



Diminution du SO₂ et Stabilité Microbiologique

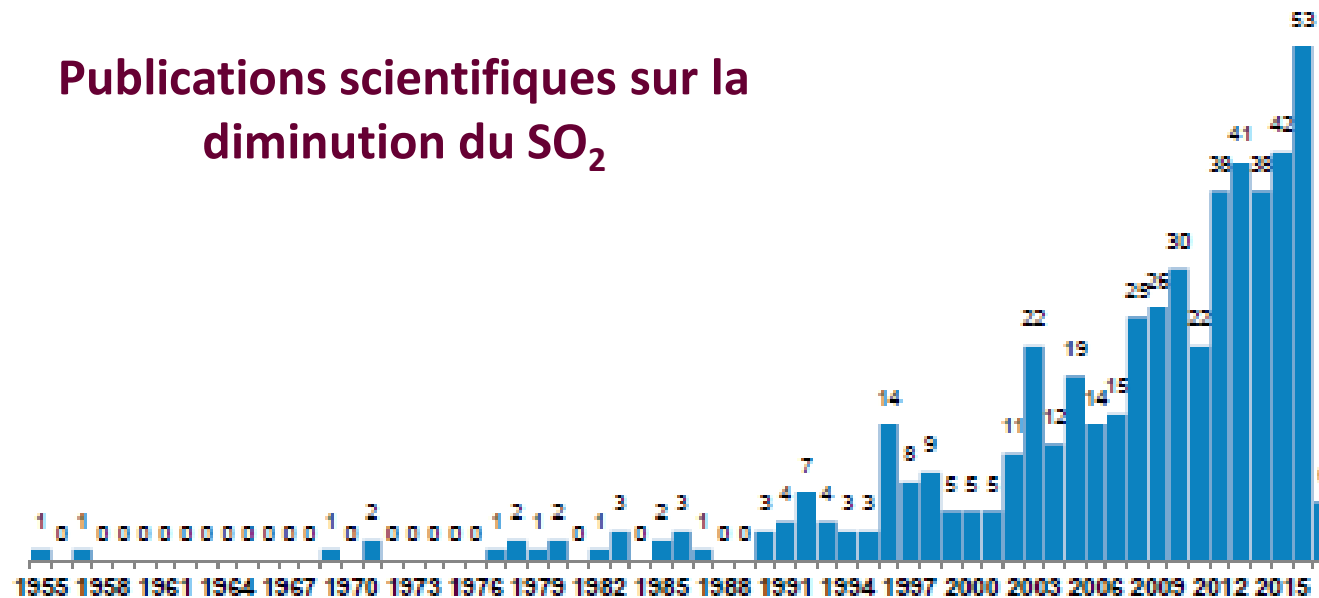
Joana COULON

Responsable R&D Microbiologie

LA DIMINUTION DU SO₂ : UNE TENDANCE A LA HAUSSE

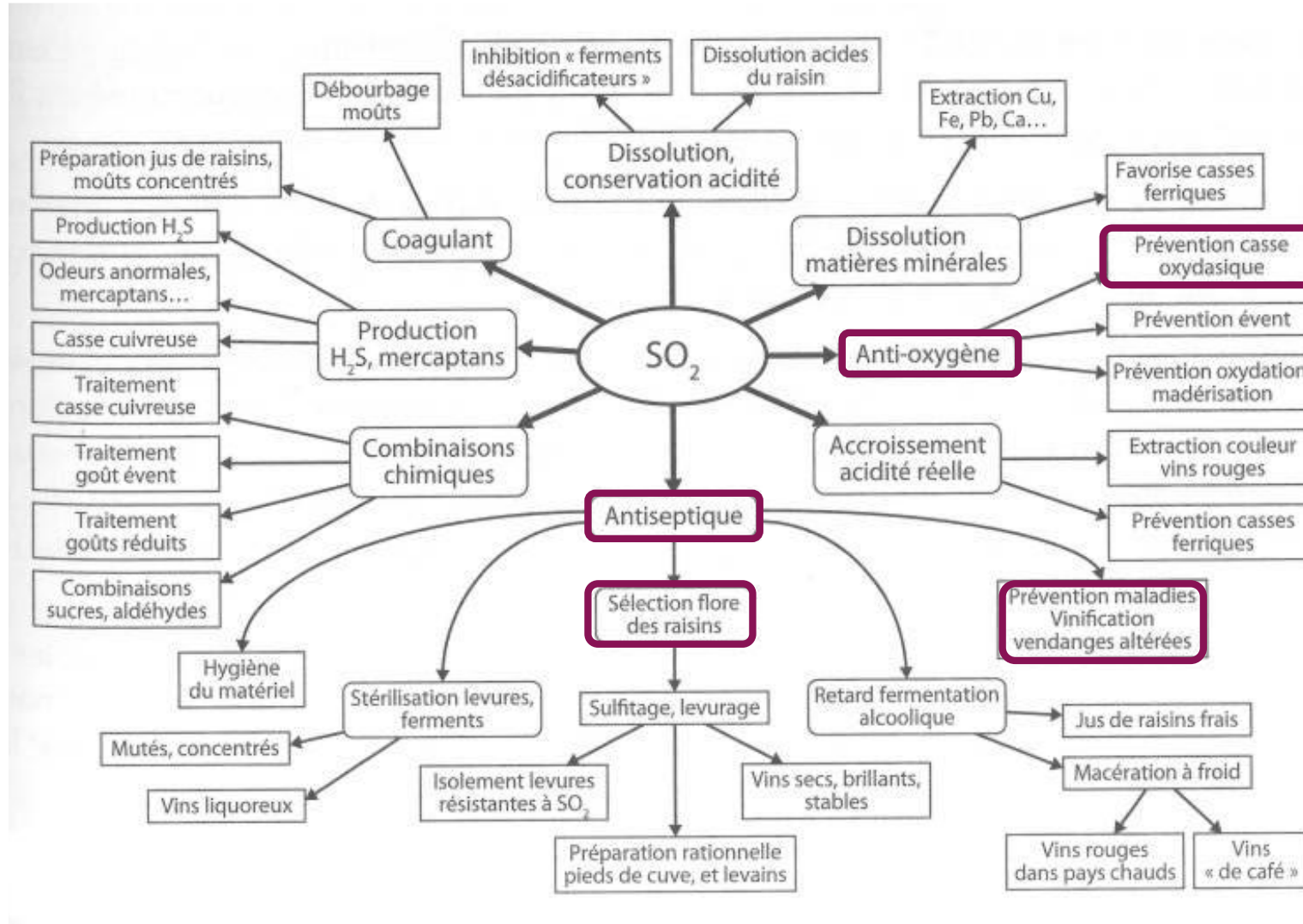
Vins Bio : 29 % des vigneronns réalisent une cuvée sans SO₂ (Enquête Institut Technique de l'Agriculture Biologique, 2015) – Tendence en hausse chez les « Bios » mais aussi les « Conventionnels »

Publications scientifiques sur la diminution du SO₂



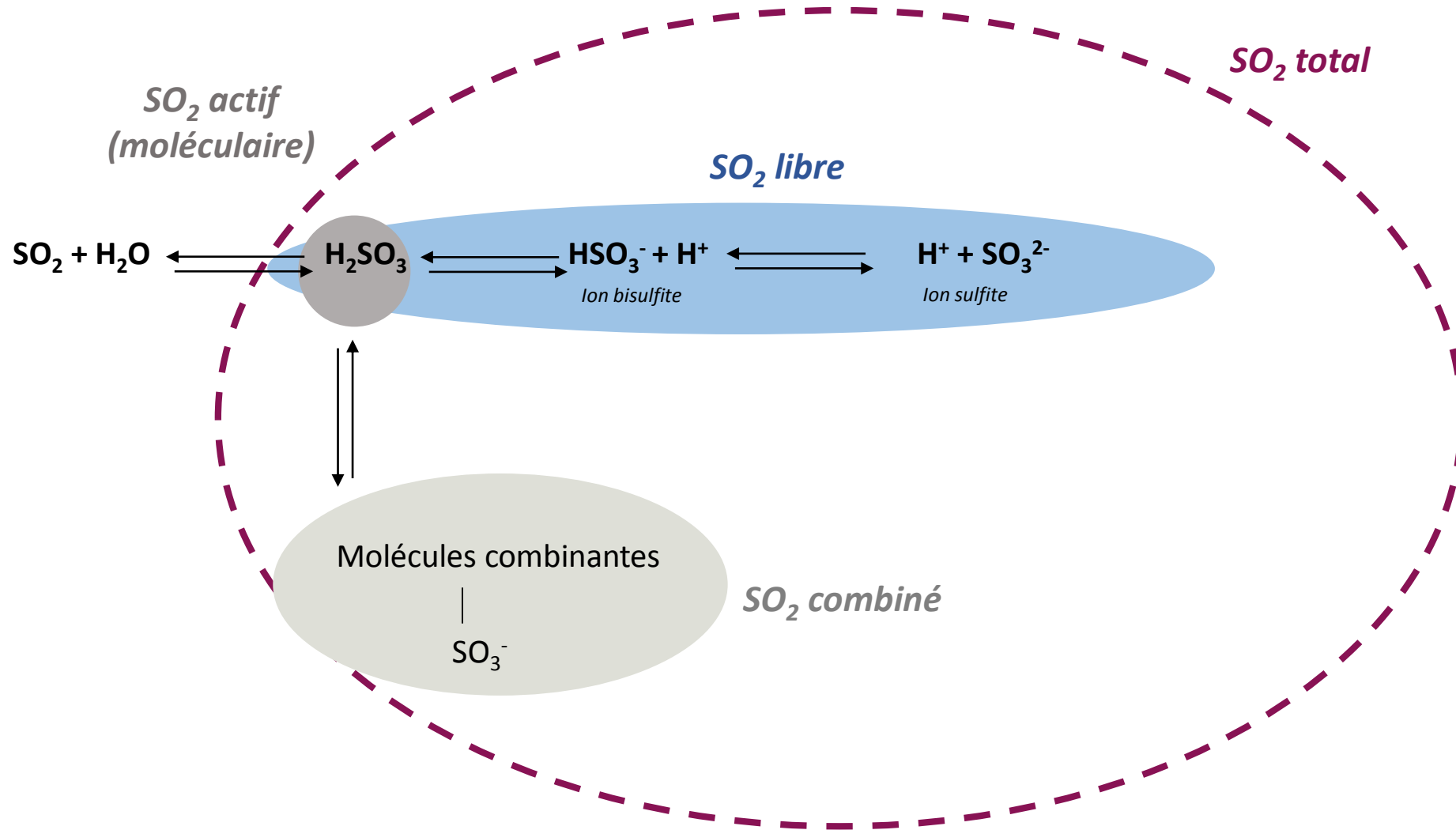
- Diminution des intrants « chimiques ».
- Effets chromatiques.
- Effets organoleptiques...

EFFET DU SO₂

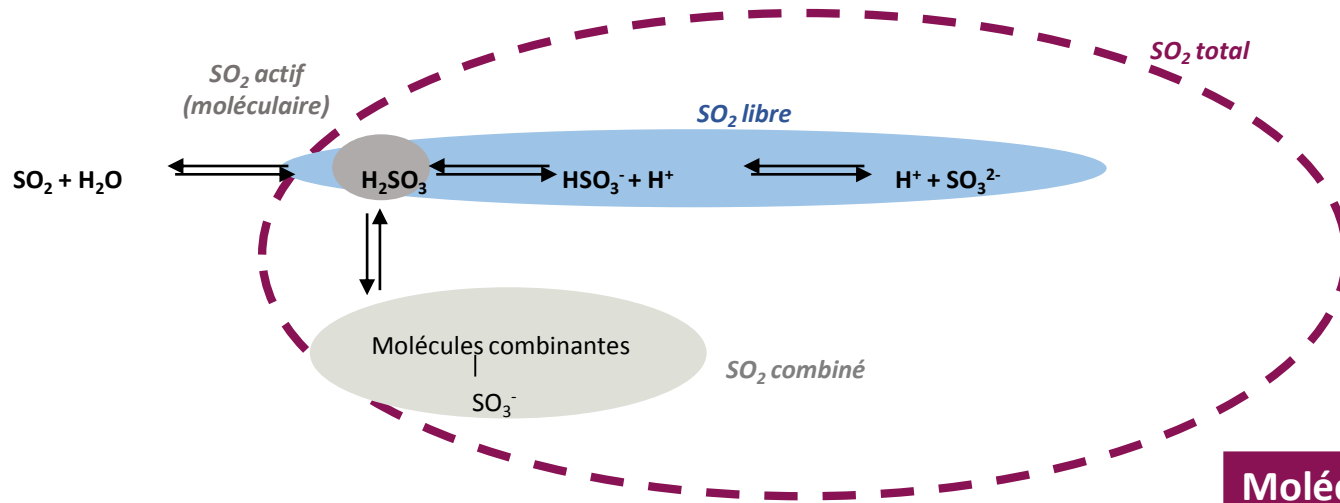


D'après Françot, 1953 (cité par Blouin, 2014)

LES DIFFERENTES FORMES DU SO₂



LES DIFFERENTES FORMES DU SO₂



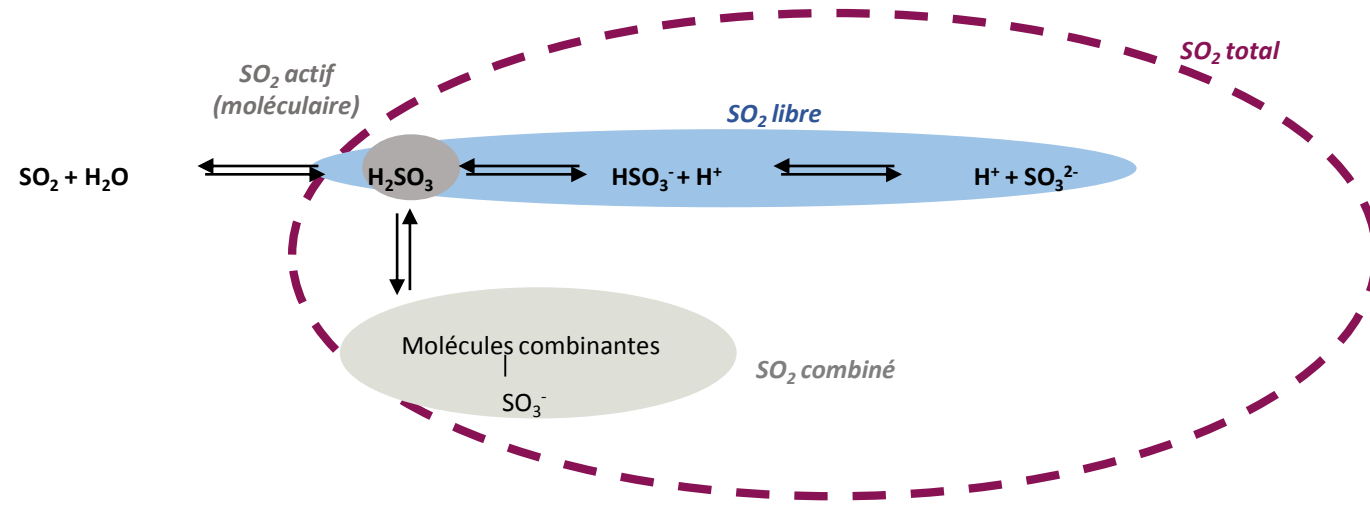
SO₂ libre /SO₂ total :

Dépend de la présence de substances combinant le SO₂ dans moûts et vins.

Vendanges altérées

Molécule	Origine
Ethanal	Levures + oxydation chimique éthanol
Acide-2-oxoglutarique	Levures
Acide pyruvique	Levures
Diacétyl	Bactéries lactiques
Acide 2-oxogluconique, 5-oxofructose	Bactéries acétiques (<i>Botrytis cinerea</i>)
Acide galacturonique, acide glucuronique	<i>Botrytis cinerea</i> (bactéries acétiques)
Méthylglyoxal, hydroxypropanedial	<i>Botrytis cinerea</i>

LES DIFFERENTES FORMES DU SO₂

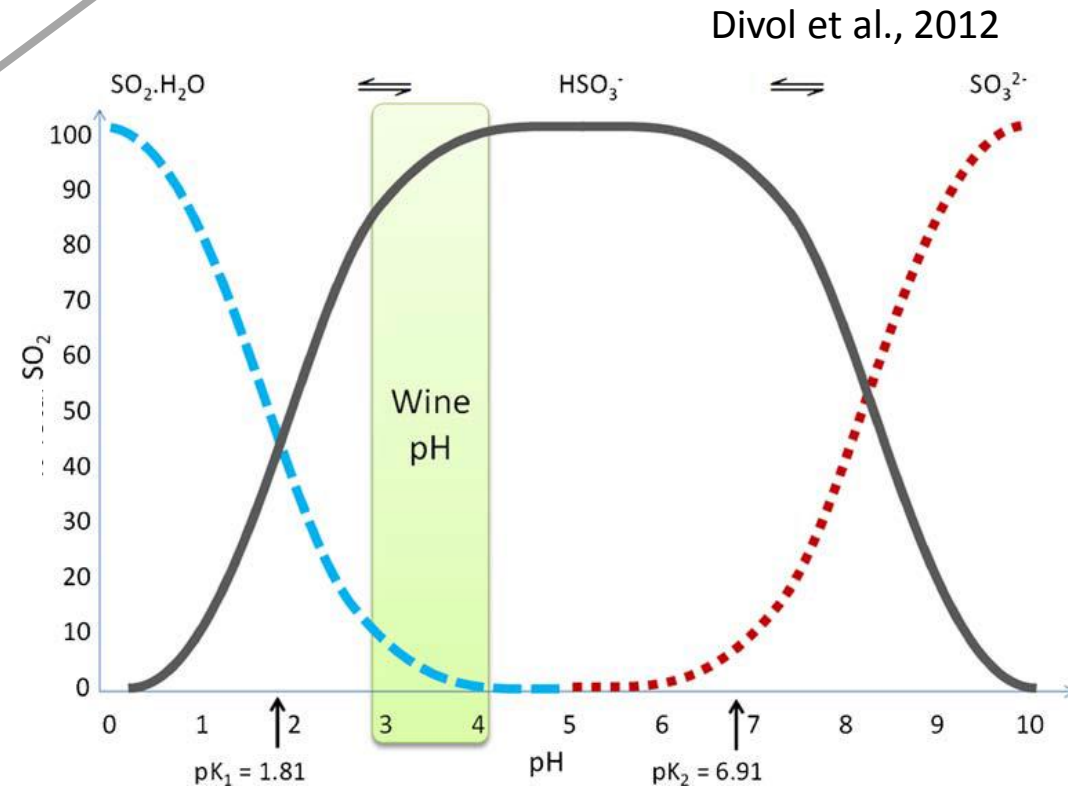


- Constante de **dissociation de l'acide sulfureux** (H₂SO₃).
- Dépend de la **température** et du **TAV**.

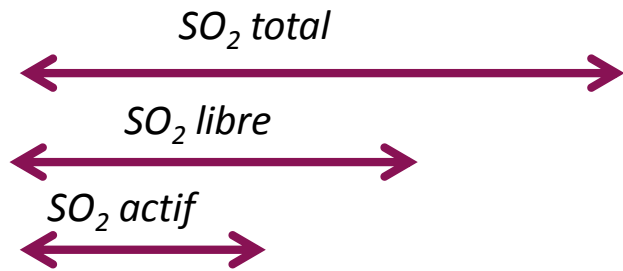
$$\text{SO}_2 \text{ actif (\%SO}_2 \text{ libre)} = \frac{100}{[(10^{\text{pH}-\text{pK}_1})+1]}$$

- La teneur en SO₂ actif est **fortement dépendante du pH**.

- Au **pH du vin**, seule une **très faible proportion** du SO₂ libre est sous forme active.
- Plus le **pH est élevé**, plus cette proportion est **faible**.

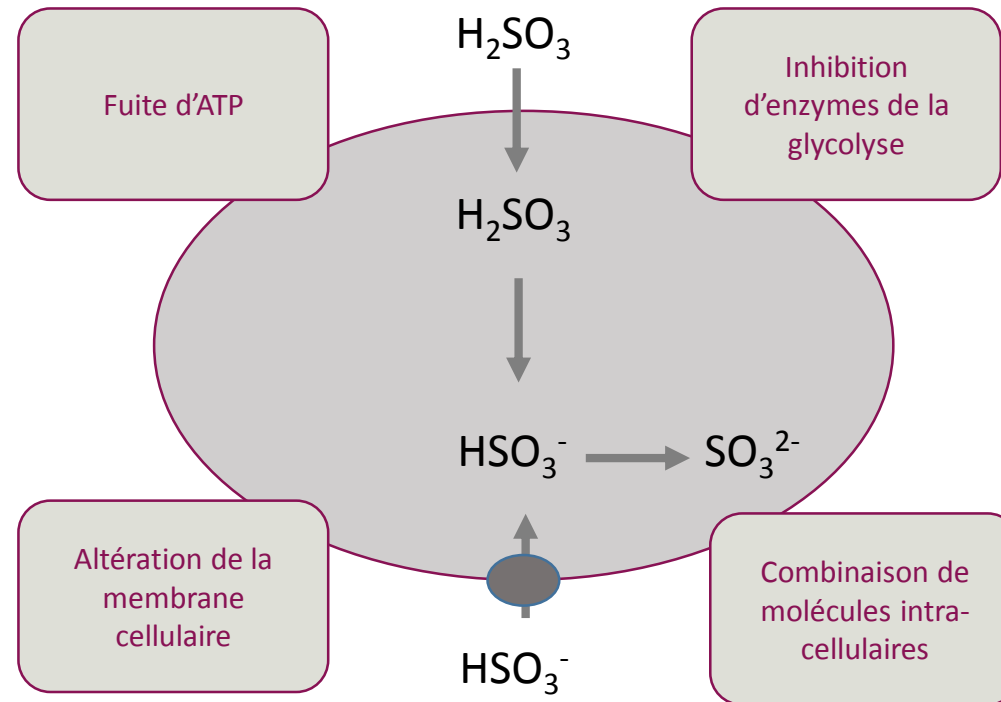


ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂



- **SO₂ libre** : action anti-oxydante et anti-oxydasique
- Le **SO₂ actif** est la forme ayant l'impact le plus important sur les microorganismes.

ACTION	SO ₂ moléculaire	HSO ₃ ⁻	SO ₂ combiné
Anti oxydasique	+++	+++	non
Anti bactérienne	+++	+	+
Anti levurienne	+++	+	non
Anti oxydante	+++	+++	non



ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂

Rappel sur l'importance du pH dans la part de SO₂ actif

(D'après Divol et al., 2012)

pH	SO ₂ actif pour 50 mg/L de SO ₂ libre	% de SO ₂ actif par rapport au SO ₂ libre
2,8	4,64	9,28
3,0	3,03	6,06
3,2	1,96	3,91
3,4	1,25	2,51
3,6	0,80	1,60
3,8	0,51	1,01
4,0	0,32	0,64
4,2	0,20	0,41

Quelques exemples.....

Espèce	SO ₂ actif	Effet
<i>S. cerevisiae</i>	0,5 mg/L	Retard de FA de 50 h
<i>S. ludwigii</i>	1,3 mg/L	Retard de FA de 50 h

Quelles conséquences sur les communautés microbiennes du moût et du vin ?

- Impact du SO₂ à la vendange ?
- Impact du SO₂ lors de l'élevage ?

Doses nécessaires pour inhiber les microorganismes ?

- Effet « espèce ».
- Effet « souche ».
- Effet « état physiologique ».

⇒ Peu de données disponibles pour l'ensemble des microorganismes œnologiques.

MIEUX CONNAITRE LES CIBLES DU SO₂ A LA VENDANGE

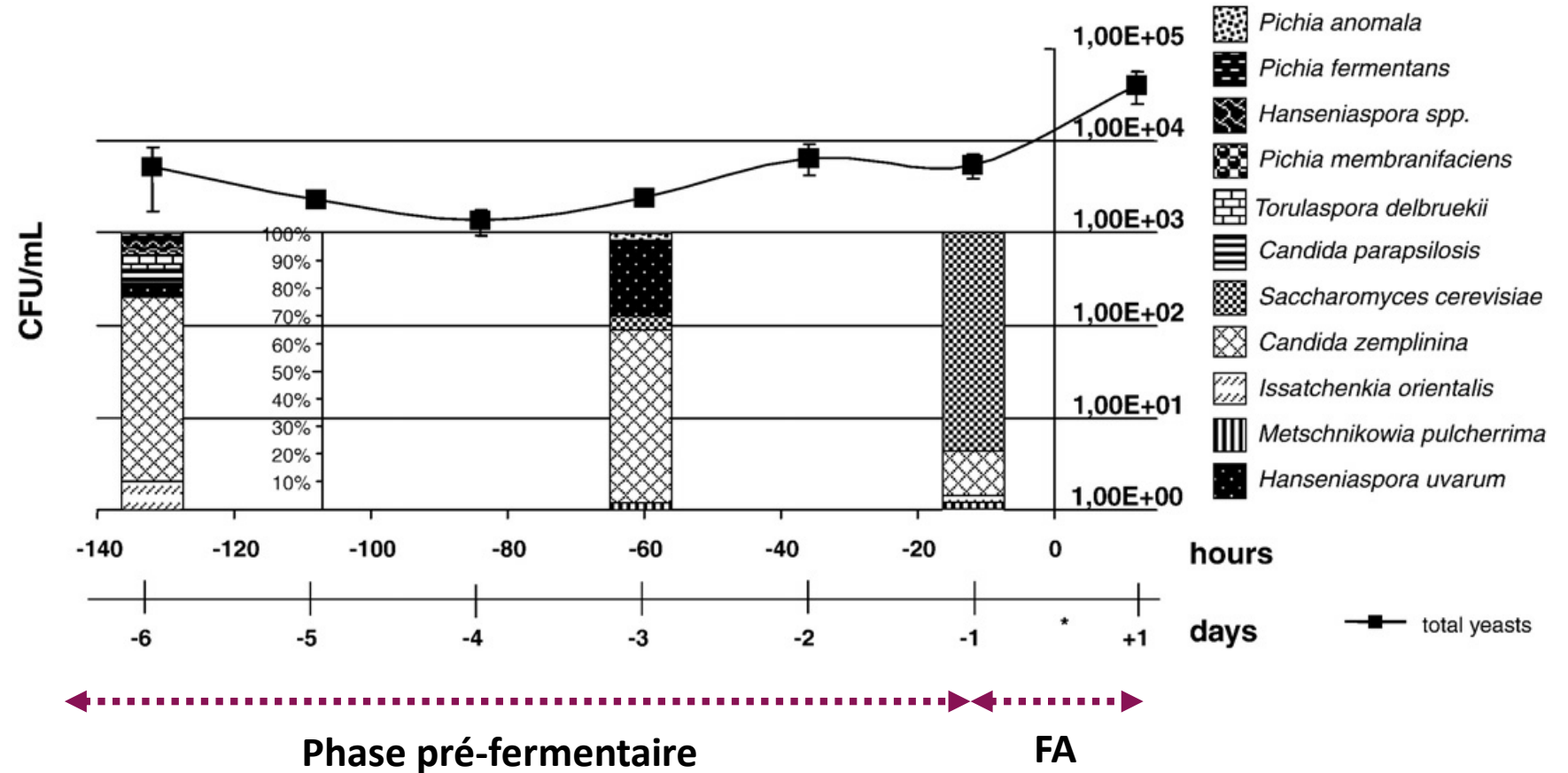
Exemple des espèces levuriennes présentes sur moût de raisin.
(Zott et al., 2008).

Espèces majoritaires du moût :

- *Candida zemplinina*
- *Hanseniaspora uvarum*

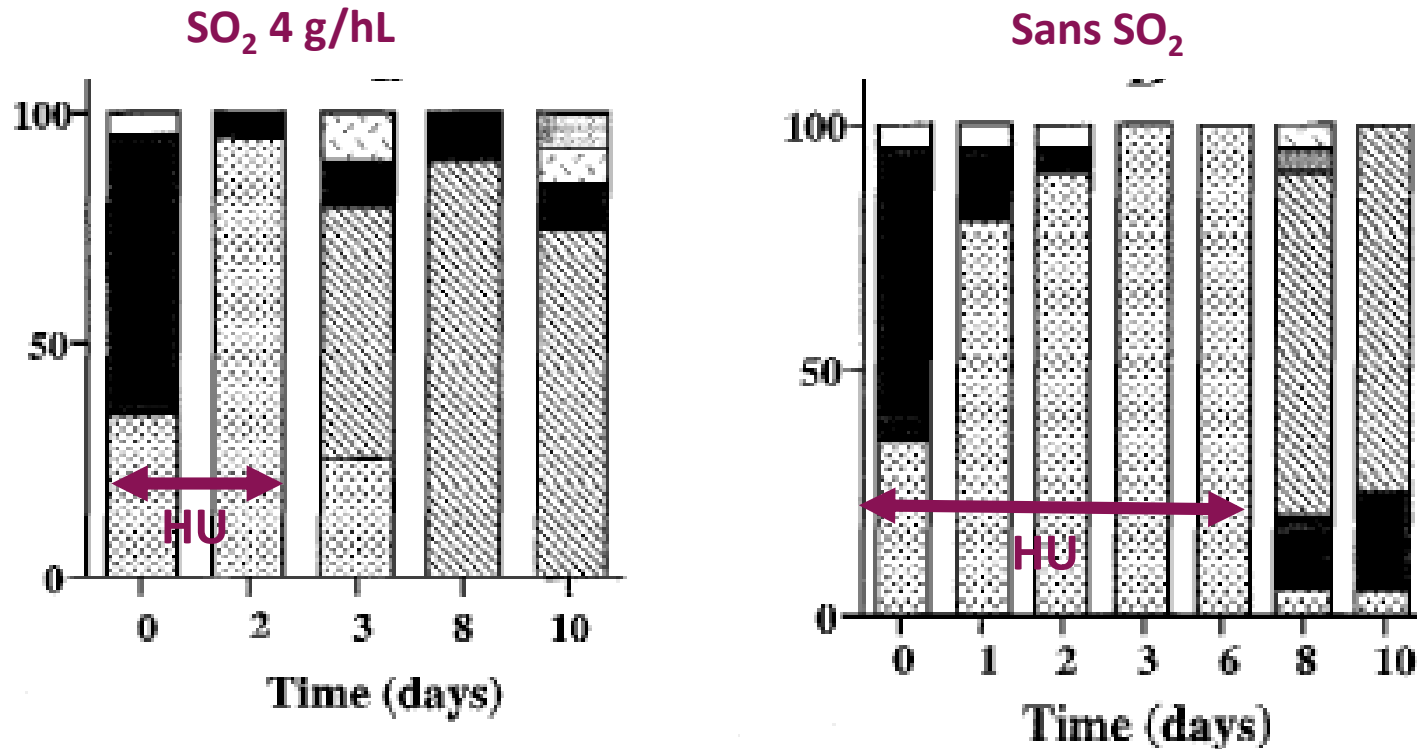


Que se passe t-il en absence de sulfitage ?



ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂

EFFET À LA VENDANGE – ETUDE DES LEVURES



En l'absence de sulfitage, il existe une participation plus importante de certaines espèces levuriennes, dont *Hanseniaspora uvarum*.

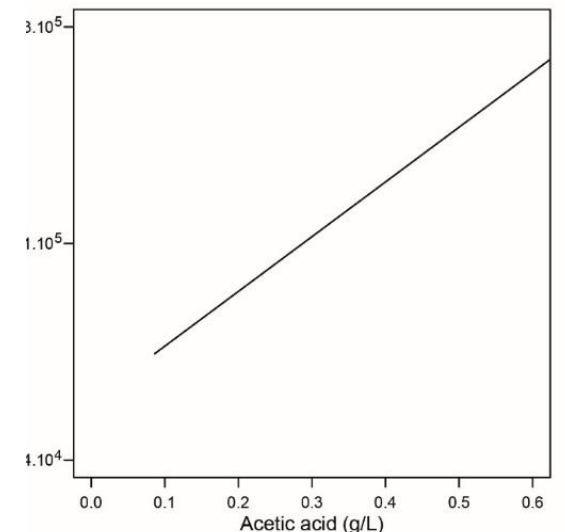
Quelle conséquence pour la qualité des vins ?

Constantini et al., 1998

Toutes les espèces de levures ne sont pas bonnes pour la qualité du vin :

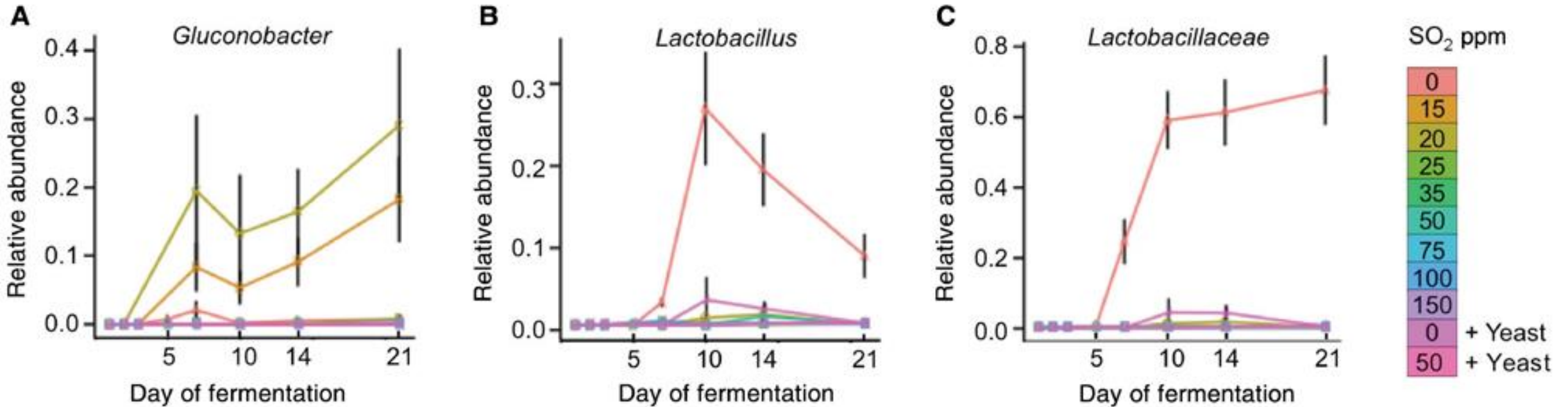
⇒ Plus la population maximale de *H. uvarum* augmente, plus la concentration en acide acétique du vin sera importante.

⇒ Quelle solution ? Exemple sur les populations de bactéries.



Albertin et al., 2014

ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂ EFFET À LA VENDANGE – ETUDE DES BACTERIES



L'absence ou la diminution du SO₂ favorise l'émergence de bactéries non souhaitées (*Lactobacillus*, bactéries acétiques.....).

⇒ Le levurage permet d'annuler cet effet.

ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂

EFFET À LA VENDANGE – SYNTHÈSE

La limitation du SO₂ à la vendange favorise la présence de microorganismes pas toujours souhaitables pour la qualité du vin :

① Risques immédiats : Synthèse de composés indésirables lors FA (liste non exhaustive).

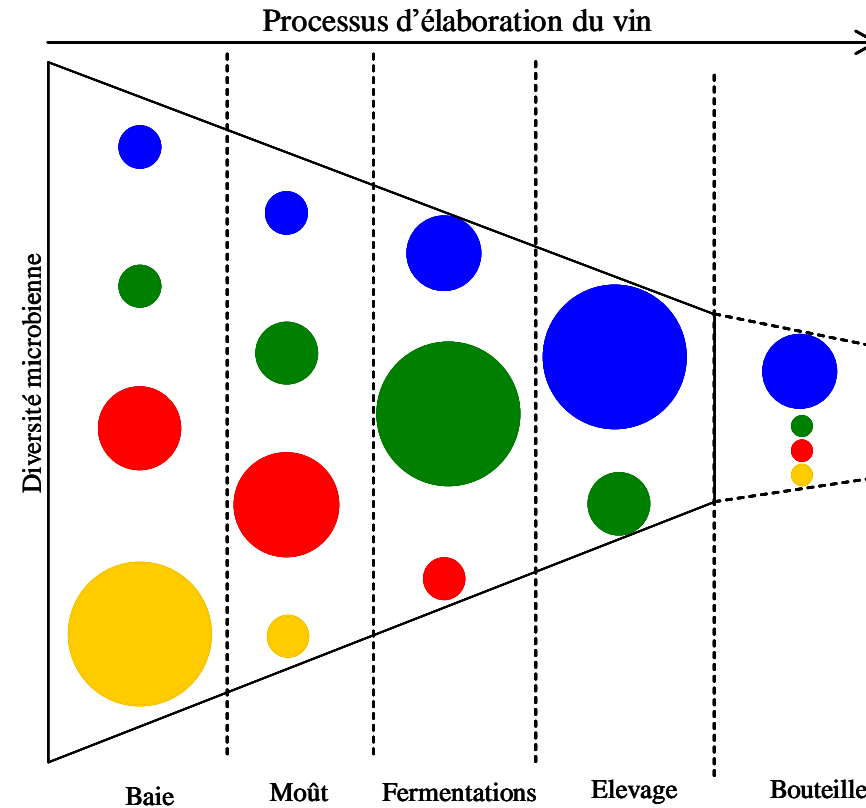
- AV par *H. uvarum* (mais pas seulement).
- Faux goûts par d'autres levures NS (ex ; composés soufrés par *C. zemplinina*).
- Piquêre lactique par *Lactobacillus*.
- AV par bactéries acétiques.

② Mais aussi.... risques à plus long terme (liste non exhaustive).

- ⇒ Présence « résiduelle » de microorganismes après FA, dont le développement a été favorisé en l'absence de SO₂ en début de vinification et pouvant altérer le vin pendant l'élevage/garde.
- ⇒ Développement de microorganismes (raisin, matériel....) favorisés par l'absence de sulfitage et résistants à l'éthanol.

ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂

EFFET POST-FERMENTAIRE



Espèces non-fermentaires:
■ *Cryptococcus sp.*, *Rhodotorula sp.*, *A. pullulans*
Serratia sp., *B. vietnamiensis*.

Espèces fermentaires mais faiblement tolérantes à l'éthanol
■ *Candida sp.*, *Pichia sp.*, *Hanseniastora*....
Lactobacillus sp., *G. oxydans*...

Espèces fermentaires relativement tolérantes à l'éthanol mais sensible au SO₂ et à présence des nutriments (sucres fermentescibles, acide-L-malique)
■ *S. cerevisiae*
O. oeni

Espèces résistantes: tolérantes à l'éthanol, à l'absence d'oxygène, de nutriments et au SO₂
■ *B. bruxellensis*, *Z. bailii*, *S. ludwigii*
P. parvulus, certains *Lactobacillus*

ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂

EFFET POST-FERMENTAIRE

Déviations liées aux bactéries lactiques :

1 LA PIQURE LACTIQUE

Homofermentaires
(*Pediococcus*, *Lactobacillus*)

- Acide D-lactique
- CO₂

D-glucose

Hétérofermentaires
(*Oenococcus*, *Lactobacillus*)

- Acide D-lactique (parfois L-lactique)
- Acide acétique
- Éthanol
- CO₂

- ⇒ Trouble
- ⇒ Dégagement gazeux
- ⇒ AV: piqûre lactique (> 3,3 g/L D-lactique)

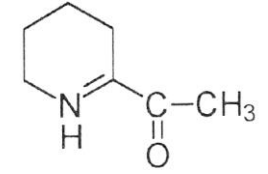
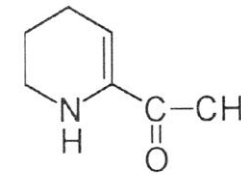
2 MALADIE DE LA GRAISSE

⇒ Production de **glucanes** à partir de sucres résiduels (0,1 g/L) par certaines souches de *Pediococcus* porteuses d'un gène permettant la synthèse de ce glucane.

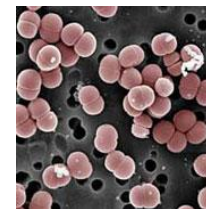
⇒ Souches particulièrement résistantes (SO₂, lysozyme...)

3 GOUT DE SOURIS

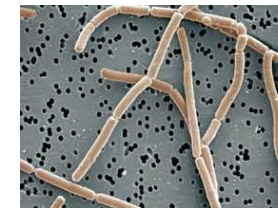
Acétyl tétrahydropyridines



Lactobacillus, *Brettanomyces*



Pediococcus



Lactobacillus

ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂

EFFET POST-FERMENTAIRE

Déviations liées à des re-fermentation par des levures :

Activité fermentaire non-souhaitée :

- ⇒ *Zygosaccharomyces bailii*
- ⇒ *Sacharomycodes ludwigii*
- ⇒ *Saccharomyces cerevisiae* (certaines souches)

Souches particulièrement résistantes au SO₂ !

- Le sulfitage ne résout pas tout.
- Intérêt d'avoir un SO₂ le plus actif possible.

Sélectionnées lors du processus de vinification
Issues de contaminations exogènes (MCR...)

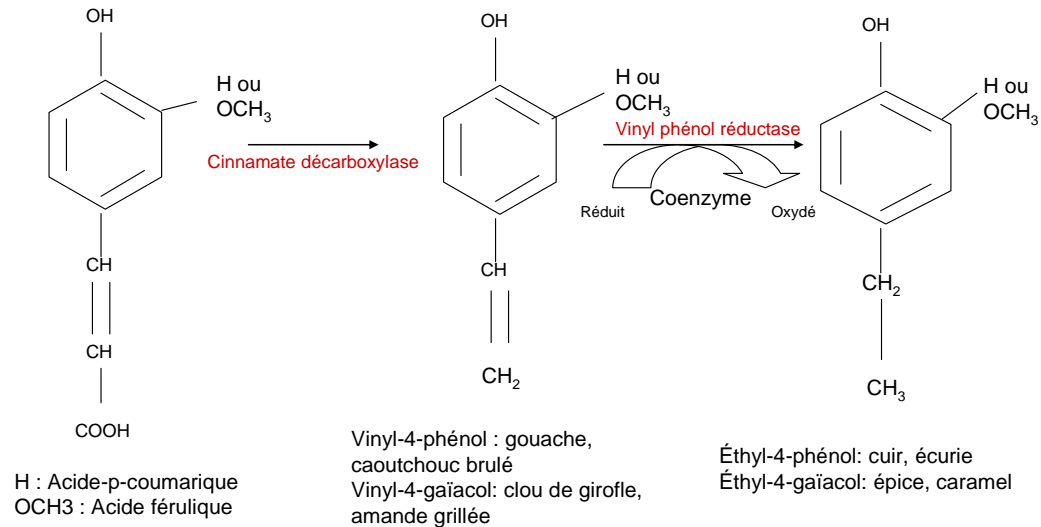


S. ludwigii

ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂

EFFET POST-FERMENTAIRE

Risques associés au développement de *B. bruxellensis*.



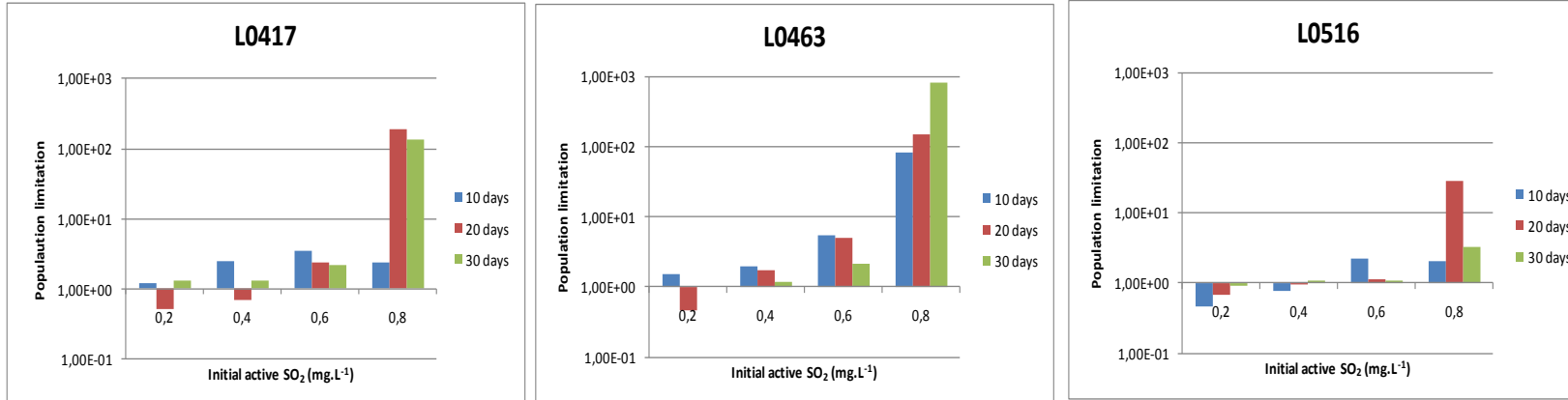
	Seuil de perception (µg.L ⁻¹)	Seuil limite de préférence (µg.L ⁻¹)
4-EP	605	620
4-EG	110	140
4-EP+4-EG (10:1)	369	426

Dose inhibitrice de SO₂ actif : 0,6 mg/L.....

ACTION ANTI-MICROBIENNE DU SO₂

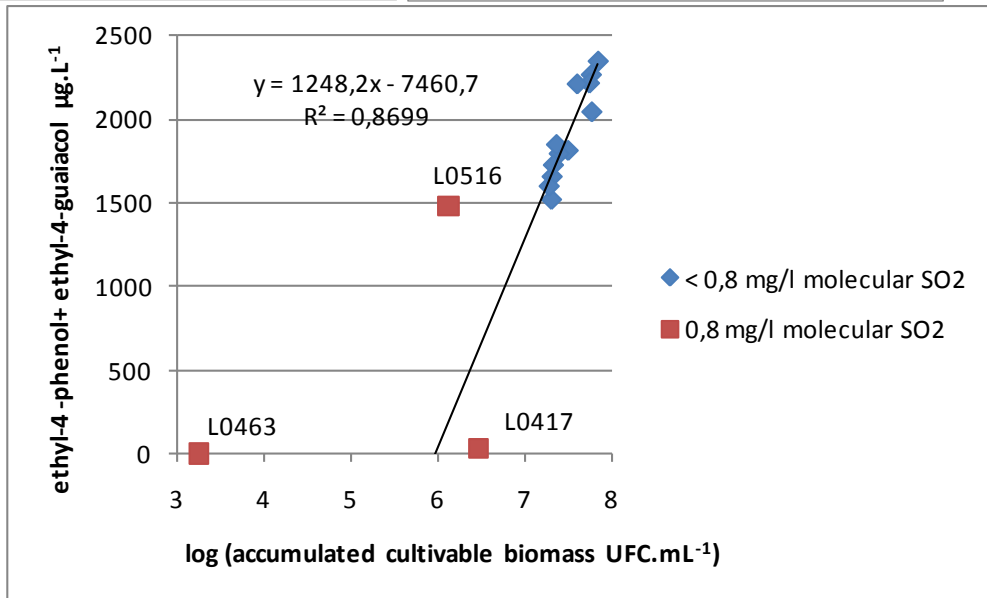
EFFET POST-FERMENTAIRE

Trois souches différentes de *B. bruxellensis*



Inhibition de *B. bruxellensis* en fonction du SO₂ actif :

⇒ Un effet souche dépendant.



.....Une capacité différente à synthétiser des phénols volatils.

⇒ Effet limité du SO₂ !

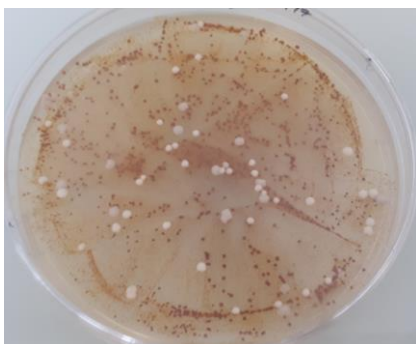
CONCLUSION

- Le SO₂ à la vendage permet de sélectionner les microorganismes les plus qualitatifs au niveau fermentaire (*S. cerevisiae*, *O. oeni*...).
 - Son utilisation en élevage, doit limiter les altérations microbiologiques.
 - Mais de nombreux microorganismes sont résistants aux doses œnologiques.
- ⇒ Levurage : limite le développement de la flore indésirable pendant les fermentations.
- ⇒ FML : bien conduite, permet de limiter et dégrader les composés combinant le SO₂.

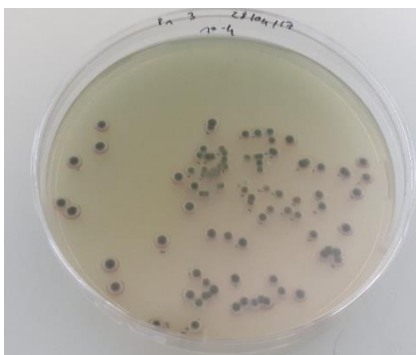
CONCLUSION

Mais aussi : développement de souches de levures non-*Saccharomyces* sélectionnées (étapes pré-fermentaires)

Moût non sulfité



Moût non sulfité +
Metschnikowia
pulcherrima



Ensemencement sur milieu sélectif pour levures non-*Saccharomyces* WLD, sans antibiotiques anti-bactéries.

	Analyses en fin de FA		
	SO ₂ +	SO ₂ -	MP
TAV % vol	13,8	13,82	13,82
Glucose + fructose g/L	0,1	0,52	0,09
AT g/L H ₂ SO ₄	3,55	3,5	3,52
AV g/L H ₂ SO ₄	0,23	0,25	0,22
L-malique g/L	1,6	1,69	1,69
pH	3,23	3,26	3,24
SO ₂ total	39	33	28
SO ₂ libre	0	0	0
TL35 mg/L	104	96	95

**Limitation des composés combinant le
SO₂ : le peu de SO₂ ajouté est le plus actif
possible !**

Merci de votre attention !