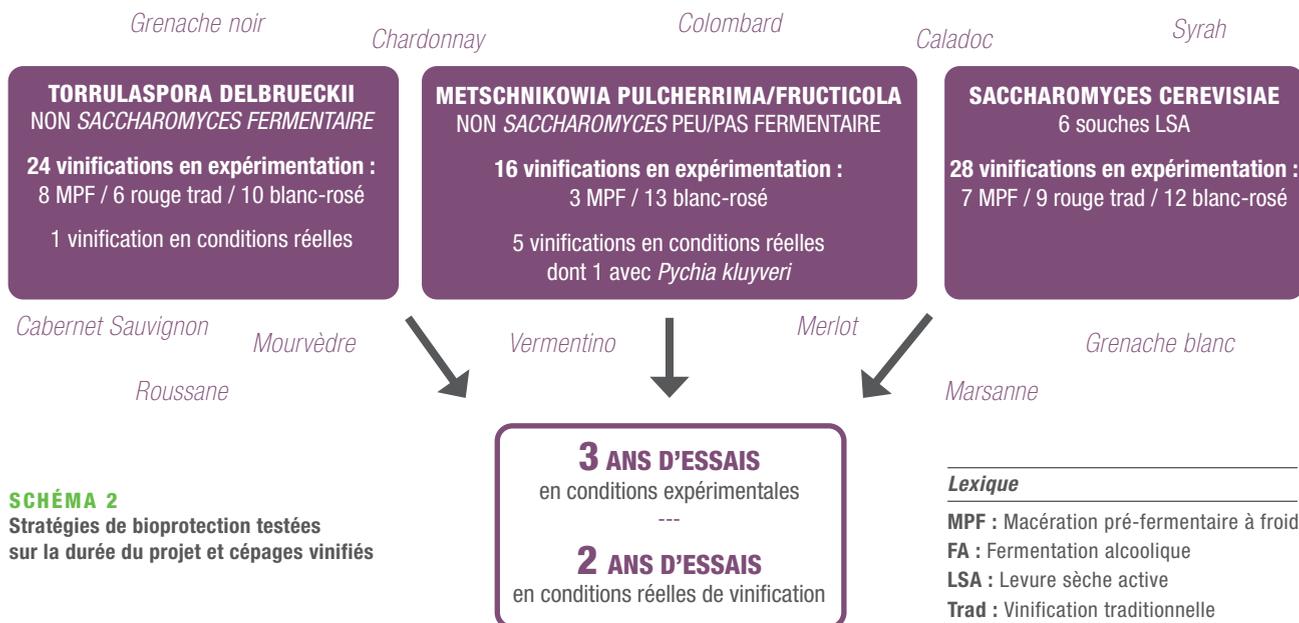


Définition

La bioprotection est présentée en œnologie comme une alternative au rôle antiseptique du SO₂ en phase pré-fermentaire. Elle consiste à ensemercer précocement sur raisin ou sur moût des espèces de levures connues et maîtrisées qui s'implantent et colonisent le milieu au détriment de la flore indigène présente et potentiellement susceptible d'altérer la qualité du moût. Cette solution vise à protéger les moûts des risques microbiens.

2. Les stratégies testées en bioprotection

De multiples essais révélant des résultats consensuels et probants ont permis de proposer des stratégies efficaces. Le détail de l'ensemble des stratégies est présenté en **annexes 2 et 3**.



Trois souches de non *Saccharomyces*, existantes sur le marché au lancement du projet ont été testées. Depuis, de nouvelles spécialités commerciales sont proposées, toutes n'ont donc pas été évaluées.

Les résultats présentés dans le document sont donc relatifs aux types de levures testées.

Par ailleurs, les spécialités commerciales de levures sèches actives associant deux souches de levures (*non Saccharomyces + Saccharomyces*) ont été testées en première année de projet uniquement. Ces essais avec des mélanges de levures n'ont pas été poursuivis. En effet, l'analyse de dénombrement des levures et l'évaluation de l'efficacité de la bioprotection est difficile sans la connaissance préalable de la souche de *Saccharomyces* contenue dans la spécialité. Le projet a donc privilégié des spécialités pures présentées dans le **tableau 2**.

Espèce de levure non Saccharomyces	Spécialités commerciales	Tolérance à l'alcool	Consommation d'azote connue	Température optimale de FA	Seuils de tolérance de température min/max connus	Seuils de tolérance au SO ₂ connus	Objectif œnologique indiqué sur la fiche technique produit	Dose d'emploi recommandée par la fiche technique produit
Torulaspora delbrueckii	Lalvin TanDem (ICV)	10-12%	80 mg/l d'Nass jusqu'à perte de 10-15 points de densité	16-18°C		sensible à plus de 15ppm	AV plus faible, complexité aromatique	25g/qt
	Biodiva (IOC)	<10%	> 150 mg/l d'Nass perte de 10-15 points de densité	>15°C	min = 5°C	Tolère 30mg/l de SO ₂ T	AV plus faible, complexité aromatique	20-25g/hl
	Levulia Torula (AEB)	≤ 9%				sensible	révélation arômes variétaux AV plus faible	20-30g/hl
Metschnikowia pulcherrima	Levulia pulcherrima (AEB)	8%		25-28°C	Résiste à des températures fraîches	sensible	production d'ester et thiols	20-30g/hl
Metschnikowia fructicola	Gaïa (IOC)	<1-2%	10mg/l Nass	Non fermentaire	Survie sur une longue durée > 10 jours à 0-10°C sans multiplication et à 35°C en MPC	Tolère 50mg/l de SO ₂ T	bioprotection des moûts	7-20g/hl
Pichia kluyveri	Viniflora® Frootzen (CHR Hansen)	6%		15-25°C	max = 28°C	Tolère 45ppm	production de thiols, bioprotection des moûts	1kg/100hl (pain de glace)

TABLEAU 2

Présentation des espèces de non *Saccharomyces* testées dans le projet et leurs caractéristiques (selon informations fabricants).

Lexique

Nass : Azote assimilable par la levure
AV : Acidité volatile
MPC : Macération pré-fermentaire à chaud
FA : Fermentation Alcoolique

Unités

mg : milligramme / **g** : gramme /
kg : kilogramme
l : litre / **hl** : hectolitre
ppm : partie par million (ex : mg/kg)
°C : degrés celsius

3. L'identification des populations microbiennes : une méthodologie d'analyse simple et représentative

Dans le cadre du projet, l'évaluation des espèces microbiennes en présence est faite après dilution et étalement sur boîte de pétri en conditions stériles. Le dénombrement des espèces de levures en présence (proportion des espèces sur la population totale) est ensuite réalisé par PCR (technique d'amplification enzymatique de l'ADN) et estimé à partir de 10 colonies (parfois 30) prélevées sur milieu « Levures totales » (milieu YEPD) et/ou milieu « Levures non Saccharomyces ».

Des contrôles d'implantation spécifiques sur les souches de levures utilisées en bioprotection ont complété l'information sur les dénombrements.

Les mesures sont faites :

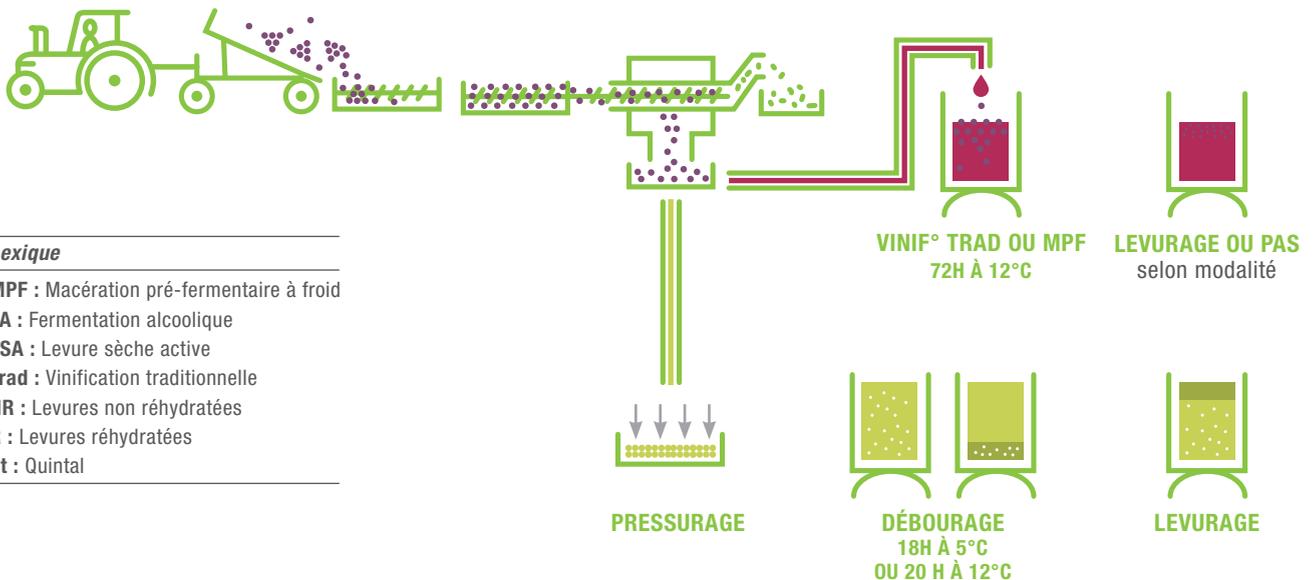
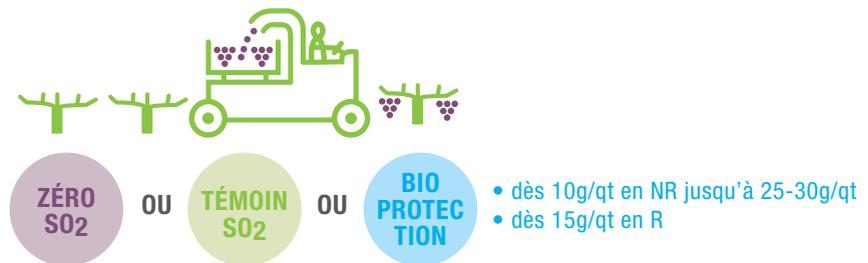
- Fin de phase pré-fermentaire pour évaluer l'implantation de la souche de bioprotection et son impact sur la population indigène.
- Mi-fermentation alcoolique (FA) pour évaluer le lancement de la FA, le ratio des espèces en présence et donc l'impact de la bioprotection sur la cinétique fermentaire.

Limite des analyses :

- L'identification des espèces en présence est mesurée à l'instant « t », il n'y a pas de suivi de l'évolution dans le temps. On peut toutefois conclure sur les ratios des espèces en présence aux étapes clés de la vinification.

4. Les protocoles de mise en œuvre de la bioprotection

Une diversité de modalités testées à l'image des pratiques régionales de vinification



5. Une innovation pratique : la non réhydratation des levures de bioprotection

Le levurage en bioprotection peut s'envisager sans réhydratation avec un positionnement très précoce dès la récolte, mais pas dans n'importe quelles conditions !

Les travaux préliminaires effectués sur des *Saccharomyces*, ainsi que nos différents essais ont mis en évidence que toutes les levures n'étaient pas adaptées à une utilisation sans réhydratation. Pour que cette pratique conduise à une bonne implantation de la levure et à un déroulement satisfaisant de la fermentation alcoolique, il est important :

- de vérifier que la souche de levure choisie est apte à supporter l'absence de réhydratation
- d'augmenter significativement la dose employée (minimum 25 à 30g/qt) par rapport aux pratiques de levurage à l'encuvage
- de ne faire l'impasse sur aucune des pratiques de prévention des arrêts de fermentation alcoolique (maîtrise des températures, gestion de la nutrition,...)



Conseil pratique

Vérifier la capacité de la levure de bioprotection à supporter une utilisation en condition non réhydratée.

A background image showing a dense population of yeast cells, likely Hanseniaspora uvarum, under a microscope. The cells are small, oval-shaped, and some are budding, appearing as light-colored outlines against a dark background.

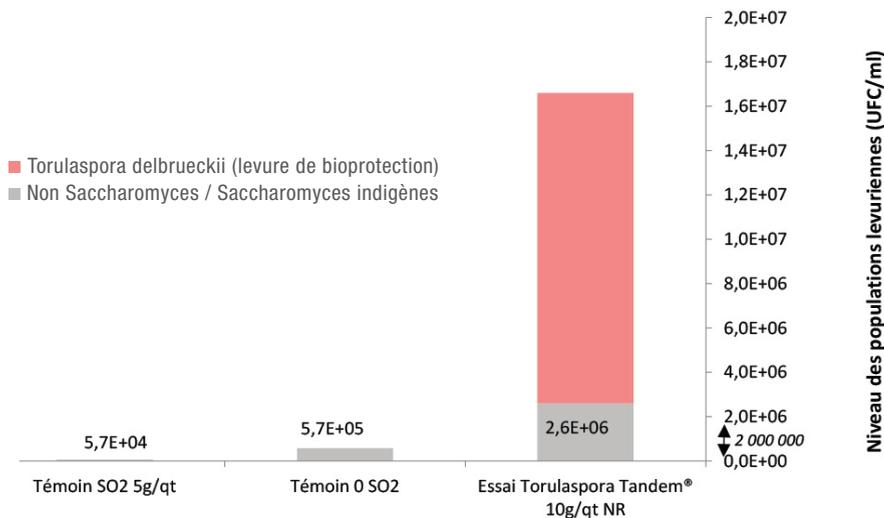
03.

La bioprotection peut-elle maîtriser complètement le risque microbien ?

1. Le sulfitage : l'effet choc en pré-fermentaire
2. Le froid en pré-fermentaire : une solution à ne pas négliger
3. L'effet de la bioprotection, en alternative au SO₂
4. La bioprotection sur des moûts fortement contaminés en *Hanseniaspora uvarum*

1. L'effet choc du sulfitage en pré-fermentaire

Dans le cadre du projet, nous avons constaté que l'usage d'une levure non *Saccharomyces* en bioprotection ne garantit pas toujours une réduction significative de la population indigène par rapport au niveau initial sur moût, malgré une colonisation majoritaire du milieu (**graph 2**).



Résultats importants

Le sulfitage permet, selon le niveau initial, une réduction d'1 ou 2 log. (x10 à x100) de la population levurienne indigène du moût.

GRAPHIQUE 2

Dénombrement des populations levuriennes avant fermentation alcoolique (FA).

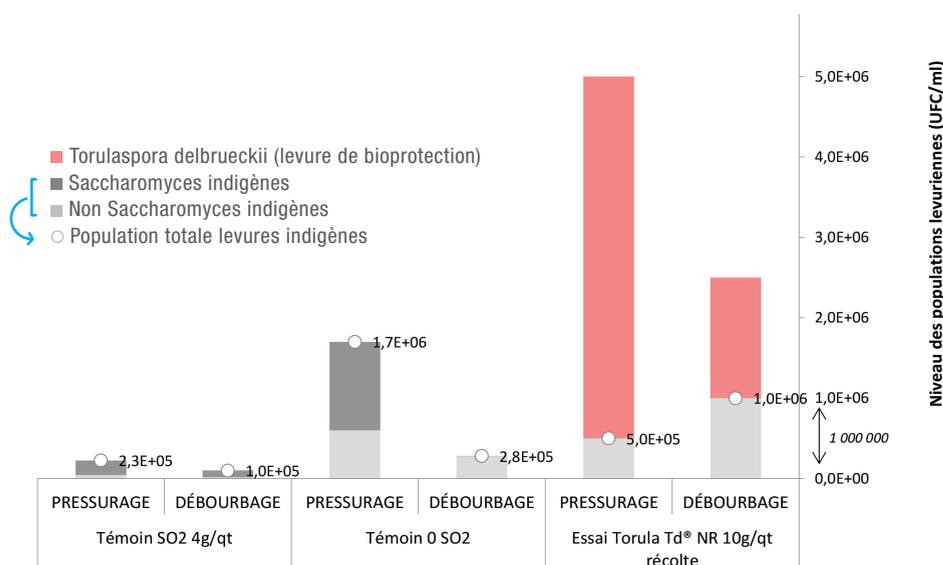
Essai ICV, Rouge traditionnel Syrah (2016). Bioprotection avec *Torulaspora d.* (10g/qt NR*) *NR : non réhydratée

2. Le froid en pré-fermentaire : une solution à ne pas négliger

Le **débourbage seul** sans apport préalable de SO₂ permet une baisse significative de la population totale (**graph 3**), mais sans égaler l'effet du sulfitage. L'effet est complémentaire.



Le **débourbage associé** à la bioprotection ne garantit pas spécifiquement la réduction de la population indigène. Il impacte sur la population totale y compris, dans certains cas, la levure de bioprotection.



Résultats importants

En blanc et rosé

le débourbage, à des températures suffisamment froides (5-10°C) favorise la réduction du niveau de population totale de levure dans le milieu.

GRAPHIQUE 3

Dénombrement des populations levuriennes après pressurage et débourbage (5°C - 18H).

Essais ICV blanc chardonnay (2016). Bioprotection avec *Torulaspora d.* (10g/qt NR*) *NR : non réhydratée



Résultats importants

En deçà d'une implantation

à 90% de la population totale de levures, la population de la levure de bioprotection se rajoute à la population microbienne indigène présente. Dans ce cas, on ne peut pas parler de biocontrôle (c'est-à-dire de réduction à un seuil non préjudiciable pour le moût), de la population indigène.

GRAPHIQUE 4

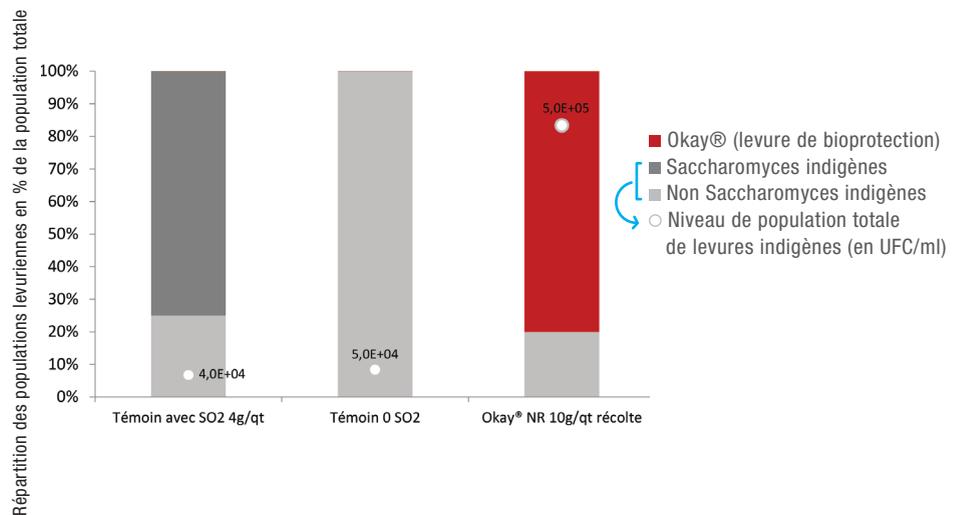
Répartition des populations levuriennes après pressurage et débouillage.

Essais ICV, Grenache Rosé 2016 : Bioprotection avec une *Saccharomyces Okay®* 10g/qt NR avant pressurage. Débouillage 18H à 5°C.

3. L'effet de la bioprotection, en alternative au SO₂

Même si la levure de bioprotection colonise de manière majoritaire le milieu, elle n'empêche pas le maintien d'une population indigène à un niveau équivalent ou supérieur au témoin.

Graph 4 : la levure *Okay®* de bioprotection colonise le milieu à 80%, mais les non *Saccharomyces* indigènes atteignent un niveau au moins 10 fois supérieur aux niveaux des témoins. Le SO₂, dans ce cas (témoin SO₂) n'empêche pas non plus le maintien d'une population globale de levures indigènes, mais limite les non *Saccharomyces* indigènes (plus préjudiciables) au profit des *Saccharomyces* indigènes (moins préjudiciables pour la qualité des moûts).



Résultats importants

La levure de bioprotection

peut permettre le biocontrôle de la population indigène à condition qu'elle soit implantée à plus de 90% de la population totale de levures

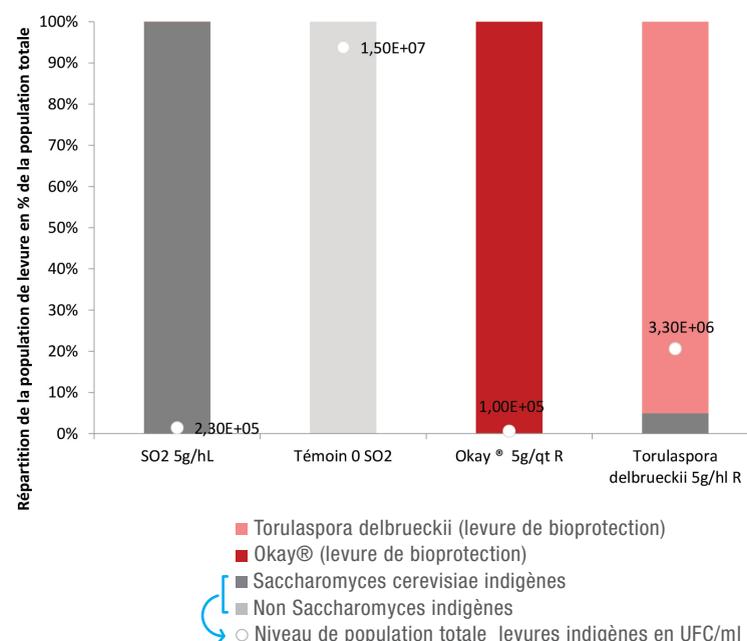
GRAPHIQUE 5

Répartition des populations levuriennes avant fermentation alcoolique (FA).

Essais ICV Rouge traditionnel Cabernet sauvignon, 2015 : bioprotection avec *Saccharomyces Okay®* 5g/qt R ou *Torulasporea Tandem* 5g/hl R.

Les souches de bioprotection à condition qu'elles s'implantent rapidement à plus de 90% de la population totale de levures permettent réellement un biocontrôle de la population indigène, c'est-à-dire la réduction de cette dernière de manière significative par rapport au témoin non sulfité.

Graph 5 : Les levures de bioprotection *Torulasporea d.* ou *Okay®* colonisent au moins 95% du milieu et réduisent d'1 log. au moins (facteur 10) la population de levures indigènes par rapport au témoin non sulfité.



4. La bioprotection sur des moûts fortement contaminés en *Hanseniaspora uvarum*

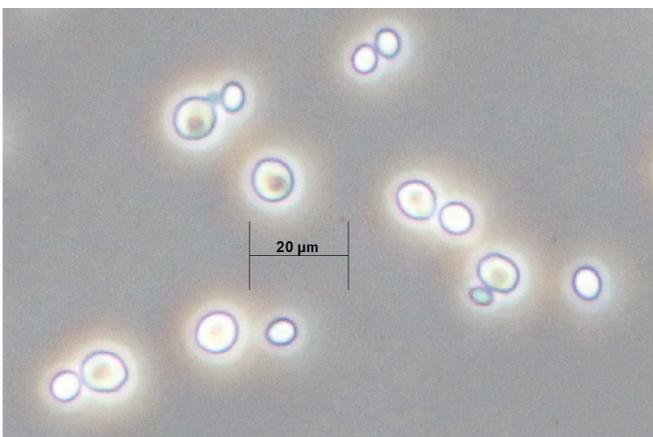
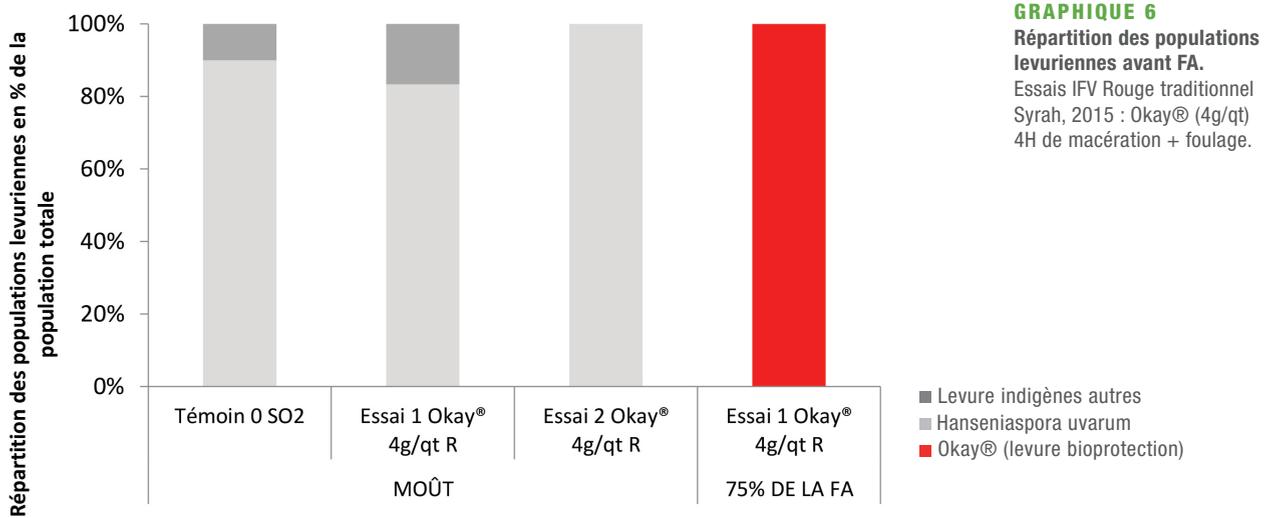
Sur des moûts contenant des populations importantes de *Hanseniaspora uvarum*, un essai de bioprotection avec une levure sèche active (LSA) *Saccharomyces* à 4g/qt réhydratée n'a pas permis de contenir la population indigène. Sur un prélèvement de 10 colonies pour l'identification des populations en présence sur moût, la LSA n'a pas été identifiée. Toutefois, elle était nécessairement présente puisqu'elle assure la FA ensuite.

Le **graphique 6** montre que seul l'enclenchement de la FA et l'apparition d'éthanol ont pu réduire les populations de *Hanseniaspora uvarum* et permettre la colonisation du milieu par la *Saccharomyces* de bioprotection.



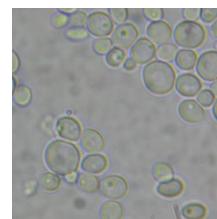
Conseil pratique

Vérifier l'état sanitaire des moûts avant de recourir à la bioprotection et si besoin, augmenter les doses de la levure de bioprotection utilisée.



Metschnikowia pulcherrima (Microscopie optique, grossissement x40)

Morphologie de levures *Metschnikowia pulcherrima* utilisée en bioprotection. © Microflora



Morphologie de levures *Metschnikowia fructicola* utilisée en bioprotection. © IOC



Colonies de *Saccharomyces cerevisiae* (en blanc) et *Metschnikowia fructicola* (Gaïa) (en brun-rouge) utilisées en bioprotection, sur milieu WC. © IOC

The background of the slide is a dark green color with a pattern of light green, stylized yeast cells scattered across it. The cells are depicted as simple outlines of various shapes, some oval and some more irregular, representing different stages or types of yeast.

04.

Quel impact de la bioprotection sur les profils fermentaires ?

1. Peu d'écart entre bioprotection et témoin non sulfité dans les essais
2. La gestion de la nutrition azotée
3. Les conséquences sur la qualité organoleptique des vins

1. Peu d'écart entre bioprotection et témoin non sulfité dans les essais

Sur les **témoins sulfités ET non sulfités en pré-fermentaire**, aucune des modalités mises en œuvre en conditions expérimentales n'a conduit à un problème fermentaire ou une déviation analytique (montée de l'acidité volatile notamment).

En conditions expérimentales, la bioprotection n'a pas présenté de meilleure ni de moins bonne performance fermentaire que le témoin non sulfité. Les résultats d'analyses des paramètres œnologiques sur vins finis sont comparables entre témoin et bioprotection. Par contre, on relève des différences de profils aromatiques liés au type de levure employée.



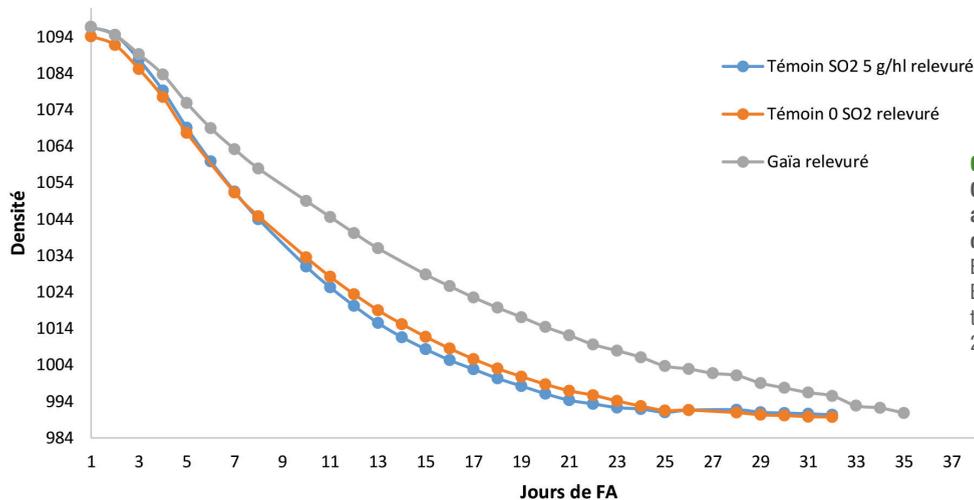
Résultats importants

La flore microbienne indigène des moûts vinifiés dans le cadre du projet n'était naturellement pas préjudiciable à la qualité des moûts.



2. La gestion de la nutrition azotée

Les levures utilisées sont plus ou moins consommatrices d'azote et peuvent induire une carence pour la *Saccharomyces* utilisée pour réaliser la FA. La *Torulaspota sp.* peut par exemple consommer jusqu'à 80mg/l d'azote assimilable (Nass) ! La *Metschnikowia fructicola* (Gaïa) même si elle ne présente pas de grande capacité fermentaire, peut consommer environ 10 mg/l d'Nass pendant la colonisation du milieu. En cas de carence forte en azote des moûts, la levure de bioprotection renforce ainsi cette carence et induit des FA languissantes. (graph 7).



GRAPHIQUE 7
Cinétiques fermentaires après bioprotection et relevage de certaines modalités.

Essais IFV 2016 Caladoc rosé :
Bioprotection Gaïa 5g/qt+ 4H macération, Débourage 20H 12°C, levurage à 20g/hl avec LSA X5.

Le besoin en azote assimilable (Nass) est calculé théoriquement sur la base de 150 mg/l d'azote pour 12% potentiel et une FA réalisée en 8 jours à 24°C. Il est couramment admis qu'il faut ajouter 25 à 30 mg/l de Nass par degré potentiel supplémentaire. On considère qu'un moût est carencé quand la teneur en azote assimilable est inférieure au besoin théorique en azote.



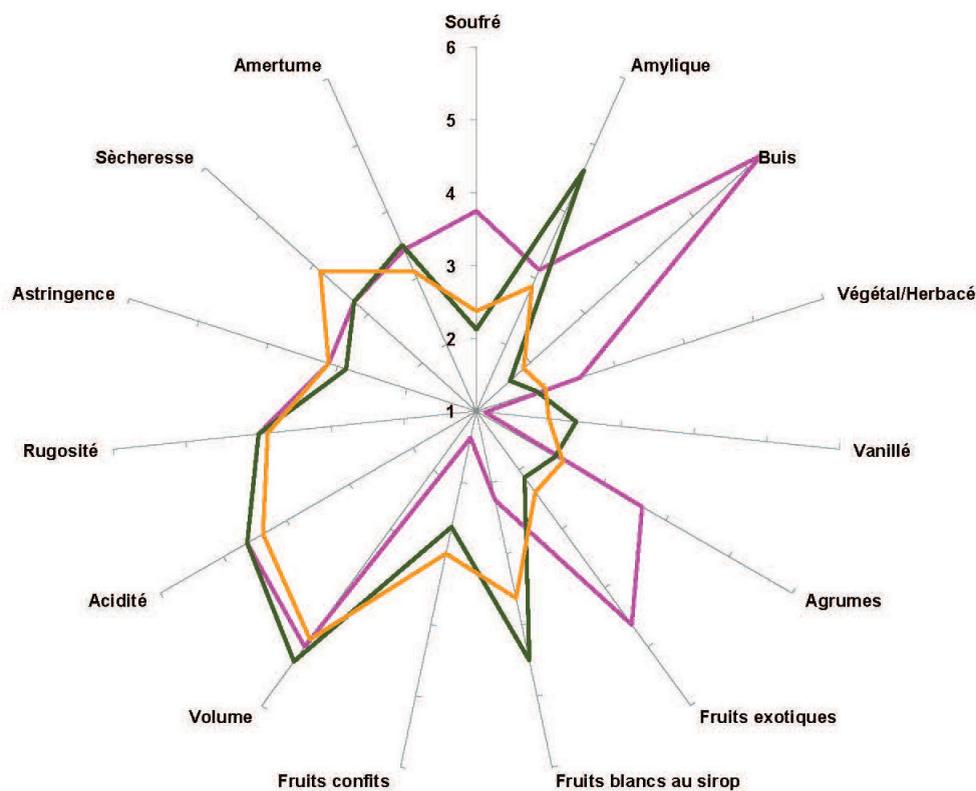
Conseil pratique

Un apport de nutriment azoté lors du levurage avec la LSA est nécessaire pour compenser la consommation d'azote par la levure de bioprotection et/ou la carence azotée initiale du moût.



3. Les conséquences sur les qualités organoleptiques des vins

Dans le cadre du projet, la bioprotection mise en œuvre pour maîtriser les risques microbiens n'a pas révélé d'action antioxydante. Ainsi, même si elle conduit à une bonne implantation de la levure choisie, la bioprotection n'a pas permis de compenser les évolutions de profils organoleptiques dues à l'absence de SO₂ (notamment pour les cépages « thiols »). Dans nos essais, sans alternative spécifique liée à la gestion de l'oxydation, seul le témoin SO₂ a permis de conserver le potentiel thiol (buis, fruit exotique, agrume) (**graph 8**) ou le maintien de la couleur sur blanc ou rosé.



GRAPHIQUE 8
Profil aromatique des vins
 Essai ICV blanc 2017, Chardonnay
 Vinification avec Macération sur
 bourbes préfermentaire (MSB)
 5 jours à 8°C

— Met R : *Metschnikowia pulcherrima* 10g/qt réhydratée
 — Tor NR : *Torulaspora delbrueckii* 10g/qt non réhydratée
 — SO₂ : Témoin sulfité 5g/qt

Les différents profils aromatiques obtenus dans le cadre des essais, sur les vins finis, sont dus essentiellement au type de levure employée :



En pré-fermentaire :

- la non *Saccharomyces* fermentaire *Torulaspora sp.* est présentée comme une levure permettant de développer des arômes fruités sur des blancs et rosés peu aromatiques et qu'on retrouve effectivement en dégustation.
- dans le cadre de nos essais, nous n'avons pas mesuré d'impact aromatique net des levures non *Saccharomyces* non fermentaires testées en bioprotection.



En fermentation, la LSA *Saccharomyces cerevisiae* utilisée pour réaliser la FA impacte logiquement le profil des vins.



Conseil pratique

En blanc et rosé, coupler la bioprotection à d'autres pratiques pour maîtriser les risques d'oxydation des moûts.

Dans le cadre du projet, le témoin sulfité est généralement préféré des dégustateurs lorsque les différences sont significatives. Toutefois, le témoin non sulfité et les modalités de bioprotection présentent des caractéristiques autres, mais pas nécessairement négatives.

A background illustration of various yeast cells, including budding and filamentous forms, rendered in white outlines against a teal background.

05.

La bioprotection avec des levures non *Saccharomyces* fermentaires

1. *Torulaspota sp.* s'implante dans la plupart des cas, mais...
2. *Torulaspota sp.* peut initier rapidement une activité fermentaire !
3. L'impact de *Torulaspota sp.* sur la cinétique fermentaire

1. *Torulaspota sp.* s'implante dans la plupart des cas, mais...

Les contrôles microbiologiques effectués juste avant FA ont mis en évidence que *Torulaspota sp.* s'implante dans la plupart des cas: à partir de 4-5 g/qt si la levure est réhydratée et à partir de 10 g/qt si elle est non réhydratée.

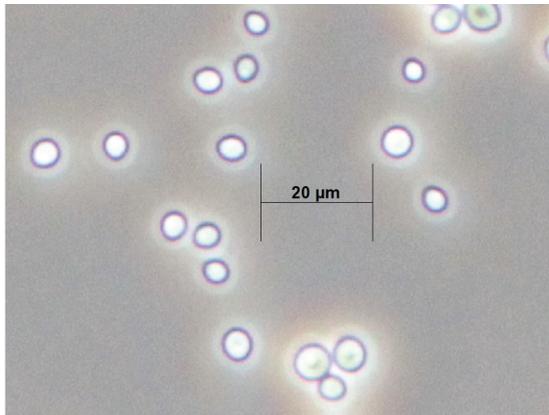
Le maintien à basse température (5 à 10°C) pendant quelques heures à quelques jours (effectué pendant le débouillage ou la Macération sur bourbes (MSB) des blancs et rosés) n'a pas empêché l'implantation de la *Torulaspota sp.*

Cependant à ces doses, dans 60% des essais menés cette espèce cohabite avec d'autres espèces. De ce fait une proportion non négligeable de levures indigènes se maintient : elles peuvent représenter une quantité comparable à la flore indigène mesurée sur les témoins sulfités. L'augmentation de la dose de *Torulaspota sp.* conduit à une amélioration de son taux d'implantation dans le milieu: des résultats plus réguliers ont été obtenus à partir de 20g/qt réhydratée et 30g/qt non réhydratée.



Résultats importants

En conditions expérimentales, à moins de 5g/qt réhydratée et 10g/qt non réhydratée, l'implantation de la non *Saccharomyces* fermentaire testée en bioprotection est aléatoire



Torulaspota delbrueckii (Microscopie optique, grossissement x40)

© Microflora



2. *Torulaspota sp.* peut initier rapidement une activité fermentaire

En rouge, ce constat n'est pas préjudiciable au déroulé des vinifications.

Par contre, en initiant la fermentation alcoolique en blanc et rosé, *Torulaspota sp.* peut remettre en cause le débouillage, notamment dans les situations où les disponibilités en froid sont limitées (cas d'un débouillage à 12-15°C).

En conditions expérimentales, le débouillage n'a jamais été compromis, mais ce problème a été rencontré lors de la mise en œuvre d'essais en conditions réelles de vinification!



Conseil pratique

Eviter la mise en œuvre d'une levure non *Saccharomyces* fermentaire en bioprotection sur blanc et rosé clarifiés en statique à froid.



Résultats importants

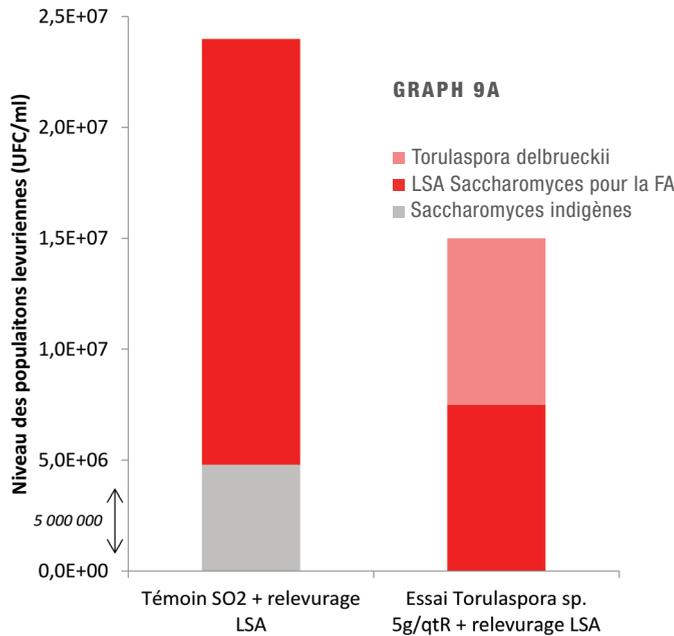
Lorsque le niveau

de *Torulaspota sp.* atteint un niveau élevé (1 à 100 millions de cellules/ml) des signes de début d'activité fermentaire peuvent être observés.



3. L'impact de *Torulaspora sp.* sur la cinétique fermentaire

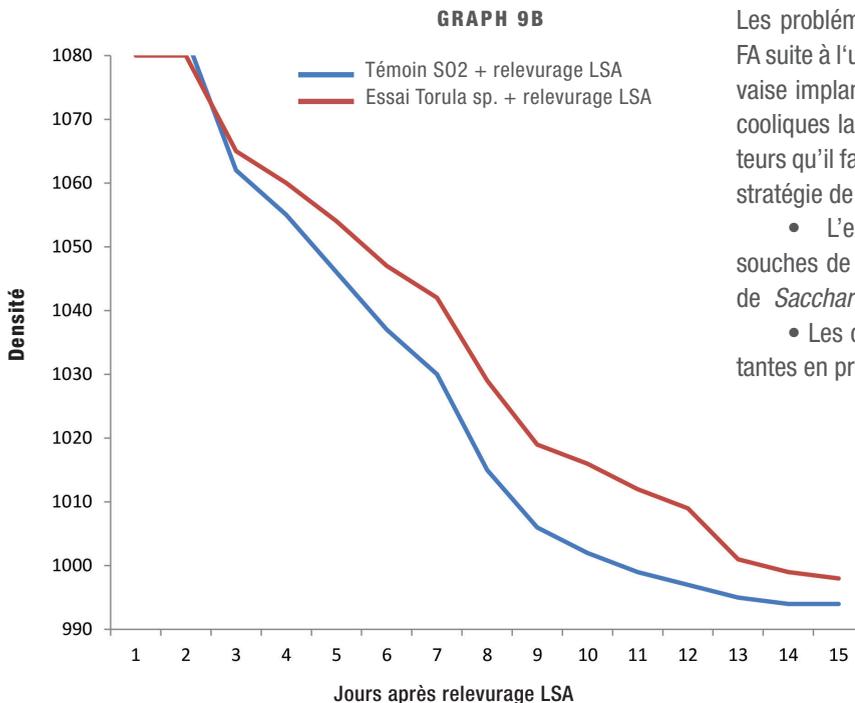
La levure *Torulaspora sp.* a la capacité de se maintenir en FA (jusqu'à une proportion de 20% à 60% au ¾ de la FA dans certains essais) et donc de co-fermenter avec *Saccharomyces* (graphes 9).



GRAPHIQUES 9

Répartition des populations levuriennes à mi-FA (A) et suivi de la densité de fermentation alcoolique (B). Essais IR Rouge traditionnel Mourvèdre, 2017. Bioprotection avec *Torulaspora Biodiva* 5g/qt R, relevé avec une LSA *Saccharomyces* (Lalvin 2323) à 20g/hl R.

Dans le graphique 9A, La *Torulaspora sp.* se maintient pendant la FA et représente 50% de la population totale de levures à mi-FA. Sa présence au moment de l'apport de la LSA *Saccharomyces* en compromet l'implantation et entraîne une FA plus lente (graph 9B).



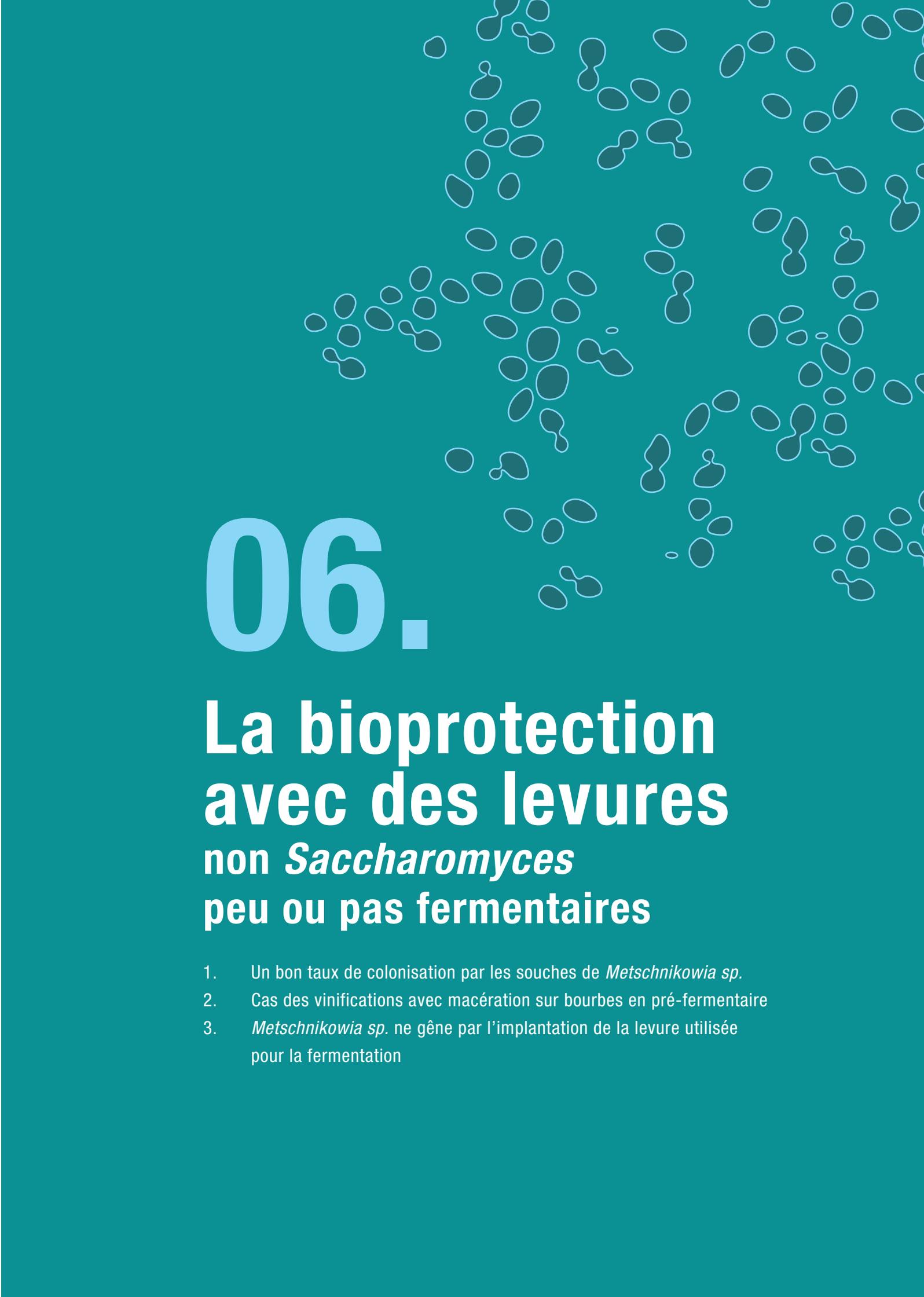
Les problématiques rencontrées sur le déroulement de la FA suite à l'usage de *Torulaspora sp.* en bioprotection (mauvaise implantation de *Saccharomyces* et fermentations alcooliques languissantes) peuvent être dus à plusieurs facteurs qu'il faut prendre en compte plus globalement dans la stratégie de mise en oeuvre de la bioprotection :

- L'existence d'incompatibilité entre certaines souches de non *Saccharomyces sp.* et certaines souches de *Saccharomyces sp.*
- Les consommations en azote plus ou moins importantes en pré-fermentaire par la levure de bioprotection.



Conseil pratique

Vérifier la compatibilité entre la souche de levure de bioprotection et la LSA *Saccharomyces* utilisée pour faire la FA. Choisissez soigneusement le couple mis en œuvre. Vérifier les niveaux d'azote assimilable des moûts et gérer la nutrition azotée.

The background of the slide is a teal color with a pattern of white-outlined yeast cells. The cells are of various shapes, including single ovals, pairs, and small clusters, representing different stages of yeast growth or morphology.

06.

La bioprotection avec des levures non *Saccharomyces* peu ou pas fermentaires

1. Un bon taux de colonisation par les souches de *Metschnikowia sp.*
2. Cas des vinifications avec macération sur bourbes en pré-fermentaire
3. *Metschnikowia sp.* ne gêne par l'implantation de la levure utilisée pour la fermentation

1. Un bon taux de colonisation par les souches de *Metschnikowia sp.*

En conditions expérimentales, la *Metschnikowia sp.* utilisée en condition réhydratée s'implante systématiquement à hauteur de 90-100% de la population levurienne totale, testée à partir de 4-5g/qt pour la *Metschnikowia fructicola* et à partir de 10g/qt pour la *Metschnikowia pulcherrima*. Ces résultats sont atteints pour des vinifications classiques en blanc et rosé et en macération pré-fermentaire à froid (MPF). Aucun essai n'a été réalisé en vinification rouge traditionnelle.

Dans les conditions testées, aucun signe de déclenchement de la FA n'a été signalé en phase pré-fermentaire.



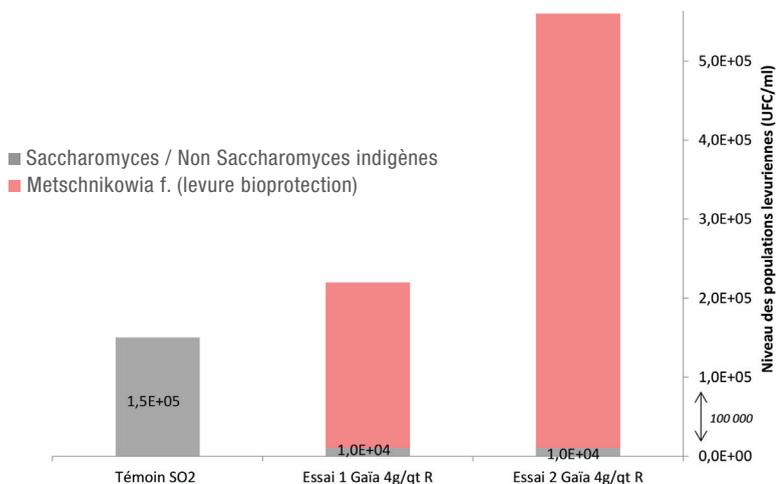
Résultats importants

En conditions expérimentales,

la levure de bioprotection non *Saccharomyces* non fermentaire testée s'implante majoritairement, à 5g/qt réhydratée pour la *Metschnikowia fructicola* et à 10g/qt réhydratée pour la *Metschnikowia pulcherrima*.

La bioprotection est effective dans la majorité des cas testés (85% des essais en levure réhydratée).

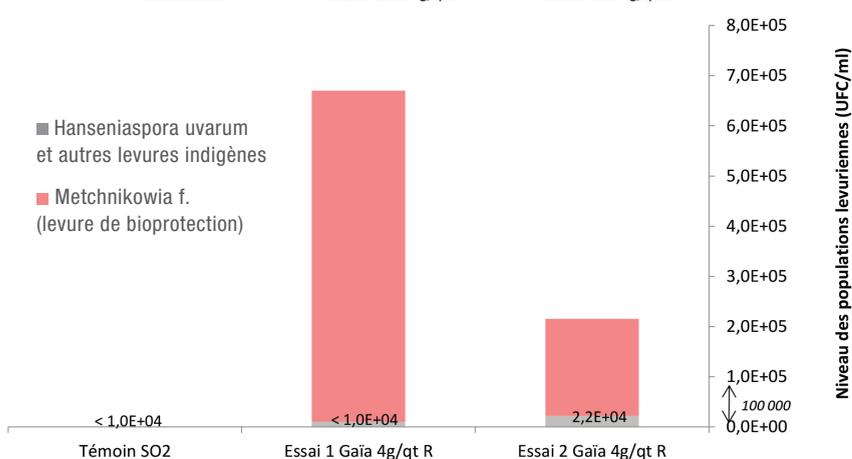
Exemple des **graph 10** en Macération pré-fermentaire à froid (MPF) et **graph 11** en blanc et rosé : la *Metschnikowia f.* permet de contenir le niveau de population de levures indigènes voir de le réduire dans certains cas.



GRAPHIQUE 10

Dénombrement des populations levuriennes sur moût après MPF.

Essai IFV 2017 Merlot MPF – Bioprotection avec Gaïa 4-5g/qt réhydratée + 72h MPF à 12°C.



GRAPHIQUE 11

Dénombrement des populations levuriennes sur moût après débourbage.

Essai IFV 2016, Syrah rosé– Bioprotection avec Gaïa 4-5g/qt réhydratée + 4h macération et débourbage 12°C, 20H.

Les essais menés en condition non réhydratée avec la *Metschnikowia fructicola* (essais menés avec la spécialité Gaïa uniquement) n'ont pas permis une bonne implantation de la levure (seulement 3 à 20% de la population totale). Il faut donc réhydrater systématiquement cette levure.



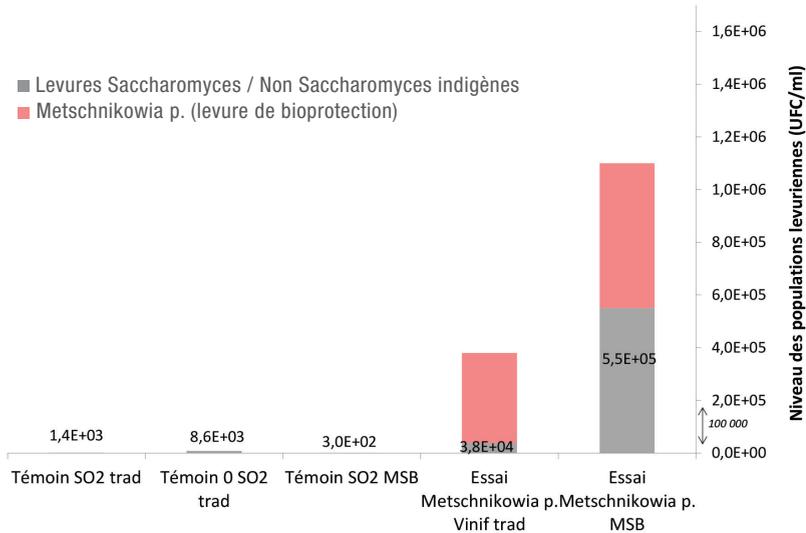
Conseil pratique



Attention ! La *Metschnikowia sp.* ne doit pas être utilisée en non réhydratée !

2. Cas des vinifications avec macération sur bourbes en pré-fermentaire

Au cours des 5 jours de macération à 8°C, la flore indigène continue à croître malgré la présence d'un niveau élevé de *Metschnikowia p.*. Ainsi en fin de macération sur bourbes, la levure de bioprotection, qui elle ne s'est que peu multipliée, ne représente plus que 50% de la population levurienne totale (**graph 12**).



GRAPHIQUE 12

Dénombrement des populations levuriennes, après débouillage ou macération sur bourbes (MSB).

Essais, ICV Chardonnay, 2017. Bioprotection *Metschnikowia p.* 10g/qt R – Débouillage 12H – 5°C et MSB : 5 jours à 8°C.



3. La *Metschnikowia sp.* ne gêne pas l'implantation de la levure de fermentation

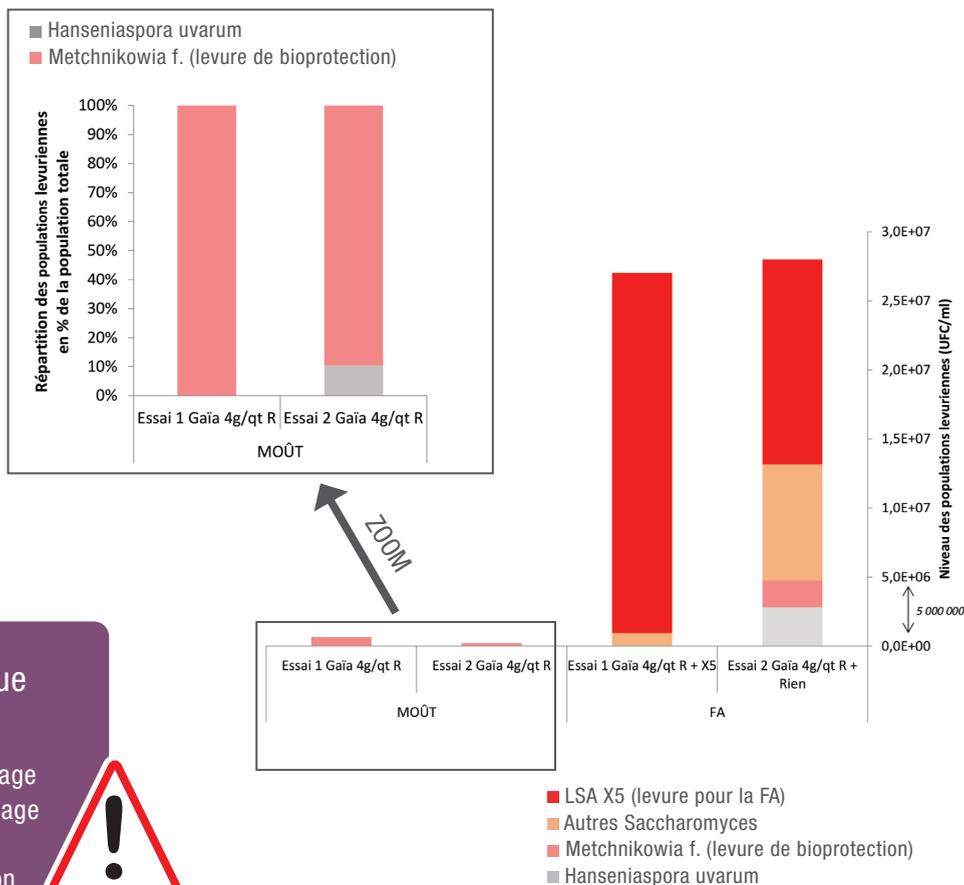
Après relevage avec une levure sèche active (LSA) *Saccharomyces cerevisiae*, les contrôles à mi-FA montrent une implantation majoritaire de celle-ci (plus de 85% de la population totale de levure du milieu à mi-FA).

Les souches de *Metschnikowia sp.* testées ne gênent donc pas l'implantation des LSA utilisées ensuite pour réaliser la FA (graph 13).



Le **graph 13** montre également une diversité de levures en présence à mi-FA. Dans l'essai non relevé (modalité Essai Gaïa 2 + rien), la FA a été particulièrement languissante après la mise en œuvre de la bioprotection avec une non *Saccharomyces* non fermentaire.

GRAPHIQUE 13
Dénombrement de la population totale de levure à mi FA (1040 de densité).
 Essai IFV 2016, Syrah rosé- Bioprotection avec Gaïa 4-5g/qt réhydratée.

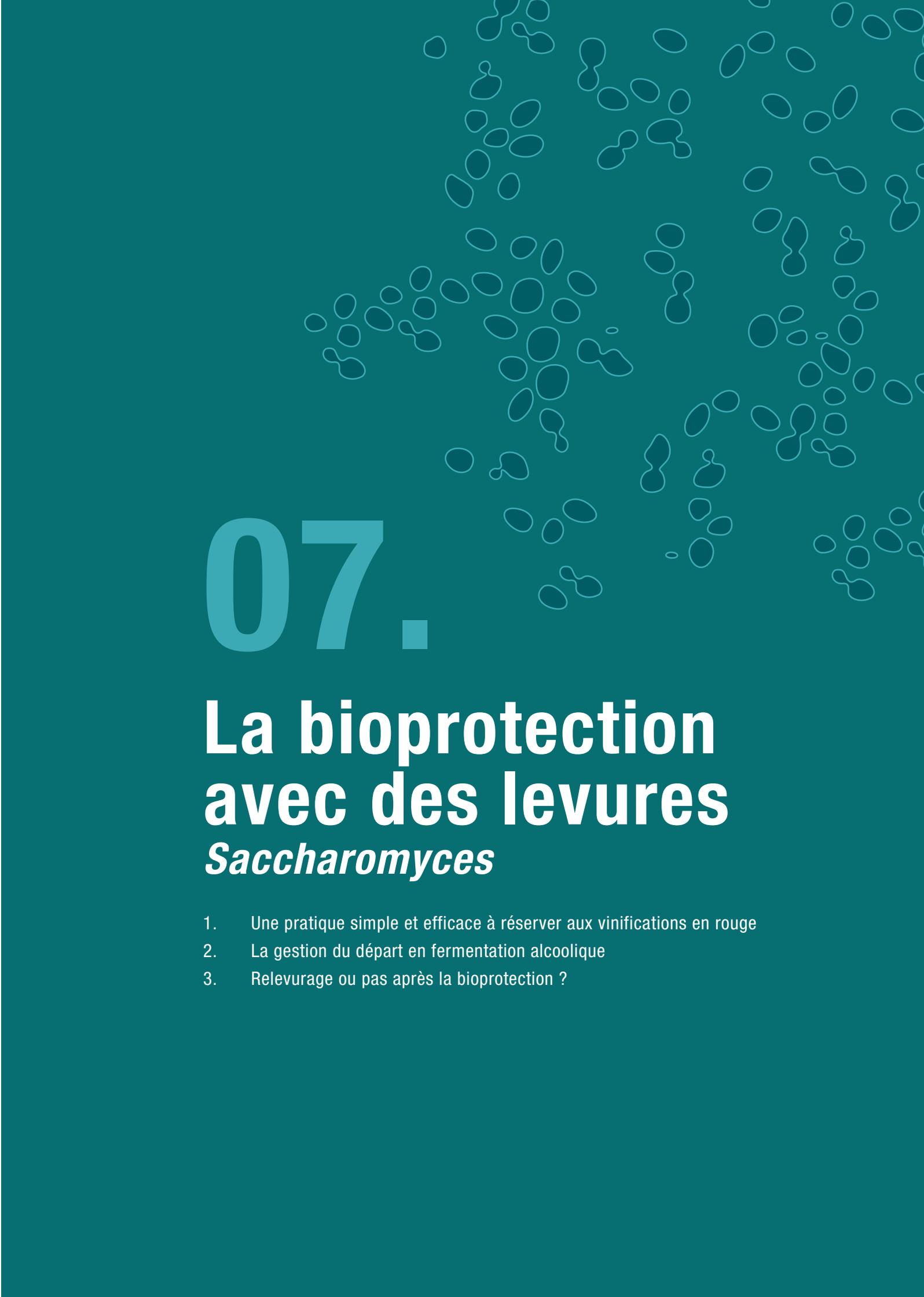




Conseil pratique

Attention ! Le relevage est indispensable avec l'usage d'une levure peu ou pas fermentaire en bioprotection.



A background image showing a dense population of yeast cells, likely Saccharomyces, under a microscope. The cells are depicted as small, oval shapes, some with budding structures, scattered across the teal background.

07.

La bioprotection avec des levures *Saccharomyces*

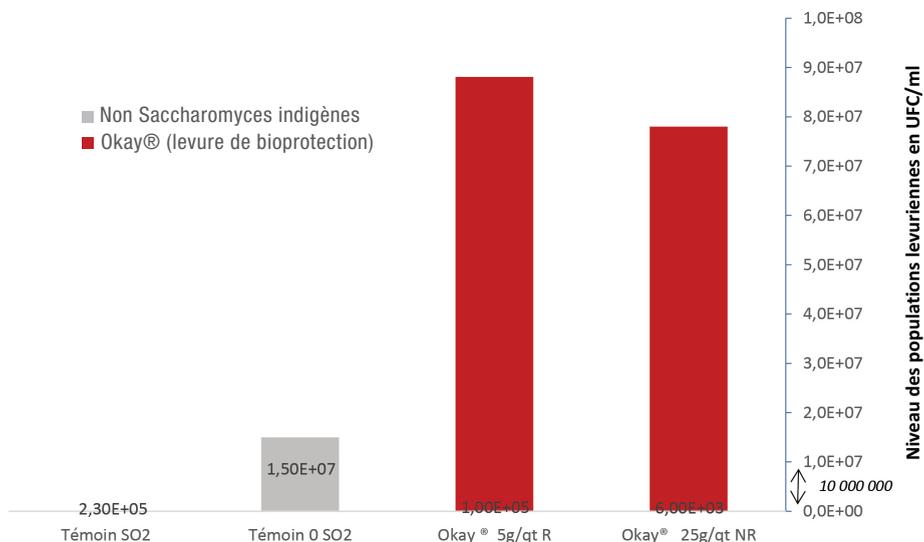
1. Une pratique simple et efficace à réserver aux vinifications en rouge
2. La gestion du départ en fermentation alcoolique
3. Relevrage ou pas après la bioprotection ?

1. Une pratique simple, efficace à réserver aux vinifications en rouge

Les souches de *Saccharomyces* utilisées en bioprotection, à partir de 5g/qt réhydratée et à la dose de 25g/qt en non réhydratée en rouge s'implantent systématiquement (graph 14).

GRAPHIQUE 14
Dénombrement de la population de levures avant FA.

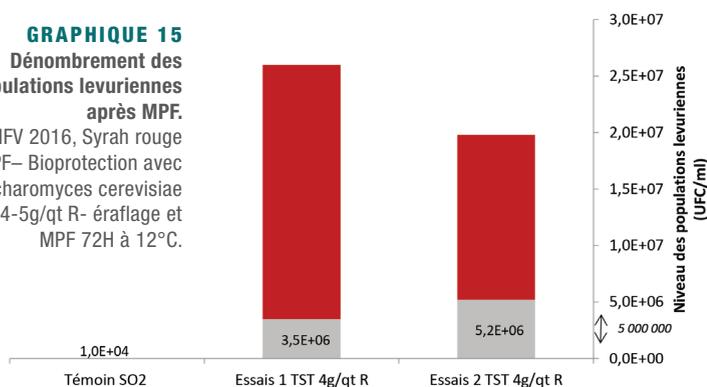
Essais ICV Rouge traditionnel 2015 - Cabernet sauvignon. Bioprotection avec Okay® 5g/qt R ou 25g/qt NR - 4H de macération et foulage avant encuvage.



En vinification en rouge, une levure *Saccharomyces* positionnée en bioprotection à plus de 5g/qt en condition réhydratée, peut atteindre des niveaux compris entre 10 et 100 millions d'UFC (unité formation colonie)/ml en sortie de Macération pré-fermentaire à froid (MPF). Attention, la souche de bioprotection choisie ne colonise pas toujours la totalité du milieu laissant la place à une population non négligeable d'autres levures. (graph 15).

GRAPHIQUE 15
Dénombrement des populations levuriennes après MPF.

Essai IFV 2016, Syrah rouge MPF- Bioprotection avec *Saccharomyces cerevisiae* (TST) 4-5g/qt R- éraflage et MPF 72H à 12°C.



- *Saccharomyces cerevisiae* (TST) (levure de bioprotection)
- *Saccharomyces* indigènes

En rouge, les niveaux de population importants atteints par la souche de bioprotection sont parfois associés à des départs prématurés en fermentation alcoolique, induisant ainsi un début de fermentation à basse température.

En blanc/rosé, les niveaux de population totale n'atteignent pas les seuils observés en macération pré-fermentaire à froid (MPF) (temps de macération moins long et effet du froid sur les populations) plutôt de l'ordre de 10E+05 UFC/ml à 10E+06 UFC/ml. Toutefois, sur certains essais levurés à 10g/qt de levure *Saccharomyces* de bioprotection non réhydratée, un départ en FA est observé et peut remettre en cause le débouillage !



Conseil pratique

Même avec une LSA en bioprotection, soyez vigilants à respecter les bonnes pratiques de levurage pour garantir la colonisation totale du milieu par la levure !



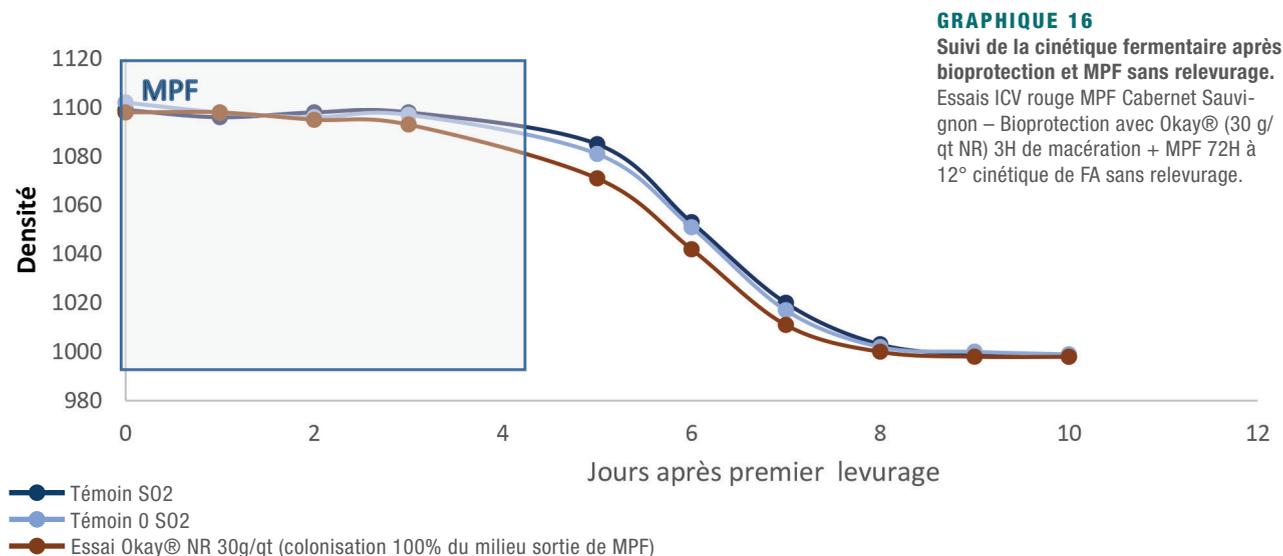
Résultats importants

Nous n'avons pas pu identifier de conditions d'utilisation de *Saccharomyces* en bioprotection qui sécurise totalement cette pratique en blanc et rosé clarifiés en statique à froid.

2. La gestion du départ en FA

En rouge MPF, la *Saccharomyces* de bioprotection peut enclencher précocément la FA (**graph 16**) en fin de macération. Ceci permet de s'affranchir d'un re-levurage en *Saccharomyces* en sortie de MPF. Nous avons en effet pu vérifier que la levure de bioprotection restait majoritaire à mi-fermentation alcoolique. Les cinétiques de fermentation alors obtenues sont satisfaisantes: départ rapide et consommation totale des sucres, comparables au témoin sulfité.

Attention, cependant au risque d'enclenchement trop rapide de la FA qui pourrait écourter la période de macération et limiter le gain organoleptique.



En blanc et rosé, suite à la mise en oeuvre de bioprotection avec des *Saccharomyces*, il est possible de constater des fermentations alcooliques languissantes. Elles peuvent être dues à la consommation d'azote et de micro-nutriments inhérente au développement de ces *Saccharomyces*. De même, la LSA de bioprotection, utilisée en sous dosage par rapport au taux de levurage recommandé pour un bon déroulement de la FA, peut aussi expliquer les FA languissantes.

3. Relevurage ou pas après la bioprotection

En cas de **relevurage**, il sera important de vérifier que la population apportée en bioprotection ne compromet pas l'implantation des populations apportées par la suite, on privilégiera donc de faibles doses d'apport pour la levure de bioprotection et une complémentation en nutriments adaptée lors de l'introduction des levures de fermentation.

En cas de **non relevurage**, il faudra s'assurer que les conditions d'apport précoce des levures en bioprotection leur permettent aussi d'assurer un déroulement satisfaisant des fermentations alcooliques, on sera donc attentif à utiliser une dose importante de levures de bioprotection (ex : 25-30 g/hl).

Enfin, si l'on souhaite s'affranchir de la réhydratation des *Saccharomyces* (permettant ainsi une mise en oeuvre plus simple à la parcelle), il faudra vérifier la résistance de la levure à la non réhydratation et prévoir des doses supérieures (ex à partir de 25g/qt).



Conseil pratique

La mise en oeuvre de la bioprotection nécessite une vigilance accrue sur les niveaux de nutriments azotés et demande des apports spécifiques en azote assimilable pour garantir les fins de FA.



Conseil pratique

En rouge, il est déconseillé de relever suite à l'usage d'une *Saccharomyces* en bioprotection. Cette dernière a la capacité de réaliser la FA. Privilégier à minima un apport équivalent aux doses recommandées pour un bon déroulement de FA.

08.

Les bonnes pratiques de mise en œuvre de la bioprotection

1. Vinification en blanc et rosé



ITINÉRAIRE DE BIOPROTECTION

ZERO SO₂ en préfermentaire

Levures non *Saccharomyces* peu ou pas fermentaires



LEVURES TESTÉES

Metschnikowia fructicola

Metschnikowia pulcherrima

Pichia kluyveri



PROTOCOLE D'ENSEMENCEMENT

Doses sur raisins sains :

≥ 5g/qt levure (sécurité à 10g/qt)

Augmenter la dose selon l'état sanitaire

Réhydrater obligatoirement les levures

Apporter au plus tôt dès la récolte



CONTRÔLES

Dénombrement levurien : atteindre une colonisation totale du milieu > 90% de la population de levures

Gestion de l'oxydation : prévoir des alternatives aux sulfites

Niveau d'azote assimilable (Nass) : analyser les teneurs sur moût



GESTION DE LA FA

Levurer obligatoirement avec une LSA

Compenser en début de FA l'azote consommé par la levure et la carence théorique du moût.



Pratiques à éviter

L'usage de *Saccharomyces* ou non *Saccharomyces* fermentaire en bioprotection

>>> risque de déclenchement de la FA pendant le débouillage

Mettre en œuvre la bioprotection en macération sur bourbes

>>> sans possibilité de maintenir de très basses températures, la bioprotection n'empêche pas la multiplication de la flore indigène

2. Vinification en rouge



ITINÉRAIRE DE BIOPROTECTION

ZERO SO₂

Toutes levures commerciales



LEVURES TESTÉES

non
Saccharomyces fermentaires :
Torulaspora delbrueckii

non
Saccharomyces non fermentaires :
Metschnikowia pulcherrima/fructicola

Saccharomyces :
diverses levures sèches actives (LSA)



PROTOCOLE D'ENSEMENCEMENT

Doses sur raisins sains :
≥ 5g/qt levure réhydratée (sécurité à 10g/qt)

≥ 25g/qt levure non réhydratée (hors *Metschnikowia sp.*)

■ Augmenter la dose selon l'état sanitaire et pour garantir une meilleure colonisation (testé jusqu'à 25-30g/qt en non réhydraté)

Apporter au plus tôt dès la récolte



CONTRÔLES

Dénombrement levurien :
atteindre une colonisation totale du milieu > 90% de la population de levures

Niveau d'azote assimilable (Nass) :
analyser les teneurs sur moût

Tester la capacité de la levure à supporter la non réhydratation

■ Sur les MPF l'enclenchement rapide de la FA peut limiter la durée de macération



GESTION DE LA FA

Levurer obligatoirement après l'usage d'une non *Saccharomyces* en bioprotection

Ne levurer pas après l'usage d'une *Saccharomyces* en bioprotection

Compenser obligatoirement en début de FA l'azote consommé par la levure de bioprotection et la carence théorique du moût



Pratiques à éviter

Levurage après l'utilisation d'une *Saccharomyces* en bioprotection
>>> risque de FA languissante

Le non levurage après l'utilisation d'une non *Saccharomyces* en bioprotection
>>> risque de FA languissante

La bioprotection en macération pré-fermentaire à température ambiante
>>> elle ne permet pas de réduire la colonisation par des levures indigènes

09.



Foire aux questions sur la bioprotection

Qu'appelle-t-on « bioprotection » en œnologie ?

Il n'existe aucune définition officielle de la bioprotection en œnologie. Elle est présentée comme une alternative micro-biologique au rôle antiseptique du SO₂ en phase pré-fermentaire. Elle consiste à ensemencer précocement sur raisin ou sur moût des espèces de levures connues et maîtrisées pour qu'elles s'implantent et colonisent le milieu au détriment de la flore indigène présente et potentiellement susceptible d'altérer la qualité des moûts. Cette solution vise à protéger les moûts des risques microbiens.

La bioprotection est-elle une alternative complète au SO₂ en œnologie ?

Non, le SO₂ a un rôle antiseptique, anti-oxydasique et antioxydant. Même si l'implantation rapide sur moût d'une espèce maîtrisée de levure permet de contenir le risque de dérive microbienne lié à l'activité de la flore indigène, elle n'a pas permis, dans le cadre du projet, de garantir la protection contre les risques d'oxydation des moûts et les pertes aromatiques. Il faut donc être vigilant et coupler la bioprotection à d'autres pratiques de protection des risques d'oxydation en blanc et rosé.

La bioprotection élimine-t-elle l'ensemble de la flore indigène en pré-fermentaire ?

Bioprotection ne signifie pas biocontrôle ! La souche de bioprotection ne colonise pas systématiquement l'ensemble du milieu, c'est-à-dire que la population de levures de bioprotection peut co-exister avec la population de levures indigènes déjà présente dans le moût. A moins de 90% de colonisation du milieu, la levure de bioprotection réduit le risque de développement de la population indigène, mais sans l'éliminer totalement ! La gestion des températures du moût reste donc indispensable pour la prévention de risques de dérive en pré-fermentaire et le contrôle d'implantation garantira l'efficacité de la bioprotection.

Quelle levure choisir pour faire de la bioprotection ?

En vinification rouge traditionnelle, voire couplée à une macération pré-fermentaire à froid (MPF), tout type de levure peut être utilisé en bioprotection, à condition d'un levurage précoce sur raisins si possible ! Attention à la bioprotection avec une LSA en MPF, si la FA s'enclenche rapidement, il est possible alors qu'il y ait un impact organoleptique.

En blanc et rosé, l'usage des levures fermentaires, *Saccharomyces* ou non *Saccharomyces* présente un risque de déclenchement rapide de la fermentation alcoolique avant la fin du débouillage. Il faut donc privilégier des levures non *Saccharomyces* peu ou pas fermentaires dans ce cas telles que *Metschnikowia pulcherima* ou *fructicola* ou la *Pichia kluyveri*.

Quelle dose de levure utiliser en bioprotection ?

Dans le cadre du projet régional et en conditions expérimentales uniquement (en petit volume dans des conditions très maîtrisées), sur raisins sains, en-dessous de 5g/qt, l'implantation de la levure de bioprotection n'est pas garantie. Sur le terrain, en pratique, un apport minimal de 10g/qt est conseillé pour garantir l'implantation de la souche.

La dose doit ensuite être raisonnée au cas par cas selon les conditions de vendanges. Prévoyez des doses plus importantes en cas d'apport précoce des levures de bioprotection à la vigne ou si vous utilisez les levures en condition non réhydratée (doses à 25-30g/qt testées dans le projet).

De même, si le raisin est altéré ou en cas de présence d'*Hanseniaspora uvarum*, prévoyez une augmentation des doses. Toutefois, si la flore indigène préjudiciable est trop importante, il est préférable de renoncer à la bioprotection et de sulfiter !



Doit-on relever après la bioprotection ?

Avec l'utilisation de levures *Saccharomyces* en bioprotection, le relevage est déconseillé, puisqu'une fois la levure implantée, elle est capable d'assurer la fermentation alcoolique (FA). Il faudra s'assurer que les conditions d'apport précoce permettent d'assurer la fin de FA. Donc prévoir certainement une dose de levage plus importante et compléter en azote en début de FA.

Avec l'utilisation de levures non *Saccharomyces*, le relevage est indispensable. Même les non *Saccharomyces* fermentaires n'ont pas la capacité de réaliser complètement la FA. Dans ce cas, vérifier la compatibilité des souches utilisées et les niveaux d'azote en début de FA.

Est-ce que la levure de bioprotection peut gêner la réalisation de la fermentation alcoolique ensuite ?

Oui avec les souches de bioprotection fermentaires *Saccharomyces* ou non *Saccharomyces*, il peut y avoir « incompatibilité ». C'est à dire que la souche utilisée en second pour la FA ne s'implante pas totalement et co-existe avec la souche de bioprotection, cela peut engendrer des ralentissements de FA. La « compatibilité » des souches doit être testée avant ou renseignée par le fabricant.

Comment contrôler les niveaux de population indigène et l'efficacité de la bioprotection ?

Pour évaluer le risque microbien, dans les moûts en pré-fermentaire, l'observation au microscope permet rapidement et à moindre coût d'évaluer la charge levurienne des moûts. On peut également dénombrer les levures et les bactéries viables et non viables par epifluorescence.

Pour aller plus loin, dans l'identification et le dénombrement des espèces en présence, il faut procéder à la mise en culture les populations microbiennes d'un échantillon de moût.

Selon le milieu de culture on peut sélectionner les colonies de levures totales, les *Saccharomyces* ou les non *Saccharomyces*. Chaque espèce est ensuite identifiée et dénombrée par PCR (technique d'amplification enzymatique de l'ADN).

Le dénombrement des populations de levures en présence est aussi un outil essentiel pour évaluer l'efficacité de la bioprotection et son impact sur la fermentation alcoolique. Le contrôle d'implantation sur moût permet d'identifier la levure utilisée pour la bioprotection et à mi-FA, celle utilisée pour réaliser la fermentation alcoolique.

L'analyse renseignera également sur le pourcentage de colonisation de la levure par rapport à la population totale de levures. On peut enfin compléter l'analyse avec un dénombrement des levures indigènes (c'est-à-dire autres que celle(s) utilisée(s) sur le moût) et présentes dans le moût.

Votre laboratoire d'œnologie peut vous accompagner ou vous orienter sur un laboratoire d'analyse microbiologique plus spécialisé.

Liste des laboratoires contactés et ayant proposés une offre d'analyse microbiologique sur moût :

- Laboratoires Dubernet - www.dubernet.com
- L'Institut Coopératif du Vin - www.icv.fr
- L'Institut Français de la vigne et du vin - www.vignevin.com
- Laboratoire d'œnologie d'Inter Rhône
www.institut-rhodanien.com
- Laboratoire Natoli & associés - www.labonatoli.fr
- Microflora - www.microflora.wine

La bioprotection par les levures est-elle la seule bioprotection possible en œnologie ?

Non. Dans le cadre du projet régional, il n'a pas été mis en évidence d'effet de la bioprotection pré-fermentaire par les levures sur le contrôle du développement des bactéries lactiques ou acétiques.

Par contre, pour maîtriser la flore bactérienne indigène, le recours à des bactéries sélectionnées permet sur le même principe que les levures une implantation massive pour maîtriser le développement des bactéries indigènes.

L'utilisation d'une bactérie lactiques *Oenococcus oeni* en fin de FA, en inoculation séquentielle, réduit la phase de latence classique entre fermentation alcoolique et malo-lactique et le risque de dérive microbienne.

L'utilisation de *Lactobacillus plantarum* peu après le début de la FA en co-inoculation assure rapidement la FML avant la FA, sans risque de production d'acidité volatile.

Cela permet ensuite une mise au propre rapide des vins fin FA.

10 Annexe 1

Tableau descriptif des défauts organoleptiques dans les moûts et les vins et des microorganismes impliqués (Sources: ICV Pôle R&D, IFV Pôle Val de Loire/Centre)

Microorganismes impliqués	Défauts (descriptif odeur)	Molécules produites	Condition de production
---------------------------	----------------------------	---------------------	-------------------------

LEVURES

Brettanomyces	« BRETT » (animal, écurie, sueur de cheval)	Phénols volatils : Ethyl 4 phénol, Ethyl 4 gaïacol	Biotransformation des acides cinamiques pré-curseurs présents dans le raisin en molécules phénolées
	GOÛT DE SOURIS (urine souris, pop corn, vomis...)	ETHP, ATHP, APY	Production à partir de l'éthanol des molécules, favorisée par la présence d'ions métalliques (Fe), un pH élevé et la présence de D-fructose
Candida	EVENT (pomme flétrie) ACESCENCE (colle scotch, vernis à ongles)	Acétate d'éthyl (éthanal)	Oxydation de l'éthanol en éthanal (acétaldéhyde) en présence de catalyseur (Fe ou Cu) ou sous l'action de levure ou de bactérie. / Combinaison de l'acide acétique et de l'éthanol par les bactéries lactiques avant ou après FA
Hanseniaspora (ex Klöeckera apiculata)	PIQÛRE acétique (vinaigre) ACESCENCE (colle scotch, vernis à ongles)	Acide acétique / acétate d'éthyl (éthanal)	Oxydation de l'éthanol en éthanal ou en acide acétique / combinaison acide acétique et ethanol condition ZERO SO2
Metschnikowia (certaines espèces)	REDUIT	H2S, mercaptan	Métabolisme de la levure pendant la FA
SchizoSaccharomyces	Désacidification importante		Levures démaliquantes : dégradation de l'acide malique des moûts et des vins
Saccharomyces (certaines espèces)	ACESCENCE (colle scotch, vernis à ongles)	Acétate d'éthyl (éthanal)	Combinaison de l'acide acétique et de l'éthanol par les bactéries lactiques avant ou après FA
ZygoSaccharomyces	Refermentation	Ethanol, CO2	Refermentation des vins sucrés (VDN, édulcorés...)

BACTÉRIES LACTIQUES

Lactobacillus	PIQÛRE lactique	Acide acétique	Fermentation des sucres et production d'acide acétique
	TOURNE (perte d'acidité, hausse de la volatile, ac. lactique et odeur de choucroute)	H2S, CO2....	Dégradation de l'acide tartrique par les Lactobacillus le plus souvent
Pediococcus Lactobacillus	Amines biogènes	Amines biogènes	Biotransformation des acides aminés en amines biogènes
	AMER (forte sensation d'amertume)	Acroéline + tanins	Dégradation du glycerol par des bactéries lactiques pour former l'acroéline et combinaison avec des tanins : formation d'amertume
Pédiococcus	GRAISSE (vin d'aspect visqueux, filant / pas d'altération aromatique)	Exopolysaccharide + bactéries	Synthèse par une bactérie d'un exopolysaccharide à partir de petites quantités de sucre. Le polymère réunit les bactéries entre elles pour former de longues chaînes dans le vin. Favorisé en condition de réduction d'apport de SO2 et après FML
Lactobacillus	GOÛT DE SOURIS (urine souris, pop corn, vomis...)	ETHP, ATHP, APY	Réaction favorisée par la présence d'ions métalliques (Fe), un pH élevé et la présence de D-fructose

BACTÉRIES ACÉTIQUES

Acetobacter aceti	PIQÛRE acétique (vinaigre)	Acide acétique	Oxydation de l'éthanol
	ACESCENCE (colle scotch, vernis à ongles)	Acétate d'éthyl (éthanal)	Combinaison de l'acide acétique et de l'éthanol par les bactéries lactiques avant ou après la FA

Annexe 2

Synthèse des essais de bioprotection mis en œuvre sur les 3 ans de projet

Levure Bioprotection	VIN	2015	2016	2017
Non saccharomyces fermentaires	BLANC			Biodiva 4g/qt R
	ROSÉ			Biodiva 4g/qt R
	ROUGE TRAD	Tandem 4g/qt R		
	MPF			Biodiva 4g/qt R
Non saccharomyces NON fermentaires	BLANC		Gaia 4g/qt R	Gaia 4g/qt R
	ROSÉ		Gaia 4g/qt R	Gaia 4g/qt R
	ROUGE TRAD			
	MPF		Gaia 4g/qt R	Gaia 4g/qt R
Saccharomyces	BLANC		TST 4g/qt R	Exence 4g/qt R
	ROSÉ		TST 4g/qt R	Exence 4g/qt R
	ROUGE TRAD	Okay 4g/qt R		
	MPF		TST 4g/qt R	BY 4g/qt R
Mixte (Primaflora VB ou VR)	BLANC			
	ROSÉ			
	ROUGE TRAD	Prima 4g/qt R		
	MPF			

Essais menés à l'IFV

Non saccharomyces fermentaires	BLANC	Tandem 5g/hl R	Tandem 5g/hl R	Tandem 10g/qt NR
	ROSÉ	Tandem 5g/hl R	Tandem 10g/qt NR	Tandem 10g/qt NR
	ROUGE TRAD	Tandem 4g/qt R	Tandem 10g/qt NR	
	MPF		Tandem 25g/qt R/NR	Tandem 25g/qt R/NR
Non saccharomyces NON fermentaires	BLANC		Gaia 10g/qt NR	Metschnikowia p. 10g/qt R
	ROSÉ		Gaia 10g/qt NR	Metschnikowia p. 10g/qt R
	ROUGE TRAD			
	MPF			
Saccharomyces	BLANC	Okay 5g/hl R / 20g/hl NR	Okay 10g/qt NR	
	ROSÉ	Okay 5g/hl R / 20g/hl NR	Okay 10g/qt NR	
	ROUGE TRAD	Okay 30g/qt NR	Okay 30g/qt NR	
	MPF		D254 25g/qt R	Okay 30g/qt NR
Mixte (Primaflora VB ou VR)	BLANC	Prima 5g/hl R		
	ROSÉ	Prima 5g/hl R		
	ROUGE TRAD	Prima 5g/hl R		
	MPF			

Essais menés à l'ICV

Non saccharomyces fermentaires	BLANC		Tandem 25g/qt R	
	ROSÉ		Tandem 25g/qt R	Biodiva 4g/qt R
	ROUGE TRAD	Tandem 5g/hl R	Tandem 25g/qt R	Biodiva 4g/qt R
	MPF		Tandem 25g/qt R	
Non saccharomyces NON fermentaires	BLANC			
	ROSÉ			Gaia 5g/qt R
	ROUGE TRAD			Gaia 5g/qt R
	MPF			
Saccharomyces	BLANC		L 4600 20g/hl R	
	ROSÉ		L 4600 20g/hl R	Lalvin R. 4600 25g/qt R et NR
	ROUGE TRAD	Okay 4g/qt R	L2323 25g/qt R	Lalvin R. 4600 25g/qt R et NR
	MPF		L2323 25g/qt R	
Mixte (Primaflora VB ou VR)	BLANC			
	ROSÉ			
	ROUGE TRAD	Prima 5g/hl R		
	MPF			

Essais menés à Inter Rhône

Non saccharomyces fermentaires	BLANC			Tandem 12g/hl NR
	ROSÉ			
	ROUGE TRAD			
	MPF			
Non saccharomyces NON fermentaires	BLANC		Frootzen 5g/hl	Gaia 6g/hl R
	ROSÉ			Gaia 4g/hl R ou 6g/hl R
	ROUGE TRAD AVEC MC			Levulia p. 25g/hl R ou 15g/hl R
	MPF			Gaia 16 g/hl R
Saccharomyces	BLANC			
	ROSÉ			
	ROUGE TRAD			
	MPF			
Mixte (Primaflora VB ou VR)	BLANC		5-7 g/hl R	
	ROSÉ		5-7 g/hl R	
	ROUGE TRAD		5-7 g/hl R	
	MPF		5-7g/hl R	
	ROUGE TRAD AVEC MPC		10g/hl R	

Essais suivis par Sudvinbio

10 Annexe 3a

Modalités avec les levures non *Saccharomyces* fermentaires

Année d'essai Site d'expé.	Matière première	Stratégies de bioprotection testées	Process de vinification en pré-FA	Pop. de levures sur les essais Bioprotection sur moût avant fermentation alcoolique				Pop. de levures sur les témoins sur moût avant fermentation alcoolique	
				Pop. totale levures (UFC/ml)	Pop. levure Bioprotection (UFC/ml)	% implantation Levure Bioprotection / Levure totale	Pop. levures indigènes (sacch ou non sacch) (UFC/ml)	Pop. totale levures sur Témoin non sulfité (UFC/ml)	Pop. totale levures sur Témoin sulfité (UFC/ml)

VINIFICATION EN BLANC

2017 IFV	Colombard	Biodiva 4g/qt R	4H macération Débourbage 20H - 12°C	4,5E+06	4,50E+06	100%	0,00E+00	1,10E+04	1,40E+04
2015 ICV	Chardonnay	Tandem 5g/hl	Débourbage 18H - 5°C	ND	ND	ND	ND	3,15E+07	2,10E+06
2016 ICV	Chardonnay	Tandem 10g/qt NR	Débourbage 18H - 5°C	2,50E+06	1,50E+06	60%	1,00E+06	2,80E+05	1,00E+05
2017 ICV	Chardonnay	Tandem 10g/qt NR	Macération sur bourbes 5jours - 8°C (MSB)	2,90E+07	2,32E+07	80%	5,80+06	ND	3,00E+02
2016 IR	Grenache Blanc	Tandem 25g/hl R	Débourbage 24H - 5°C						
2017 SVB	Chardonnay	Tandem 12g/hl NR	Débourbage 12H 17/14°C	2,40E+06		80%			

VINIFICATION EN ROSÉ

2017 IFV	Caladoc	Biodiva 4g/qt R	4H macération Débourbage 20H - 12°C	2,50E+06	2,50E+06	100 %	0,00E+00	2,90E+03	1,10E+03
2015 ICV	Grenache Noir	Tandem 5g/hl	Débourbage 18H - 5°C	3,70E+07	0,00E+00	0 %	3,70E+07	2,70E+07	4,00E+02
2016 ICV	Grenache Noir	Tandem 10g/qt NR	Débourbage 18H - 5°C	6,30E+06	6,30E+06	100 %	0,00E+00	5,00E+04	4,00E+04
2017 ICV	Grenache Noir	Tandem 10g/qt NR	Macération sur bourbes 5jours - 8°C (MSB)	1,20E+08	1,20E+08	100 %	0,00E+00	ND	1,80E+05
2016 IR	Grenache Noir	Tandem 25g/hl R	Débourbage 24H à 5°C	ND					
2017 IR	Grenache noir	Biodiva 4g/qt R après contamination Hanseniaspora et Brettanomyces	Macération 4H Débourbage 24H 5°C	9,30E+06	8,40E+06	90 %	9,00E+05	2,00E+04	1,00E+04

VINIFICATION ROUGE TRADITIONNELLE

2015 IFV	Syrah	Tandem 4g/qt R		ND		10 %			
2015 IFV	Syrah	Tandem 5g/hl	4H Macération avt foulage	5,80E+07	4,64E+07	80 %	1,16E+07	1,30E+08	1,20E+07
2015 ICV	Cabernet Sauvignon	Tandem 5g/hl	4H Macération avt foulage	6,60E+07	6,27E+07	95 %	3,30E+06	1,50E+07	2,30E+05
2016 ICV	Syrah	Tandem 10g/qt NR	À récolte 4H macération	1,30E+07	1,04E+07	80 %	2,60E+06	2,70E+04	5,70E+04
2015 IR		Tandem 5g/hl	4H macération	ND					
2016 IR	Grenache noir	Tandem 25g/hl	1H macération	ND		60 %			
2017 IR	Mourvèdre	Biodiva 5g/qt après contamination Hanseniaspora et Brettanomyces	4H Macération avt foulage	5,05E+06	5,05E+06	100%	0,00E+00	3,00E+06	7,10E+06

VINIFICATION ROUGE AVEC MACERATION PRE-FERMENTAIRE A FROID (MPF)

2017 IFV	Merlot	Biodiva 4g/qt	Éraflage - 72H MPF 12°C	1,50E+06	1,50E+06	100 %	NS	7,50E+04	1,50E+05
2016 ICV		Tandem 25g/qt NR à la récolte	4H macération - foulage MPF : 96H - 14°C	4,00E+05	3,20E+05	80 %	8,00E+04	1,00E+06	1,20E+05
2017 ICV	Syrah	Tandem 25g/qt R après foulage	72h en MPF à 5 ou 12°C	ND sacch avt analyse		ND		4,50E+04	6,40E+05
2017 ICV	Cabernet / Sauvignon	Tandem 25g/qt R après foulage	72h en MPF à 5 ou 12°C	1,50E+08	1,50E+08	100 %	NS	4,50E+04	6,40E+05
2017 ICV	Syrah	Tandem 25g/qt NR à la récolte	3H macération - foulage 72h en MPF à 5 ou 12°C	7,10E+07	1,42E+07	20 %	5,68E+07	4,50E+04	6,40E+05
2017 ICV	Cabernet / Sauvignon	Tandem 25g/qt NR à la récolte	3H macération - foulage 72h en MPF à 5 ou 12°C	2,00E+08	4,00E+07	20 %	1,60E+08	7,40E+05	3,80E+05
2016 ICV		Tandem 25g/qt R après foulage	MPF : 96H - 14°C	2,89E+05	2,89E+05	100 %	NS	1,00E+06	1,20E+05
2015 IR		Tandem 25g/hl R		ND		60 %			
2016 IR	Grenache noir	Tandem 25g/hl R	72H à 12°C						

Légende

R : levure réhydratée

NR : levure non réhydratée

MPF : Macération Pré-fermentaire à froid

MSB : Macération sur bourbes

MC : Macération carbonique

UFC : Unité Formation Colonie

ND : non détecté

NS : population non significative par rapport à la population totale

10 Annexe 3b

Modalités avec les levures non *Saccharomyces* peu ou pas fermentaires

Année d'essai Site d'expé.	Matière première	Stratégies de bioprotection testées	Process de vinification en pré-FA	Pop. de levures sur les essais Bioprotection sur moût avant fermentation alcoolique				Pop. de levures sur les témoins sur moût avant fermentation alcoolique	
				Pop. totale levures (UFC/ml)	Pop. levure Bioprotection (UFC/ml)	% implantation Levure Bioprotection / Levure totale	Pop. levures indigènes (sacch ou non sacch) (UFC/ml)	Pop. totale levures sur Témoin non sulfité (UFC/ml)	Pop. totale levures sur Témoin sulfité (UFC/ml)

VINIFICATION EN BLANC

2016 IFV	Vermentino	Gaïa 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	1,20E+06	1,20E+06	100 %	NS	2,70E+04	3,30E+04
2017 IFV	Colombard	Gaïa 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	1,00E+05	9,00E+04	90 %	1,00E+04	1,10E+04	1,40E+04
2017 IFV	Colombard	Gaïa 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	6,90E+04	6,90E+04	100 %	0,00E+00	1,10E+04	1,40E+04
2016 ICV	Chardonnay	Gaïa 10g/qt NR	Fouillage Macération 2H Débourbage 12H - 5°C	1,30E+06	2,60E+05	20 %	1,04E+06	2,80E+05	1,00E+05
2017 ICV	Chardonnay	Levulia 10g/qt R	Fouillage/eraflage Débourbage 12H - 5°C	3,80E+05	3,40E+05	90 %	4,00E+04	8,60E+03	1,40E+03
2017 ICV	Chardonnay	Levulia 10g/qt R	Fouillage/eraflage Macération sur bourbes 5 jours à 8°C (MSB)	1,10E+06	5,50E+05	50 %	5,50E+05	ND	3,00E+02
2016 SVB	Chardonnay	Frootzen 5g/hl	Débourbage 24H -12°C			100 %			
2017 SVB	Marsanne / Roussanne	Gaïa 6g/hl R	Débourbage 12H-5°C	5,60E+05	3,36E+05	60 %	2,24E+05		

VINIFICATION EN ROSÉ

2016 IFV	Syrah	Gaïa 4g/qt R SY	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	6,60E+05	6,60E+05	100 %	NS	1,20E+04	8,00E+02
2016 IFV	Syrah	Gaïa 4g/qt R SY	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	2,20E+05	1,98E+05	90 %	2,20E+04	1,20E+04	8,00E+02
2017 IFV	Caladoc	Gaïa 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	8,30E+04	8,30E+04	100 %	NS	2,90E+03	1,10E+03
2017 IFV	Caladoc	Gaïa 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	9,50E+03	8,55E+03	90 %	9,50E+02	2,90E+03	1,10E+03
2016 ICV	Grenache noir	Gaïa 10g/qt NR	Fouillage Macération 2H Débourbage 12H - 5°C	6,00E+05	1,80E+05	3 %	4,20E+05	5,00E+04	4,00E+04
2017 ICV	Grenache noir	Metschnik. p. 10g/qt R	Fouillage Macération 2H Débourbage 12H - 5°C	3,10E+06	2,79E+06	90 %	3,10E+05	9,80E+06	2,20E+07
2017 ICV	Grenache noir	Metschnik. p. 10g/qt R	Fouillage Macération 2H - Macération sur bourbes 5 jours à 8°C (MSB)	1,50E+07	1,20E+07	80 %	3,00E+06	ND	1,80E+05
2017 IR	Grenache noir	Gaïa 5g/qt après contamination Hanseniaspora et Brettanomyces	Macération 4H Débourbage 24H 5°C	1,50E+07	1,50E+07	100 %	0,00E+00	2,00E+04	1,00E+04
2017 SVB	Grenache noir	Gaïa 6g/hl R	Débourbage 12H-5°C	6,00E+04	3,00E+04	50 %	3,00E+04	5,20E+07	
2017 SVB	Grenache noir	Gaïa 4g/hl R	Débourbage 4H par flottation			0 %			

VINIFICATION ROUGE TRADITIONNELLE

2016 SVB	Syrah	Primaflora VR 5-7 g/hl				ND			
2016 SVB	Carignan	Primaflora VR 10g/hl	Macération carbonique + levurage 24H après			ND			
2017 SVB	Syrah	Levulia 25g/hl	Macération 12H - 20°C	3,90E+07		50 %	1,95E+07		
2017 SVB	Syrah	Levulia 15g/hl	Macération 24H - 20°C	3,60E+08	1,95E+07	0 %	3,60E+08		
2017 IR	Mourvèdre	Gaïa 5g/qt après contamination Hanseniaspora et Brettanomyces	4H Macération avant fouillage	1,80E+06	1,80E+06	100%	0,00E+00	3,00E+06	7,10E+06

VINIFICATION ROUGE AVEC MACERATION PRE-FERMENTAIRE (MPF)

2016 IFV	Syrah	Gaïa 4g/qt R	Eraflage + MPF 72H 12°C	1,10E+06	9,90E+05	90 %	1,10E+05	ND	6,00E+03
2017 IFV	Merlot	Gaïa 4g/qt R	Eraflage + MPF 72H 12°C	2,10E+06	2,10E+06	100 %	NS	7,50E+04	1,50E+05
2017 IFV	Merlot	Gaïa 4g/qt R	Eraflage + MPF 72H 12°C	5,50E+05	5,50E+05	100 %	NS	7,50E+04	1,50E+05
2016 SVB	Cabernet Sauvignon	Primaflora VR 5-7 g/hl	Eraflage + MPF 72H 10°C			0%			
2017 SVB	Merlot	Gaïa 16g/hl R	Eraflage + MPF 48H 15/18°C	2,00E+06	6,00E+05	30 %	1,40E+06		

1 Annexe 3c

Modalités avec les levures *Saccharomyces*

Année d'essai Site d'expé.	Matière première	Stratégies de bioprotection testées	Process de vinification en pré-FA	Pop. de levures sur les essais Bioprotection sur moût avant fermentation alcoolique				Pop. de levures sur les témoins sur moût avant fermentation alcoolique	
				Pop. totale levures (UFC/ml)	Pop. levure Bioprotection (UFC/ml)	% implantation Levure Bioprotection / Levure totale	Pop. levures indigènes (sacch ou non sacch) (UFC/ml)	Pop. totale levures sur Témoin non sulfitté (UFC/ml)	Pop. totale levures sur Témoin sulfitté (UFC/ml)

VINIFICATION EN BLANC

2016 IFV	Vermentino	TST 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	2,70E+06		10 %			ND
2017 IFV	Colombard	Exence 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	5,60E+04	3,36E+04	60 %	2,24E+04	2,30E+04	1,40E+04
2016 ICV	Chardonnay	Okay bio 10g/qt NR	Fouillage Macération 2H Débourbage 12H - 5°C	1,00E+06	7,00E+05	70 %	3,00E+05	1,10E+04	1,00E+05
2016 IR	Grenache blanc	L4600 R 20g/hl		ND		?		2,80E+05	
2015 ICV	Chardonnay	Okay Bio 5g/qt R	Fouillage Macération 2H Débourbage 12H - 5°C						
2015 ICV	Chardonnay	Okay Bio 20g/qt NR	Fouillage Macération 2H Débourbage 12H - 5°C						

VINIFICATION EN ROSÉ

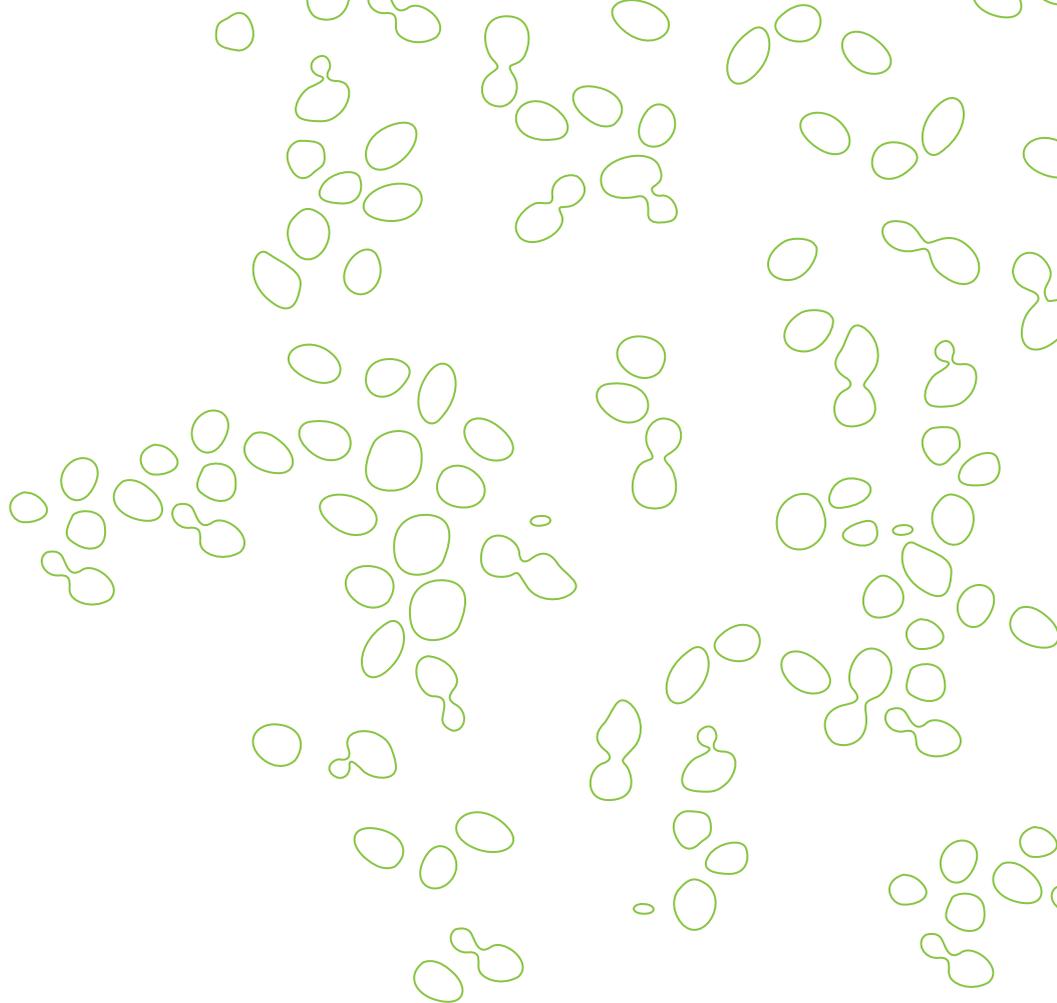
2016 IFV	Caladoc	TST 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	2,00E+05	2,00E+05	100 %	0,00E+00	1,00E+04	ND
2017 IFV	Caladoc	Exence 4g/qt R	Eraflage, 4H Macération Débourbage 20H - 12°C	2,90E+04	2,61E+04	90 %	2,90E+03	1,10E+03	2,90E+03
2015 ICV	Grenache noir	Okay Bio 5g/qt R	Fouillage, Macération 2H Débourbage 12H - 5°C	2,40E+07	0,00E+00	0 %	2,40E+07	2,70E+07	4,00E+02
2015 ICV	Grenache noir	Okay Bio 20g/qt NR	Fouillage, Macération 2H Débourbage 12H - 5°C	1,00E+08	8,00E+07	80 %	2,00E+07	2,70E+07	4,00E+02
2016 ICV	Grenache noir	Okay bio 10g/qt NR	Fouillage, Macération 2H Débourbage 12H - 5°C	2,50E+06	2,00E+06	80 %	5,00E+05	5,00E+04	4,00E+04
2016 IR	Grenache noir	R4600 20g/hl R	Macération 4H Débourbage 24H 5°C						
2017 IR	Grenache noir	R4600 20g/hl R après contamination <i>Hanseniaspora</i> et <i>Brettanomyces</i>	Macération 4H Débourbage 24H 5°C	3,00E+04	2,80E+04	90%	3,00E+03	2,00E+04	1,00E+04
2017 IR	Grenache noir	R4600 20g/hl NR après contamination <i>Hanseniaspora</i> et <i>Brettanomyces</i>	Macération 4H Débourbage 24H 5°C	1,00E+04	9,00E+03	90%	1,00E+03	2,00E+04	1,00E+04

VINIFICATION ROUGE TRADITIONNELLE

2015 IFV	Syrah	Okay 4g/qt R		ND		0 %			
2015 ICV	Syrah	Okay 5g/qt R	4H macération - foulage	1,20E+08	1,08E+08	90 %	1,20E+07	1,30E+08	1,20E+07
2015 ICV	Syrah	Okay 25g/qt NR	4H macération - foulage	9,50E+07	8,55E+07	90 %	9,50E+06	1,30E+08	1,20E+07
2016 ICV	Syrah	Okay 30g/qt NR	4H macération - foulage	9,80E+06	7,84E+06	80 %	1,96E+06	2,70E+05	5,70E+04
2015 ICV	Cabernet Sauvignon	Okay 5g/qt R	4H macération - foulage	8,80E+07	8,80E+07	100 %	NS	1,50E+07	2,30E+05
2015 ICV	Cabernet Sauvignon	Okay 25g/qt NR	4H macération - foulage	7,80E+07	7,80E+07	100 %	NS	1,50E+07	2,30E+05
2016 IR	Grenache noir	L2323 20g/hl R	1H macération	ND		40 %			
2015 IR	Grenache noir	Okay 5g/hl	4H macération	ND					
2017 IR	Mourvèdre	L2323 25g/hl R après contamination <i>Hanseniaspora</i> et <i>Brettanomyces</i>	4H macération	6,10E+06	6,10E+06	100 %	0,00E+00	3,00E+06	7,10E+06
2017 IR	Mourvèdre	L2323 25g/hl NR après contamination <i>Hanseniaspora</i> et <i>Brettanomyces</i>	4H macération	4,20E+06	3,80E+06	90 %	4,00E+05	3,00E+06	7,10E+06

VINIFICATION ROUGE AVEC MACERATION PRE-FERMENTAIRE FROID (MPF)

2016 IFV	Syrah	TST 4g/qt R	Eraflage - 72H MPF 12°C	2,60E+07	2,21E+07	85 %	3,90E+06	ND	6,00E+03
2016 IFV	Syrah	TST 4g/qt R	Eraflage - 72H MPF 12°C	2,00E+07	1,44E+07	72 %	5,60E+06	ND	6,00E+03
2017 IFV	Syrah	By 4g/qt R	Eraflage - 72H MPF 12°C	1,00E+06	1,00E+06	100 %	NS	7,50E+04	1,50E+05
2016 ICV		D254 25g/qt R		4,80E+07	4,31E+07	90 %	4,90E+06	ND	ND
2017 ICV	Syrah	Okay 30g/qt NR	3H macération +MPF 72H-12°C	7,50E+07	7,50E+07	100 %	NS	4,50E+04	6,40E+05
2017 ICV	Cabernet Sauvignon	Okay 30g/qt NR	3H macération +MPF 72H-12°C	2,90E+08	2,32E+08	80 %	5,80E+07	7,40E+05	3,80E+05
2016 IR	Grenache noir	L2323 20g/hl R	MPF 72H - 12°C	ND		100 %			



11.

Bibliographie

Coarer M., 2002. *Flores et fermentations spontanées.* Actes des Rencontres techniques « Micro-organismes et gestion thermique » 18 Décembre 2008, organisé par IFV Midi Pyrénées.

Colosio MC. 2015. *Gestion des Fermentations en Flore Indigène.* Compte rendu technique Colloque EUROVITI « Vinification bas intrants : les clés de la réussite ». 14 janvier 2015, organisé par IFV Pôle Val de Loire dans le cadre du 29ème salon SIVAL.

Cottureau P. *Levures indigènes et maîtrise des fermentations spontanées.* Fiche pratique publiée sur le site internet IFV Occitanie : <https://www.vignevin-occitanie.com/fiches-pratiques/levures-indigenes-et-maitrise-des-fermentations-spontanees/>

Legras JL. 2018. *Que savons-nous sur la diversité des levures *Saccharomyces cerevisiae* en œnologie ?* Acte du colloque Journée scientifique Vigne-vin. 21 Mars 2018, organisé par l'unité mixte de recherches Sciences pour l'œnologie (SPO) et l'institut des hautes études de la vigne et du vin (IHEV)

Lucas P., 2019. *Levure et bactérie de fermentation. Vidéos réalisées lors des Journées techniques vigne et vin 21-22 Février 2019, organisées par Vignerons Bio Nouvelle-Aquitaine, Interbio Nouvelle-Aquitaine, la FRAB, Agrobio Périgord, le réseau des Chambres d'Agriculture et l'IFV.* Vidéo téléchargeable sur : <https://www.youtube.com/watch?v=6MaVK3uHSDs&list=UUz4c3gJGAJ39oiRE7X8R-M5g&index=16>

Renouf V. 2006. *Description de la diversité microbienne durant l'élaboration du vin : interaction et équilibres – Relation avec la qualité du vin.* (Thèse de Doctorat INP Toulouse)

Projet Casdar Levain bio 2012-2015, coordonné par Patrick Lucas de l'ISVV et Alain Poulard de l'IFV, en partenariat avec : l'ITAB, le SVBA, le CAB Pays de la Loire, le SEDARB, l'IFPC, Microflora et Sudvinbio.

Valérie PLADEAU
SUDVINBIO
valerie.pladeau@sudvinbio.com
www.sudvinbio-conseil.com

Lucile PIC
GROUPE ICV
lpic@icv.fr
www.icv.fr

Philippe COTTEREAU
INSTITUT FRANÇAIS DE LA VIGNE ET DU VIN
philippe.cottreau@vignevin.com
www.vignevin.com

Nicolas RICHARD
INTER RHÔNE
nrichard@inter-rhone.com
www.vins-rhone.com



DOCUMENT RÉALISÉ AVEC LE SOUTIEN FINANCIER DE

