



De nombreuses techniques ont été développées pour remplacer partiellement ou totalement le  $\text{SO}_2$ , sans véritable succès. Aujourd'hui, Inter Rhône teste l'efficacité de la bio-protection sur les vins de la Vallée du Rhône.

# La bio-protection des vins, un sujet au cœur de l'actualité



► Mohand SADOUDI & Virginie SERPAGGI  
(Chargés de Recherche à Inter Rhône)

**L**a production de vin en Vallée du Rhône a un impact commercial très important avec 459 M€ de revenus à l'export en 2015 (Rapport d'activité Inter Rhône, 2015). Donc, veiller à la préservation et/ou à l'amélioration de la qualité des vins est d'une importance capitale pour l'économie régionale et nationale.

En effet, le vin est sujet à différents phénomènes d'altérations d'origines microbiologiques et physico-chimiques ayant des impacts directs sur sa qualité organoleptique. Aujourd'hui, la pratique la plus répandue en œnologie pour éviter ces altérations est l'utilisation du dioxyde de soufre ( $\text{SO}_2$ ). Ce composé qui est ajouté dans le vin à différentes étapes de son élaboration permet de réduire ou d'éliminer les micro-organismes d'altération et d'assurer sa conservation à long terme (Ribereau-Gayon *et al.*, 2006).

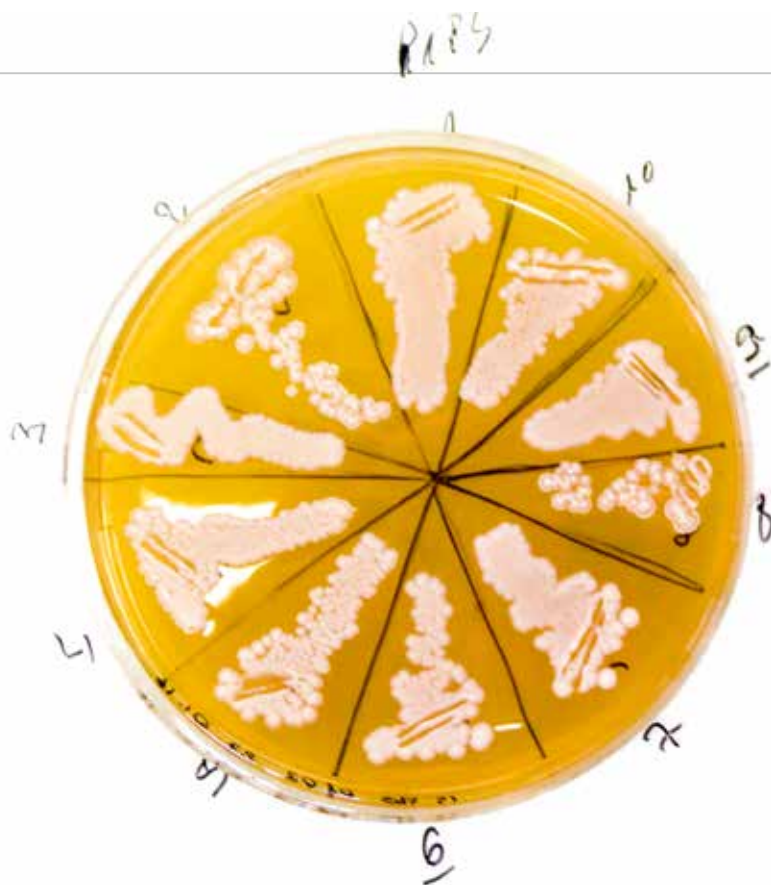
Malgré ces avantages, le  $\text{SO}_2$  peut avoir des effets négatifs sur la santé. Les sulfites obtenus à partir du dioxyde de soufre ajouté dans le vin peuvent provoquer des intolérances ou des réactions allergiques chez certains consommateurs. La plupart des personnes saines peuvent tolérer des concentrations supérieures à 5 ppm, tandis que les personnes sensibles aux sulfites peuvent subir un certain nombre de symptômes : dermatite, urticaire, angio-œdème (gonflement de la peau et des muqueuses), douleurs abdominales, diarrhées, bronchoconstriction (difficultés respiratoires)

et réactions anaphylactiques (Valley *et al.*, 2009). Les concentrations maximales en  $\text{SO}_2$  total autorisées, qui ont progressivement été réduites, sont aujourd'hui selon la réglementation européenne de 150 mg/L pour les vins rouges et de 200 mg/L pour les vins blancs (règlement (EC) 606/2009). En tenant compte du risque de l'ingestion du  $\text{SO}_2$  pour la santé et l'intérêt de plus en plus important pour les vins biologiques et les vins sans ou avec le moins d'intrants possible, les professionnels de la filière vinicole sont confrontés à la demande du consommateur concernant la réduction des sulfites dans le vin. Différentes techniques ont donc été développées pour substituer partiellement ou totalement au  $\text{SO}_2$  : voies chimiques ou physiques.

◀ Aujourd'hui, la qualité et la sécurité alimentaire sont au premier plan des préoccupations du consommateur.

© C Grillé





## De nombreux produits ou procédés testés

Un certain nombre de composés chimiques (de synthèse) et de produits naturels ont été testés notamment le Lysozyme, le Chitosan, les Bactériocines comme la Nisin, le DiMéthyl-DiCarbonate (DMDC), certains composés phénoliques (ex : acides hydrocinnamiques et hydrobenzoïques), les enzymes (ex : -glucanase) et l'hydroxytrosol (complexe d'argent colloïdal) (Azollini et al., 2010 ; Rojo-Bezarez et al., 2007 ; Enrique et al., 2010 ; Threlfall et al., 2002 ; Izquierdo-Canas et al., 2012). Au même titre que la voie chimique, plusieurs procédés physiques ont vu le jour comme les différents types de filtration, l'irradiation (Falguera et al., 2013), les champs électriques pulsés (Puertolas et al., 2010), les ultra-sons (Ferraretto et al., 2013), les micro-ondes (Zheng et al., 2016), les décharges électriques à haute tension (Delsarte et al., 2015) (Tableau 1).

Malgré les avantages propres à chacun de ces procédés, aucun d'entre eux n'a une efficacité aussi complète que le  $SO_2$ . Mais les conséquences de son utilisation sur la santé imposent la poursuite du développement de ces méthodes existantes ainsi que la mise en œuvre de procédés innovants pouvant les remplacer.

D'autant plus qu'aujourd'hui, la qualité et la sécurité alimentaire sont au premier plan des préoccupations du consommateur et influencent fortement son choix. Le consommateur des temps modernes est à la recherche de produits de qualité supérieure

sans ou avec peu d'additifs, frais, microbiologiquement sains et avec une durée de conservation maximale.

Un des moyens naturels de protection de la vendange contre les altérations microbiologiques, par substitution au  $SO_2$ , est l'utilisation des levures *non-Saccharomyces* d'intérêts œnologiques sélectionnées. Ce moyen de lutte contre les micro-organismes indésirables est connu sous le nom de bio-protection ou bio-contrôle.

## Qu'est-ce que la bio-protection ?

La bio-protection est une méthode de prévention du développement des micro-organismes d'altération sur la vendange ou dans les moûts en faisant appel à des micro-organismes (levures ou bactéries), en opposition au composés dits "chimiques" classiquement utilisés en œnologie.

Ce procédé consiste, en général, en l'apport d'un ou de plusieurs micro-organismes en quantité suffisante sur vendange ou à l'encuvage. Ainsi, la forte proportion de ces micro-organismes leur permet de coloniser rapidement le milieu empêchant le développement des levures et bactéries d'altération présentes en plus faible quantité.

Les levures *non-Saccharomyces* sont les micro-organismes les plus documentés aujourd'hui concernant leur potentiel bio-protecteur. Un certain nombre de ces levures ont des propriétés antagonistes vis-à-vis des levures et bactéries indésirables dans le vin.

◀ Un certain nombre de levures *non-Saccharomyces* ont des propriétés antagonistes vis-à-vis de micro-organismes indésirables du vin.

## Pourquoi les levures non-Saccharomyces ?

Les levures *non-Saccharomyces* constituent un large groupe de levures naturellement présentes sur le vin. Ce pool de levure est extrêmement diversifié en termes d'espèces et de propriétés technologiques. Ces levures sont présentes en grand nombre durant les premiers stades de la fermentation alcoolique (FA), notamment durant la macération pré-fermentaire. Même si certaines d'entre elles restent métaboliquement actives jusqu'à la fin de la fermentation alcoolique (FA), la plupart disparaissent au cours de la FA d'un moût levuré.

Le raisin et les premières étapes de vinification constituent leur habitat naturel et les conditions optimales pour leur développement. De ce fait, l'utilisation de ces levures *non-Saccharomyces* "sélectionnées" pour leurs propriétés technologiques dans les stades précoces de vinification trouve tout son sens. Leur dominance en début de fermentation peut être suffisante pour contribuer efficacement à la composition du profil aromatique du vin. Les différentes études réalisées à ce sujet ont souligné le rôle évident des levures *non-Saccharomyces* dans l'amélioration de la composition analytique et de la qualité sensorielle du vin en lui conférant plus de complexité aromatique. Un autre intérêt technologique de certaines espèces *non-Saccharomyces* sélectionnées est leurs propriétés antagonistes vis-à-vis de différentes levures d'altération qui font d'elles de bonnes candidates à la bio-protection. Plusieurs études scientifiques ont mis en évidence le rôle de différentes souches de *Metschnikowia pulcherrima*, *Torulaspora delbrueckii*, *Starmerella bacillaris*...etc., dans l'inhibition d'un grand nombre de souches de levures indésirables du genre *Hanseniopsis* (levures apiculées), *Saccharomyces*, *Pichia*, *Brettanomyces*, etc. Aujourd'hui, des préparations sous forme de LSA de *Metschnikowia pulcherrima* et de *Torulaspora delbrueckii*, seules ou en association avec *Saccharomyces cerevisiae* sont commercialisées à usage de bio-protection.

## Inter Rhône participe à un programme d'étude sur la bio-protection

Pour évaluer la pertinence de cette méthodologie et l'efficacité de ces levures commercialisées sur des vins de la vallée du Rhône, l'équipe R&D d'Inter Rhône s'est alliée à l'IFV, l'ICV, la Chambre d'agriculture du Roussillon et SudVinBio (porteur du projet) pour la réalisation d'un programme d'études expérimentales subventionné par la Région Occitanie / Pyrénées-Méditerranée



axé sur "la maîtrise et la gestion innovante des populations microbiennes en bio".

Dans le cadre de ce projet, différentes actions sont menées sur trois ans d'expérimentation. L'action de cette année a porté sur l'évaluation des micro-organismes utilisés comme alternative à l'utilisation du SO<sub>2</sub>. Un sujet au cœur de l'actualité tourné vers un objectif global de réduction des intrants.

Plusieurs préparations de micro-organismes de bio-protection sont disponibles sur le marché. Mais, les données scientifiques confirmant l'efficacité de ces produits entrent la plupart du temps dans un cadre

d'études confidentielles. C'est pourquoi Inter Rhône s'est intéressé à l'évaluation des performances de la bio-protection sur des vins de la Vallée du Rhône. Ce travail consiste en l'ajout de différentes préparations de levures directement sur la vendange (machine à vendanger) en substitution aux sulfites. Il s'agit d'étudier le potentiel de la bio-protection à remplacer tout ou une partie des propriétés du SO<sub>2</sub>, à savoir l'activité anti-oxydante et anti-microbienne. Les essais ont donc été conduits sur matrices rouge, blanc et rosé avec différents types de levures de bio-protection et plusieurs

itinéraires techniques : avec ou sans macération pré-fermentaire, avec ou sans sulfitage, avec ou sans levurage... Tous les vins obtenus à partir de ces itinéraires seront mis en bouteilles prochainement, et, en complément des analyses physicochimiques, seront évalués par le jury expert dans le but de déterminer les modes de vinifications les plus adaptés pour réduire les doses de sulfites sans courir le risque de déviations microbiologiques et organoleptiques. Les résultats de ce programme d'études feront l'objet d'un prochain article. ■

**TABLEAU 1 : LISTE DES PROCÉDÉS EXISTANTS POUR LA STABILISATION MICROBIOLOGIQUE DES VINS**

PROCÉDÉ	APPLICATION	LIMITE
<b>TRADITIONNEL</b>		
Dioxyde de soufre (SO <sub>2</sub> )	Anti-microbien et antioxydant	Conséquences sur la santé humaine
Filtration	Séparation physique des micro-organismes du vin	Utilisation uniquement avant mise en bouteilles (n'est pas utilisée pour écarter les micro-organismes en élevage) Pourrait affaiblir le potentiel aromatique et sensoriel du vin.
<b>CHIMIQUE</b>		
Lysozyme	Bactéricide	Inefficace vis-à-vis des levures comme <i>Brettanomyces</i>
Bactériocine (nisin, pediocine, plantaricine)	Anti-bactérien	Action limitée à certaines espèces de bactéries
Enzymes (B-glucanases)	Anti-levurien	Inefficace sur les bactéries
Diméthylcarbonate (DMDC)	Inactivation des enzymes cellulaires	Non efficace contre les bactéries lactiques et acétiques à dose autorisée (200 mg/L)
Chitosan	Action sur la membrane cellulaire et précipitation	Action limitée à certains micro-organismes comme <i>Brettanomyces</i>
Hydroxytyrosol	Antioxydant	
<b>PHYSIQUE</b>		
Irradiation UV	Destruction de l'ADN cellulaire	Impose de la verrerie transparente, peut engendrer le goût de lumière
Champs électriques pulsés	Destruction de la membrane cellulaire	Nécessite l'utilisation en combinaison avec lysozyme, enzymes, bactériocine ou SO <sub>2</sub> pour l'effet bactéricide
Ultra-sons	Fragilisation de la membrane cellulaire par envoi de micro-bulles à haute énergie	
Micro-ondes	Destruction des cellules (agitation des molécules d'eau)	
Décharges électriques à haute tension	Destruction de la membrane cellulaire	
Hautes pressions hydrostatiques	Inactivation d'une large gamme de levures et bactéries Destruction des enzymes d'oxydation N'affecte pas les arômes du vin	
<b>MICROBIOLOGIQUE</b>		
Bio-protection (ou bio-contrôle)	Pas d'intrant chimique Apporte de la complexité aromatique au vin Sécurise le départ en fermentation	