



Une alternative au SO₂ en phase pré-fermentaire : la bioprotection

Sara Windholtz^{1,2}, Claudia Nioi^{1,2}, Cécile Thibon^{1,2}, Georgia Lytra^{1,2}, Stéphane Bécquet³, Emmanuel Vinsonneau⁴, Joana Coulon⁵, Isabelle Masneuf-Pomarède^{1,2}

¹ Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, Bordeaux Sciences Agro, INRAE, OENO, UMR 1366, ISW, F-33140 Villenave d'Ornon, France

² Bordeaux Sciences Agro, Bordeaux INP, INRAE, OENO, UMR 1366, ISW, F-33170 Gradignan, France

³ Vigneron Bio Nouvelle Aquitaine, Montagne, France

⁴ Institut Français de la Vigne et du Vin, Pôle Bordeaux-Nouvelle Aquitaine, France

⁵ BioLaffort, 11 Rue Aristide Bergès, 33270 Floirac, France

Contexte

De nombreuses méthodes alternatives (physiques et chimiques) au dioxyde de soufre (SO₂) sont présentes sur le marché ou en cours d'expérimentation¹. Parmi elles, la bioprotection par ajout de microorganismes vivants est une solution proposée. Cette pratique, déjà employée dans le secteur agroalimentaire, consiste en l'ajout de microorganismes capables de coloniser le milieu. Leur présence permet de limiter, voire inhiber, la prolifération d'autres microorganismes indésirables sans altérer les propriétés sensorielles du produit. En œnologie, des recherches récentes ont été conduites afin de caractériser finement l'impact de l'utilisation de la bioprotection comme alternative au SO₂ au cours des étapes préfermentaires de vinifications.

Occupation de l'espace dans le moût de raisin

En 2017, à partir de merlot, trois modalités ont été étudiées : bioprotection (BP) appliquée à 5 g/hL (sans ajout de SO₂), 0 : sans SO₂ ; SO₂ : 5 g/hL².

La bioprotection utilisée (formulation sous forme de LSA) était composée d'un mélange (50/50) de *Torulaspora delbrueckii* et *Metschnikowia pulcherrima*.

Le protocole du fabricant a été suivi pour la réhydratation de la bioprotection. Cette dernière a été appliquée par aspersion directement sur la vendange. Au cours de la phase préfermentaire à 10°C, trois prélèvements ont été effectués : à l'encuvage puis après 24h et 48h de macération préfermentaire. Une analyse par métabarcoding et séquençage haut débit a permis de caractériser la biodiversité microbienne du moût de raisin et de déterminer l'abondance relative des différents genres et espèces au sein de la communauté fongique (Fig. 1). Ainsi, les espèces utilisées en bioprotection représentent en moyenne 50 % de cette microflore dans le moût de raisin étudié. Les abondances relatives de *T. delbrueckii* (bleu clair) augmentent au cours de la macération préfermentaire à l'inverse de *M. pulcherrima*. La forte présence de ces deux souches permet de limiter la place de certains microorganismes tels que *Hanseniaspora*, *Aspergillus* ou encore *Aureobasidium*, non souhaités dans le moût. Le même constat a pu être réalisé dans d'autres moûts rouges de Bordeaux³. De plus, la mise en œuvre de la bioprotection limite l'implantation précoce de souches de *Saccharomyces cerevisiae* indigènes, contrairement aux deux autres modalités. Des résultats similaires ont également été observés dans du moût blanc avec différents produits de bioprotection.

Dans le secteur agroalimentaire, les additifs sont utilisés depuis de nombreuses années pour contrer la détérioration des aliments et augmenter leur durée de vie. Face à la demande sociétale, la réduction de ces additifs chimiques est nécessaire car source de controverse. En œnologie, le dioxyde de soufre (SO₂) est particulièrement concerné. La bioprotection, en tant qu'alternative au sulfitage pendant les phases préfermentaires a fait l'objet de recherches récentes. Cet article technique aborde les nombreux avantages que présente l'application d'agents de bioprotection.

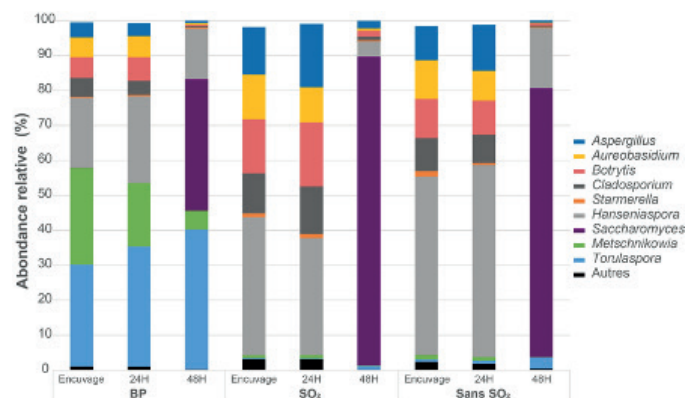


FIGURE 1. Abondances relatives (%) des communautés fongiques dans un moût de merlot de 2017².

Consommation d'O₂ par la bioprotection

Les levures consomment de l'oxygène pour leur métabolisme. L'utilisation de la bioprotection à hauteur de 5 g/hL, correspondant à une concentration de l'ordre de 2.10⁶ cellules/mL, entraîne une consommation de l'O₂ dissous dans le moût, comme l'ont montré des premières expérimentations en blanc⁴. L'O₂ a été consommé plus rapidement dans la modalité bioprotection (BP), contrairement au témoin sans SO₂ (Ø), où probablement la consommation de l'O₂ est due à l'activité des polyphénols oxydases. L'utilisation d'agents de bioprotection a permis de maintenir des concentrations significativement plus élevées en glutathion (GSH) à la fin des fermentations alcooliques, en comparaison avec le témoin (Fig.2.B). Pour rappel, ce composé antioxydant est naturellement présent dans le moût et est également synthétisé par les levures au cours de la fermentation alcoolique. De plus, la présence des microorganismes utilisés pour la bioprotection semble limiter le brunissement du moût (évaluation visuelle) (Fig.2A). La poursuite de ces investigations⁵ a montré que la consommation d'O₂ pouvait être liée à l'espèce, mais également à la souche de levure utilisée en BP. Ainsi, *Metschnikowia pulcherrima* possède une capacité de consommation d'O₂ (Oxygen Consumption Rate, OCR) significativement plus élevée que les autres espèces (Fig.2.C). Ceci indique qu'elle consomme plus rapidement l'O₂ dissous que d'autres levures. De plus, au sein d'une même espèce (par ex. *L. thermotolerans*), des variations significatives peuvent exister entre les souches vis-à-vis de leurs valeurs d'OCRs. Cette capacité de consommation d'O₂ pourrait expliquer la diminution des populations de bactéries acétiques observée lors de l'utilisation de bioprotection⁵.



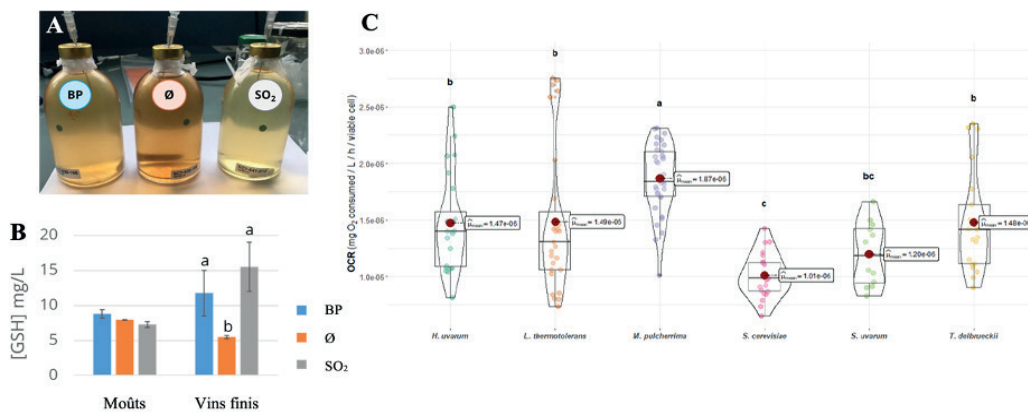


FIGURE 2. Consommation d'O₂ par la bioprotection. (A) Moût de sémillon; (B) [GSH] dans les moûts et les vins de sémillon; (C) OCRs moyens par espèce (jus de raisin). BP : 5 g/hL de bioprotection ; Ø : sans SO₂ ; SO₂ : 5g/hL. ANOVA (p-value<0.05).

Signature aromatique et impact sensoriel de la bioprotection

Au-delà de leur utilisation à faible dose en bioprotection, les levures non-*Saccharomyces* sont commercialisées pour leurs propriétés biotechnologiques. Selon les espèces, elles limitent la production d'acidité volatile, augmentent l'arôme fruité des vins ou augmentent leur acidité dans un contexte de changement climatique. Pour cela, elles sont appliquées à des doses élevées compatibles avec leur contribution au processus fermentaire (15-30 g/hL), en co-inoculation ou application séquentielle avec des souches sélectionnées de *S. cerevisiae* (permettant de conduire une fermentation alcoolique complète).

Ici, l'objectif était d'étudier l'impact chimique et sensoriel de différentes levures non-*Saccharomyces*, utilisées soit en tant qu'agents de bioprotection à faible dose, soit appliquées à forte dose en inoculation séquentielle avec *S. cerevisiae*⁶. Les analyses des composés aromatiques des vins ont permis de séparer ces derniers selon la modalité d'application des levures non-*Saccharomyces* (Fig.3.A). En effet, les vins issus d'une inoculation séquentielle sont corrélés aux acétates d'alcools supérieurs, alors que ceux issus d'un itinéraire avec bioprotection (dont l'ensemencement est réalisé à dose plus faible sans recherche d'activité fermentaire) à des esters éthyliques d'acides gras. D'un point de vue sensoriel, un impact marqué est ressenti sur le fruité de vins jeunes issus de merlot, les vins issus d'inoculations séquentielles étant les plus intenses, suivis des vins obtenus avec bioprotection, eux-mêmes plus intenses que le vin témoin.

Dans le cadre d'une autre expérimentation, des analyses sensorielles ont été menées sur ces vins après un vieillissement en bouteille de 18 mois⁷ : les vins obtenus avec bioprotection n'étaient pas sensoriellement différents des vins sans SO₂, mais se distinguaient des vins sulfités. Néanmoins, le descripteur « cassis frais », des vins traités avec bioprotection a été noté comme étant plus intense que celui des vins sulfités.

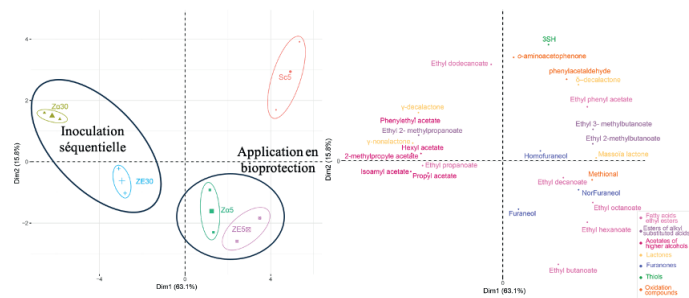


FIGURE 3. Analyses en Composantes Principales de vins de merlot avec différentes applications de levures non-*Saccharomyces*. Sc5 : Témoin, ajout de *Saccharomyces cerevisiae* à 5 g/hL sur vendange; Zα5 : *T. delbrueckii* appliquée en bioprotection à 5 g/hL sur vendange; ZE5 : mélange *M. pulcherrima* et *T. delbrueckii* appliqué en bioprotection à 5 g/hL; Zα30 : *T. delbrueckii* appliquée à l'encuvage à 20 g/hL et ajout de *S. cerevisiae* après une perte de 10 points de densité (inoculation séquentielle) ; ZE30 : *M. pulcherrima* et *T. delbrueckii* appliquées à l'encuvage à 20 g/hL et ajout de *S. cerevisiae* après perte de 10 points de densité (inoculation séquentielle).

Pour conclure, l'utilisation de levures non-*Saccharomyces* en tant qu'agents de bioprotection est prometteuse comme alternative au dioxyde de soufre dans les premières étapes de vinification dans le cas d'une vendange saine. L'ensemble des résultats indique que la bioprotection possède :

- 1/ Des propriétés de protection partielles vis-à-vis des phénomènes d'oxydation, en limitant le brunissement précoce des moûts par consommation de l'O₂ dissous, permettant ainsi de préserver les concentrations en GSH dans les vins blancs ;
- 2/ Des propriétés antimicrobiennes, en limitant les abondances relatives de certaines communautés fongiques dans le moût de raisin par occupation de l'espace et une limitation des populations de bactéries acétiques ;
- 3/ Des propriétés chimiques et sensorielles, caractérisées par la production d'esters éthyliques d'acides gras, augmentant ainsi le fruité dans les vins jeunes ;
- 4/ Des propriétés sensorielles après un vieillissement en bouteille, augmentant ainsi la note de « cassis frais ». ■

1 Lisanti, M. T., Blaiotta, G., Nioi, C., & Moio, L. (2019). Alternative Methods to SO₂ for Microbiological Stabilization of Wine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 455-479. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12422>

2 Windholtz, S., Vinsonneau, E., Farris, L., Thibon, C., & Masneuf-Pomarède, I. (2021). Yeast and Filamentous Fungi Microbial Communities in Organic Red Grape Juice : Effect of Vintage, Maturity Stage, SO₂, and Bioprotection. *Frontiers in Microbiology*, 12, 748416. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.748416>

3 Windholtz, S., Dutilh, L., Lucas, M., Maupeu, J., Vallet-Courbin, A., Farris, L., Coulon, J., & Masneuf-Pomarède, I. (2021). Population Dynamics and Yeast Diversity in Early Winemaking Stages without Sulfites Revealed by Three Complementary Approaches. *Applied Sciences*, 11(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/app11062494>

4 Windholtz, S., Nioi, C., Redon, P., Masneuf-Pomarede, I., & Thibon, C. (2021). Does bioprotection by adding yeasts present antioxidant properties ? [Poster]. 8th edition of Macrowine virtual congress. <https://www.infowine.com/intranet/libretti/0/19546-38%20Sara%20WINDHOLTZ%20Poster%20Macrowine%202021.pdf>

5 Windholtz, S., Nioi, C., Coulon, J., & Masneuf-Pomarède, I. (2023). Bioprotection by non-*Saccharomyces* yeasts in oenology : Evaluation of O₂ consumption and impact on acetic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 110338. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110338>

6 Windholtz, S. et al. Non-*Saccharomyces* yeasts as bioprotection in the composition of red wine and in the reduction of sulfur dioxide. *LWT* 149, 111781 (2021).

7 Pelonier-Magimel, E., Windhotz, S., Pomarède, I. M., & Barbe, J.-C. (2020). Sensory characterisation of wines without added sulfites via specific and adapted sensory profile. *OENO One*, 54(4), Article 4. <https://doi.org/10.20870/oenone.2020.54.4.3566>