

PROJET « ORWINE » : RESULTATS DES EXPERIMENTATIONS IFV

REDUCTION DE LA TENEUR EN SULFITES DES VINS

Philippe Cottereau

IFV, Domaine de Donadille 30230 Rodilhan

philippe.cottereau@vignevin.com

RESUME

Un des objectifs majeurs de la vinification biologique est de réduire l'utilisation des intrants. Le plus étudié et le plus difficile à remplacer est le SO₂. Même en vinification sans ajout de SO₂ au cours de l'élaboration des vins, il est possible d'avoir une concentration importante de SO₂ total sur vin fini. En cas de levurage, des différences très importantes entre les différentes levures sont constatées notamment en vinification en blanc. La présence de SO₄ dans le moût, provenant principalement des traitements au soufre sur vigne, semble être un élément important pour certaines souches de levures. Le catalogue des souches de l'IFV peut permettre de choisir des souches à faible potentialité de production naturelle de SO₂. Le test réalisé en laboratoire semble pertinent pour les levures ayant de faibles production de SO₂.

Les nouvelles techniques physiques ou chimiques de stabilisation microbiologique comme la microfiltration tangentielle, la flash-pasteurisation, le DMDC, le Lysozyme permettent de réduire l'utilisation du SO₂ au cours de l'élaboration des vins. Pour obtenir ensuite, la même concentration en SO₂ libre sur les vins finis, le gain possible en SO₂ total est nettement plus faible, de l'ordre de 10mg/L dans le cadre de ces essais.

L'électrodialyse à membrane bipolaire permet de réguler le pH et d'avoir ainsi plus de SO₂ actif. Cette technique constitue une alternative intéressante à l'acidification par ajout d'acide tartrique. Cependant la technique d'électrodialyse ne parait pas répondre aux souhaits d'une partie des vignerons bio d'après les différentes études menées auprès d'experts du secteur au niveau des pays impliqués dans le programme ORWINE.

INTRODUCTION

Ces travaux s'inscrivent dans le cadre des expérimentations associées au Programme Européen ORWINE. Le projet ORWINE financé par l'Union Européenne avait pour objectif de mettre sur pied une structure scientifique pour le développement de la réglementation européenne au sujet du « **vin biologique** ». Ce programme se proposait de répondre aux attentes suivantes :

- Besoin de réglementer **la vinification « biologique »** à l'échelle européenne;
- Attentes et exigences sur le contenu de cette réglementation (à la fois du point de vue des consommateurs et des producteurs, selon les pays);
- Perceptions différentes du concept de « vin biologique » qui vont du vin à faible teneur en SO₂ au produit hautement lié au terroir avec des limitations strictes sur les technologies et additifs utilisables.

Cette réglementation devrait se mettre en place courant 2010.

L'IFV a travaillé plus spécifiquement sur la réduction de la concentration finale en sulfites dans les vins avec un volet intrant « Levure » et un volet Technologie « Techniques Physiques de stabilisation ».

1 CHOIX DE LA LEVURE DE VINIFICATION

1.1 Correspondance tests laboratoires – vinifications

IFV met à jour régulièrement un catalogue « Levure » accessible sur le site de l'IFV (www.vignevin.com) qui permet de caractériser les souches existantes sur le marché. Des tests comparatifs de laboratoire sont effectués et permettent ainsi de choisir objectivement les souches par rapport à leurs capacités technologiques (exemple : forte résistance à l'alcool, faible production d'acidité volatile, faible production d'écume...)

Parmi ces tests, la production naturelle de sulfites est étudiée sur milieu synthétique. Les souches de levures peuvent donc être classées en plusieurs catégories, de faiblement productrice de SO₂ à fortement productrice.

Des souches de levures ont donc été choisies en fonction de ce critère et testées en conditions de vinification classique sans ajout de sulfites.

Trois souches sont retenues avec des productions de SO₂ très différentes selon le test laboratoire (Tableau 1).

Cinq origines de vendanges sont testées en vinification (blanc ou rouge) sans aucun ajout de sulfites jusqu'à la mise en bouteille (Tableau 2).

Tableau 1 – Résultats du test laboratoire – Production de sulfites – IFV 2006

Levure	Production de SO ₂
Collection Merlot (L4882)	< 10 mg/L
Collection Sauvignon (L2868)	30 mg/L
Anchor NT 112	89 mg/L

Tableau 2 – Origine et cépages utilisés – Production de sulfites – IFV 2006

Cépages	Origines	Viticulture
Chardonnay Clairette Grenache Merlot	Aimargues (30)	AB
Syrah	Beauvoisin (30)	AB
Syrah	Rodilhan (lycée viticole – 30)	Conventionnelle

Les vinifications sont réalisées sans ajout de sulfites et selon les recommandations de la charte FNIVAB.

Comme on peut le voir sur la figure 1, la souche NT112 est fortement productrice de SO₂ comme le laissait prévoir le test sur milieu synthétique. L'ordre de production de SO₂ de ces souches est globalement bien retrouvé. Le niveau de SO₂ atteint est très différent d'une matière première à l'autre. Les valeurs les plus importantes sont retrouvées dans le cas des vinifications en blanc et notamment pour le chardonnay (Figure 1).

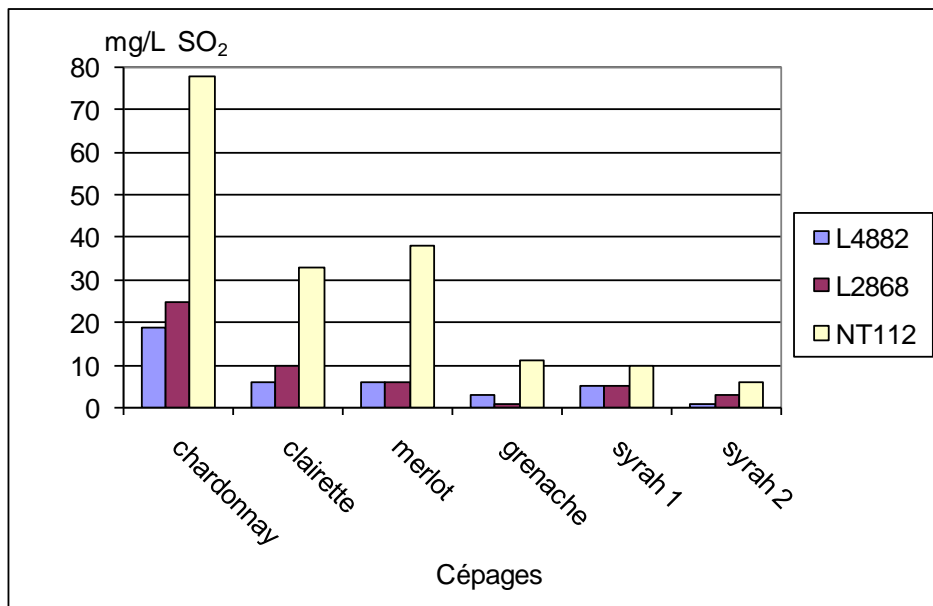


Figure 1 – Dosage du SO₂ Total (mg/L) en fin de FA – IFV 2006

1.2 Incidence de la présence de sulfate

Les sulfates présents dans les moûts ou les moûts en cours de fermentation proviennent essentiellement des conséquences du traitement de la vigne ou de l'ajout au cours de la vinification (essentiellement sulfate d'ammonium – activateur de la fermentation). Dans d'autres essais, réalisés sur une expérimentation viticole, il a été montré que les traitements au soufre de la vigne entraînaient la présence de sulfate sur les moûts. Paradoxalement, les traitements au sulfate de cuivre, même tardifs (avec Délai Avant Récolte respecté) n'entraînent pas de forte variation de la concentration en sulfates des moûts. En 2007 et 2008, l'ajout de sulfates (sous forme de sulfate d'ammonium – activateur pour la fermentation) en cours de vinification a été testé. Le chardonnay de l'année précédente a été choisi comme matière première, avec une souche productrice NT112 et une souche peu productive L4882.

Les protocoles retenus sont schématisés dans les figures 2 et 3. La vinification est réalisée sans ajout de sulfites jusqu'à la mise en bouteille.

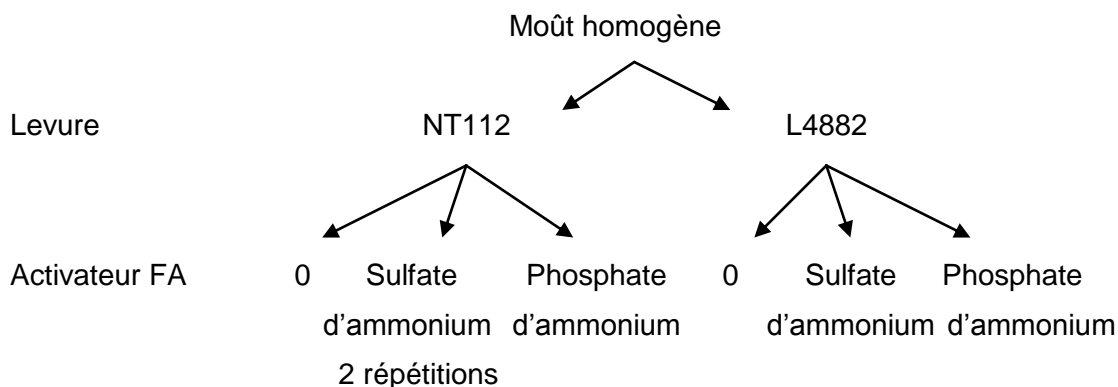


Figure 2 – Schéma du protocole – IFV 2007

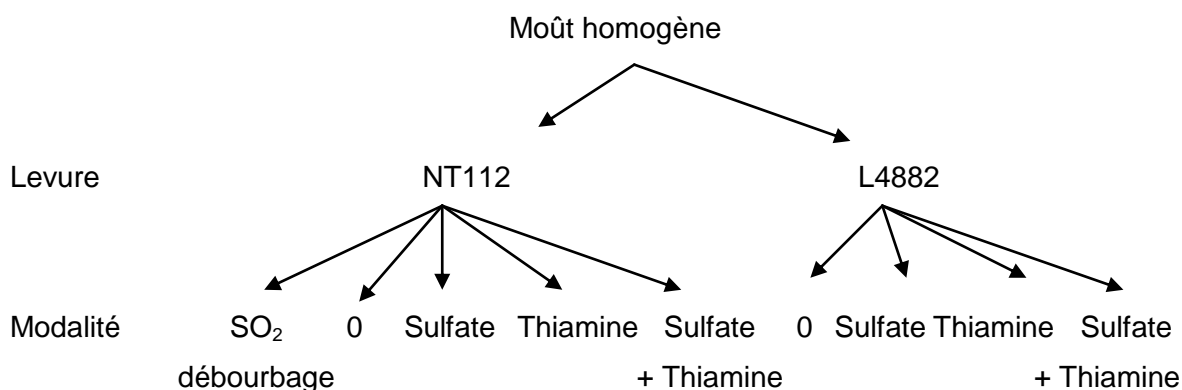


Figure 3 – Schéma du protocole – IFV 2008

En 2007 (figure 4), la concentration finale en SO_2 est très importante pour la souche NT112. Au contraire, la concentration en SO_4 finale dans ces vins est plus faible pour cette souche. On peut penser que la NT112 est capable d'utiliser le SO_4 pour former du SO_2 contrairement à l'autre souche où la concentration en SO_4 reste très élevée sur les vins finis.

L'ajout de sulfate d'ammonium en cours de fermentation alcoolique enrichit le vin en sulfate pour les deux souches. Pour la souche NT112, la concentration en SO_2 augmente plus fortement que pour la L4882 (l'augmentation est très faible et peu significative).

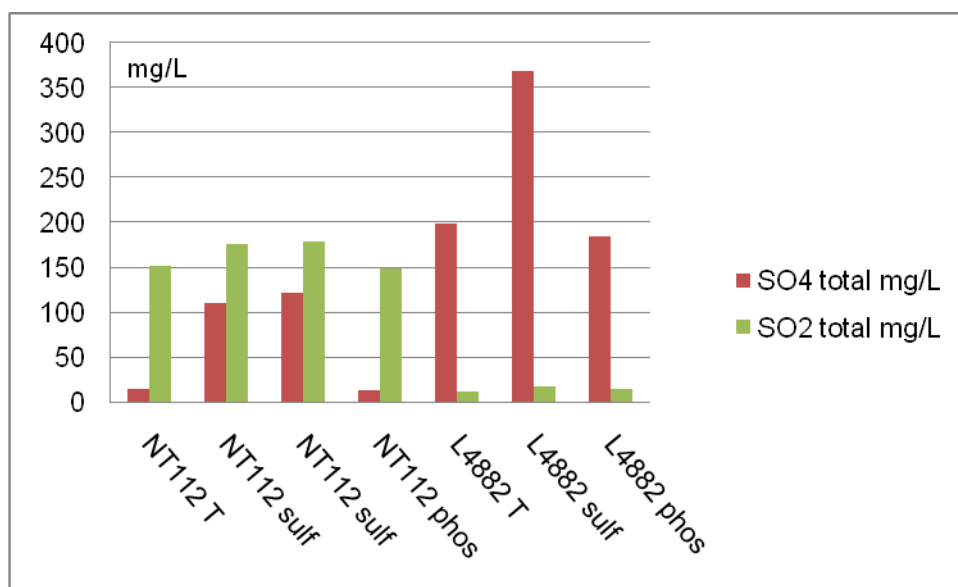


Figure 4 – Analyses (mg/L) du SO_2 total et SO_4 sur les vins finis – IFV 2007

En 2008 (figure 5), les vins en fin FA ont été sulfités à 5 g/hl pour bloquer la fermentation malolactique et permettre d'apprécier la combinaison du SO_2 dans les vins. La production de SO_2 par la NT112 est très importante, l'ajout de sulfate d'ammonium entraîne une augmentation du SO_2 total final en fin FA. Le sulfitage du moût (modalité SO_2 au débouillage – NT112/ SO_2) entraîne bien sûr une augmentation par rapport au témoin sans SO_2 mais cet enrichissement est moins important que celui dû à l'ajout du sulfate d'ammonium. Pour la L4882, la concentration du SO_2 est en limite de détection, seul le lot « sulfate d'ammonium avec Thiamine » présente une concentration mesurable mais extrêmement faible.

L'ajout de 5 g/hl de SO₂ en fin FA se traduit par une combinaison légèrement plus forte pour les vins issus de la NT112, la concentration en SO₂ libre est plus importante pour les vins issus de L4882 (+ 5 mg/L en moyenne). Les concentrations en SO₂ libre ne sont pas dépendantes des modalités étudiées (erreur de surdosage dans l'ajout de SO₂ en fin FA sur la modalité « sulfate + thiamine » pour L4882).

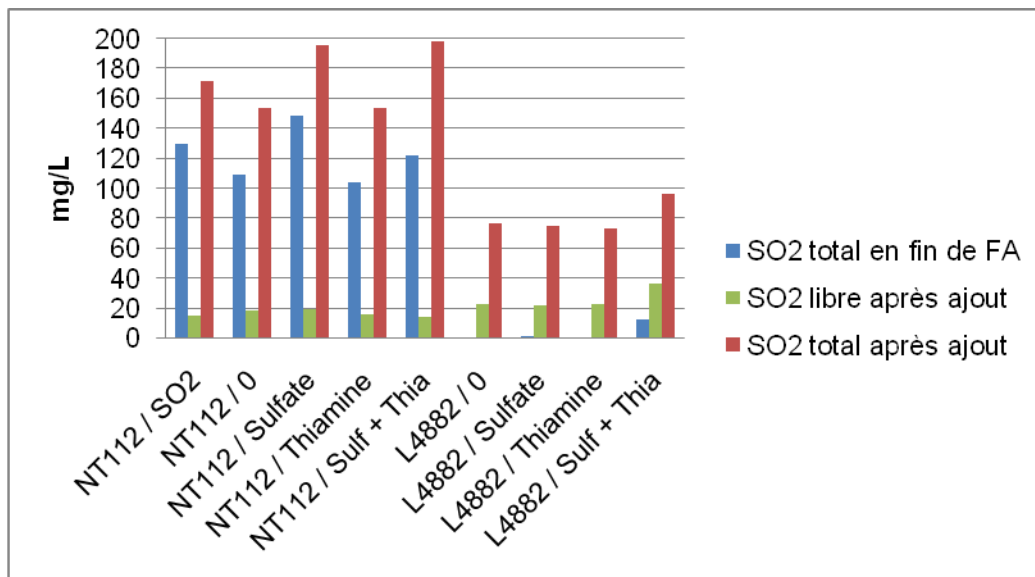


Figure 5 – Analyses (mg/L) du SO₂ total fin FA et SO₂ libre et total après sulfitage – IFV 2008

1.3 Test sur un nombre plus significatif de levures

Les résultats précédents ont été réalisés sur deux souches. En 2009 (figure 6), un essai a été mis en place en microvinifications homogènes, sans ajout de SO₂, avec 3 répétitions par souche, pour 20 souches différentes, choisies sur toute la gamme de production de SO₂ d'après le test laboratoire du catalogue levure IFV.

D'une manière globale la tendance est bonne, les souches testées, faiblement productrices selon le catalogue IFV donnent les valeurs les plus faibles. Pour les souches « à risques » on observe 2 exceptions : Opale, qui est moyennement productrice d'après le catalogue, qui se retrouve être la plus productrice dans cet essai et à l'inverse la souche Fermol Keller dont le classement du catalogue est « forte productrice » qui s'avère faiblement productrice dans cet essai. Il est probable que les conditions pour la production plus ou moins forte de SO₂ par les levures sont sous la dépendance de nombreux critères. Le test laboratoire ne peut pas prendre en compte tous ces paramètres et c'est aussi le cas dans la comparaison sur un même moût.

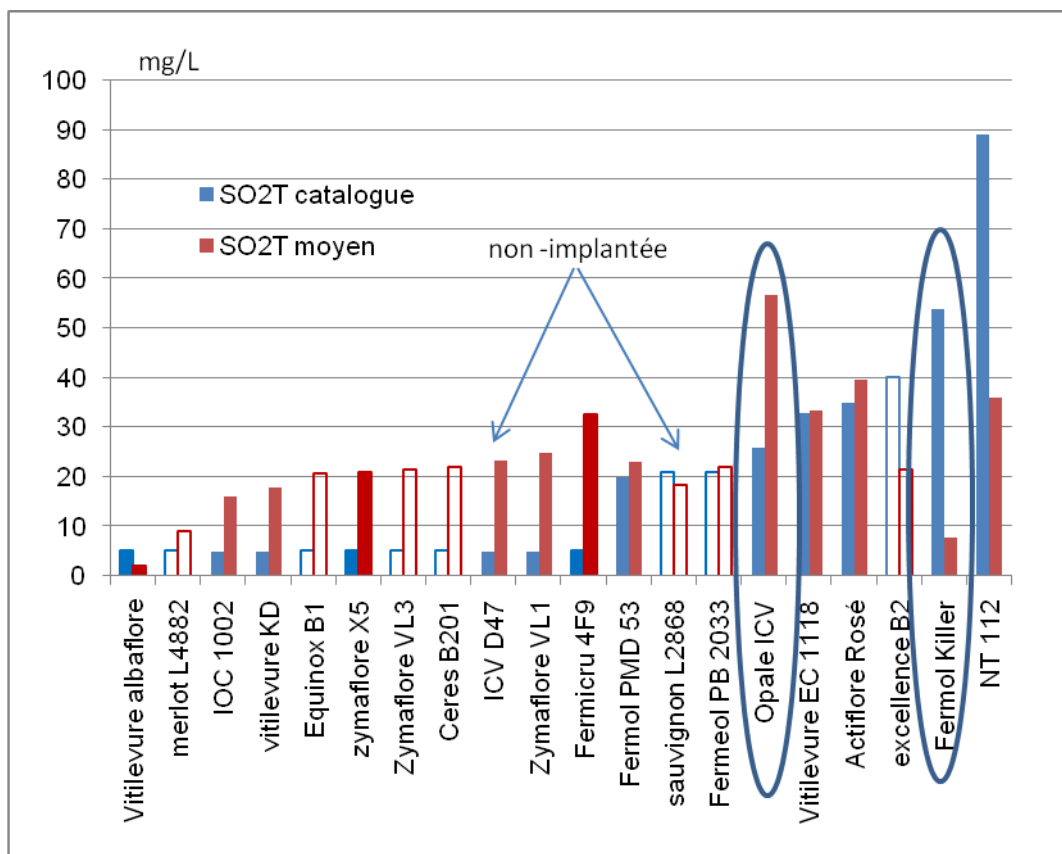


Figure 6 – Analyses (mg/L) du SO₂ total fin FA et SO₂ libre et total après sulfitage – IFV 2009

1.4 Synthèse des résultats

Le choix de la souche de levure conditionne la concentration en SO₂ total finale. Certaines souches entraînent des concentrations importantes de SO₂, une partie de ce SO₂ provient du SO₄ présent dans le moût initial (traitement au soufre principalement) mais aussi des ajouts de sulfate d'ammonium (activateur de fermentation) dans une moindre mesure. Le test laboratoire réalisé dans le cadre de l'élaboration du « classeur Levure » de l'IFV rend compte de la différence entre les souches et permet de réaliser un choix de levure pour éviter la présence de SO₂ excessif sur vin fini. Le caractère multifactoriel de la production de SO₂ par les levures, ne permet pas d'assurer une parfaite concordance entre les tests laboratoire et la réalité des vinifications. Dans cet essai, on peut cependant remarquer que les souches à très faible potentiel selon le test sont effectivement plus faibles productrices. On peut donc préconiser plutôt l'utilisation des souches à potentiel de production très faible, au risque de se priver de souches à risque mais non vérifiées systématiquement en vinification...

La simple présence plus ou moins importante de SO₄ ne peut pas expliquer les différentes situations. Des effets cépages ou origines de vendanges semblent exister. La vinification en blanc semble fortement favoriser la présence de SO₂ total sur les vins même dans le cas d'une vinification sans aucun apport de SO₂.

2 STABILISATION PAR METHODES PHYSIQUES

2.1 Méthodologie

Le SO₂ permet une très bonne stabilisation microbiologique des vins en détruisant les levures et bactéries. Deux techniques physiques pourraient apporter une solution technique intéressante pour cette stabilisation. La microfiltration tangentielle (MFT) permet par une filtration très fine d'obtenir une élimination quasi-totale de la microflore. Cette filtration est réalisée avec des membranes organiques ou minérales à température ambiante. La flash-pasteurisation (FP) est la deuxième technique envisageable. Le produit à pasteuriser est chauffé très rapidement à environ 65°C et reste à cette température pendant une vingtaine de secondes avant d'être rapidement refroidi à la température initiale, soit un traitement à haute température sur un temps très court.

Des essais ont été réalisés avec ces deux techniques physiques dans le cas de la vinification d'un vin moelleux rosé (mutage au SO₂, comparaison avec un autre intrant récemment autorisé sur vin : le DMDC – Diméthyl dicarbonate) et dans le cas d'un vin blanc avec blocage de la fermentation malolactique (en comparaison au SO₂ et à l'ajout de lysozyme).

2.2 Vins à sucres résiduels

Les traitements réalisés (DMDC, MFT, FP, SO₂) sont tous très efficaces pour le mutage des vins. Des tests de contaminations par des levures ont permis de montrer que les reprises de fermentation pour les traitements alternatifs n'étaient pas plus importantes que dans le cas du mutage classique au SO₂. Pour la conservation des lots, un sulfitage est effectué afin d'obtenir 30 mg/L de SO₂ libre à la mise en bouteille.

Les différents traitements ne provoquent pas de différences significatives au niveau de la composition des vins (Tableau 3).

Tableau 3 – Analyses physico-chimiques après mise en bouteille – Vin rosé moelleux – IFV 2006

Modalité	SO ₂	FP	MFT	DMDC
Sucres g/L	30	28	27	27
Alcool % vol	12,6	12,7	12,2	12,8
pH	3,63	3,61	3,58	3,62
AT gH ₂ SO ₄ /L	3,30	3,25	3,20	3,35
AV gH ₂ SO ₄ /L	0,36	0,35	0,34	0,36
Malique ac. g/L	2,1	2,2	1,9	2,2
Tartrique ac. g/L	1,8	1,9	1,8	1,9
K+ g/L	1,00	1,00	0,93	0,99
SO ₂ libre mg/L	35	30	30	31
SO ₂ total mg/L	170	158	154	160
Abs 420 nm	0,46	0,35	0,45	0,48
Abs 520 nm	0,28	0,22	0,28	0,29
Abs 620 nm	0,052	0,035	0,054	0,054
Abs 420 cor*	0,55	0,45	0,53	0,56
Abs 520 cor*	0,57	0,49	0,57	0,58
Abs 620 cor*	0,087	0,07	0,084	0,09
IC cor*	1,21	1,01	1,18	1,23
Teint cor*	0,965	0,918	0,930	0,965
IPT	13,0	10,7	11,3	12,7

* Correction éthanal – combinaison du SO₂ pour éliminer l'effet décolorant du SO₂ sur la couleur

Pour obtenir la même concentration en SO₂ libre à la mise, le gain en ajout de SO₂ n'est pas négligeable soit au total 5 g/hl en moins pour les trois modalités testées par rapport au mutage classique au SO₂. Cependant en terme de combinaison et de SO₂ total final présent dans le vin en bouteille, les différences sont très faibles soit environ 10 mg/L d'écart. Ces techniques permettent d'utiliser moins de SO₂ pendant l'élaboration mais la concentration finale en SO₂ total pour une même concentration en SO₂ libre est très proche entre les modalités étudiées.

2.3 Vin sans fermentation malolactique

Les traitements réalisés (SO₂, MFT, FP, Lysozyme 30 g/hl) pour éliminer les bactéries lactiques sont tous très efficaces. Dans cet essai, 2 niveaux de sulfitage après traitement sont réalisés afin d'obtenir 10 mg/L ou 30 mg/L de SO₂ libre en bouteille.

La combinaison du SO₂ a été plus importante que prévu et l'objectif SO₂ libre souhaité a été en réalité dans les bouteilles de 5 et 15 mg/L.

Les analyses physico-chimiques des vins (tableau 4) sont très proches pour toutes les modalités et les deux niveaux de SO₂ libre. La dégustation des vins ne montre d'ailleurs aucune différence significative imputable aux différentes modalités.

Aucune fermentation malolactique n'est mise en évidence à ce jour en bouteille pour les deux niveaux de SO₂. Pour obtenir la même concentration en SO₂ libre, le SO₂ total pour les lots MFT et FP est très légèrement inférieur. C'est surtout notable pour l'objectif SO₂ 30 mg (15 mg dans la réalité) avec un gain de 10 mg/l environ. Cette légère différence est donc très faible.

Tableau 4 – Analyses physico-chimiques après mise en bouteille – Vin blanc sec – IFV 2007

Modalité	SO ₂ 10mg	SO ₂ 30mg	MFT 10mg	MFT 30mg	FP 10mg	FP 30mg	LYSO 10mg	LYSO 30mg
Alcool (% vol)	11.75	11.71	11.51	11.51	11.59	11.63	11.71	11.73
AV (g H ₂ SO ₄ /L)	0.13	0.12	0.16	0.13	0.12	0.12	0.13	0.12
pH	3.41	3.42	3.44	3.46	3.42	3.41	3.45	3.44
AT (g H ₂ SO ₄ /L)	3.43	3.4	3.58	3.56	3.44	3.43	3.72	3.7
Malique (g/L)	2.5	2.5	2.4	2.4	2.5	2.5	2.5	2.5
Tartrique (g/L)	1.7	1.8	2.8	2.6	2.1	2.1	3.1	3.0
Lactique (g/L)	0.01	0.01	0.04	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
K ⁺ (g/L)	0.5	0.5	0.69	0.69	0.57	0.6	0.68	0.69
SO ₂ Libre (mg/L)	5	19	4	16	5	16	6	19
SO ₂ Total (mg/L)	79	120	73	109	75	111	83	117
Abs 420 nm	0.08	0.07	0.08	0.07	0.08	0.07	0.08	0.07
IPT	6.3	6.2	5.5	5.5	6.1	5.8	7.5	8.4

Un test laboratoire a été réalisé afin de déterminer si le vin avait des capacités plus ou moins grandes pour réaliser la fermentation malolactique en ensemençant ou non les lots avec une présence ou non de SO₂ (tableau 5).

Comme en bouteille, l'objectif SO₂ n'est pas atteint, on ne retrouve que 5 mg/L de SO₂ libre pour l'objectif 10 et 15 pour l'objectif 30.

En l'absence de SO₂ libre seule la modalité « Lysozyme » ne réalise pas la fermentation malolactique. Pour les deux autres techniques (MFT, FP) et le témoin, les résultats sont proches avec une « sensibilité » à l'ensemencement presque identique.

Seule l'utilisation du lysozyme permettrait d'envisager un blocage durable de fermentation malolactique sans SO₂ et sans nécessité d'une élimination particulière des microorganismes (filtration ou pasteurisation).

Tableau 5 – Nombre de jours pour la réalisation de la fermentation malolactique – Vin blanc sec – IFV 2007

Objectif SO ₂	MFT			FP			SO ₂			Lysozyme		
	0	10	30	0	10	30	0	10	30	0	10	30
Pas de bactérie	> 90	N	N	90	N	N	N	N	N	N	N	N
+ 10 ² cfu/ml	90	N	N	45	> 90	N	50	N	N	N	N	N
+ 10 ⁵ cfu/ml	40	70	N	30	60	N	40	80	N	N	N	N

2.4 Synthèse de ces résultats

La stabilisation des microorganismes, levure ou bactérie, peut facilement être obtenue par l'utilisation des techniques physiques : microfiltration tangentielle ou flash-pasteurisation, le procédé chimique DMDC est efficace sur les levures, et le lysozyme sur les bactéries. Par contre, ces techniques physiques ne permettent pas un gain important sur la concentration finale en SO₂ total des vins, à concentration en SO₂ libre identique au témoin. L'élimination presque totale des microorganismes par ces techniques physiques pourrait peut-être permettre d'accepter un niveau de SO₂ libre plus faible mais le risque sera aussi plus élevé en cas de contamination accidentelle.

Pour le blocage de fermentation malolactique, seul le lysozyme permet un blocage efficace de longue durée et pourrait permettre de réduire de manière plus importante la concentration en SO₂. Il ne faut cependant pas oublier que le SO₂ a aussi un rôle anti-oxydant que n'a pas le lysozyme.

3 SO₂ PLUS ACTIF GRACE A L'ACIDIFICATION PAR METHODES PHYSIQUES : ELECTRODIALYSE A MEMBRANE BIPOLAIRE

3.1 Méthodologie

La forme active du SO₂ libre est le SO₂ « moléculaire ». Sa concentration est liée au pH des vins et varie de pratiquement 0 % à pH 4 jusqu'à 6% à pH 3 (figure 7). L'acidification est donc une pratique œnologique intéressante pour diminuer la valeur du pH. L'INRA en collaboration avec la société EURODIA a développé une technique physique de régulation de pH : électrodialyse à membrane bipolaire. Cette technique n'est pas autorisée à ce jour mais la procédure de reconnaissance au niveau de l'OIV est bien avancée.

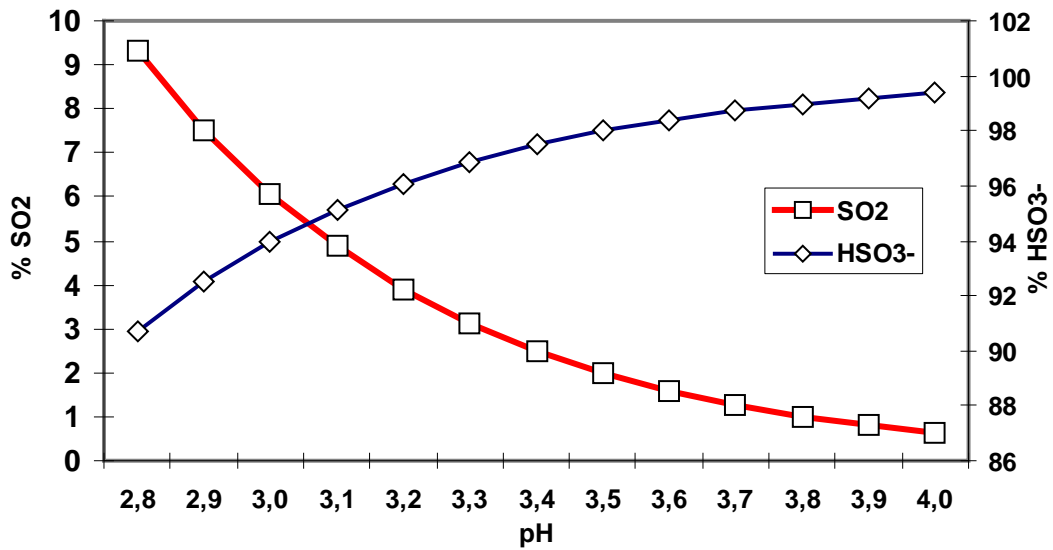
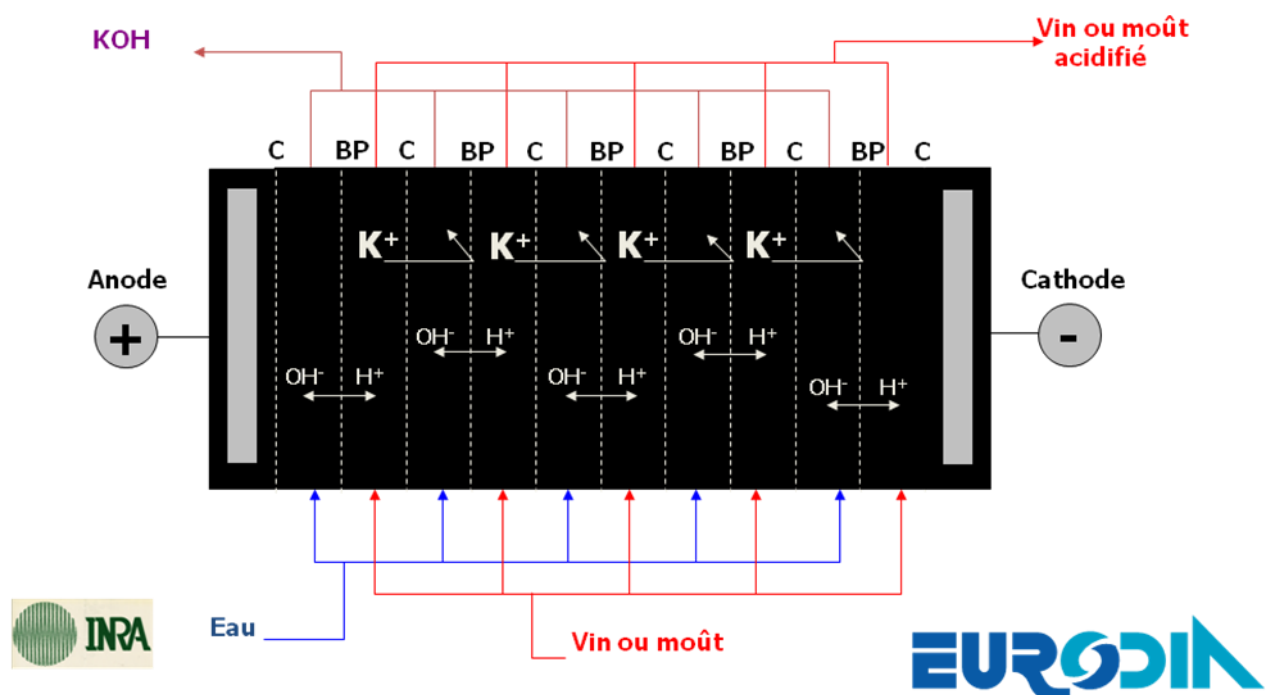


Figure 7 : Pourcentage de SO₂ actif en fonction du pH du vin

Principe de l'électrodialyse à membranes bipolaires :

Dans l'électrodialyse classique, les ions migrent selon le champ électrique. Les anions et les cations migrent vers la cathode ou l'anode et traversent les membranes soit cationique soit anionique. Dans le procédé proposé, les membranes anionique sont remplacées par des membranes bipolaires qui empêchent la migration des anions et des cations. Dans cette membrane une réaction d'électrolyse va se réaliser en libérant un H⁺ et un OH⁻ permettant ainsi de compenser le départ d'un cation du vin (principalement K⁺) par un H⁺ et en conservant l'électroneutralité dans le deuxième compartiment. Ce procédé permet de réguler ainsi le pH à une valeur consigne choisie (Schéma 1).

Schéma 1 : Principe de l'électrodialyse à membrane bipolaire – source INRA/EURODIA



Un essai a été réalisé sur un vin de Syrah avec un pH très élevé de 4,15. Une série d'acidifications par le procédé a été réalisée avec des diminutions allant jusqu'à pH 3,25. Deux niveaux d'acidification par ajout d'acide tartrique (1,5 et 3 g/L) ont été comparés aux modalités « ED-bipolaire ». Deux niveaux de SO₂ ont été testés soit sans ajout, soit avec 1g/hl permettant d'avoir respectivement des concentrations en SO₂ libre d'environ 13-15mg/L pour les lots sans ajout et 18-20 mg/L pour l'ajout de 1 g/hl. Pour apprécier l'effet de l'acidification un ensemencement en *Brettanomyces* (*Brettanomyces intermedius* L02B4 – collection of ITV-France) a été réalisé et les populations implantées ont été suivies en fonction du temps.

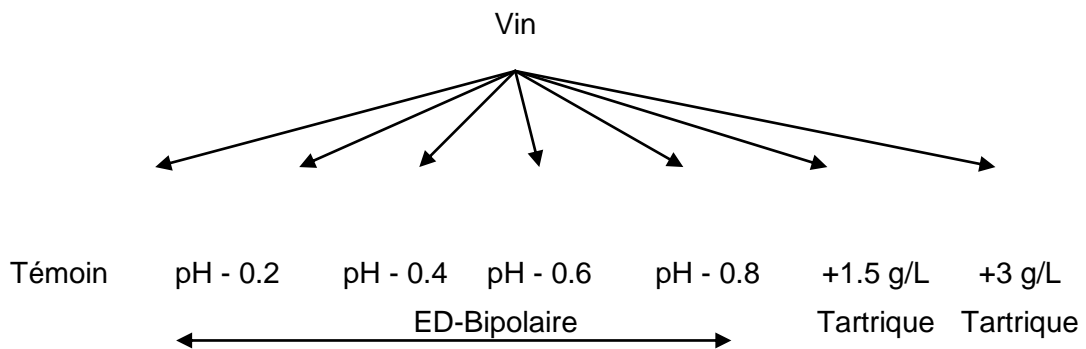


Figure 8 : schéma du protocole – IFV 2006

3.2 Synthèse de ces résultats

Conformément à la théorie, l'évolution du pH est fonction de la concentration en K⁺ éliminé, la concentration en acide tartrique reste identique pour les modalités ED-Bipolaire. L'acidité totale augmente avec le pH et correspond à l'augmentation en H⁺.

L'effet du SO₂ sur le témoin se caractérise malgré le pH à 4,15 par une diminution de 50% de la population. Pour les lots ED-Bipolaire, la réduction de la population des levures est quasi proportionnelle à la baisse de pH, avec une élimination totale des levures pour la diminution de 0,8 unités pH. Pour les acidifications à l'acide tartrique sans ajout de SO₂ les diminutions de population de levures sont comparables au traitement intensif par ED-bipolaire. Avec ajout de SO₂ les populations en levures sont très faibles pour les deux niveaux d'acidification. Dans cet essai l'acidification à l'acide tartrique est plus efficace à variation de pH identique que le traitement par ED-Bipolaire. Ces essais réalisés en très faibles volumes n'ont pas permis une évaluation organoleptique des produits acidifiés.

Cet essai confirme l'intérêt de cette technique physique en alternative à la méthode d'ajout d'acide tartrique.

Les discussions en cours de programme ont montré une assez forte réticence des vignerons « bio » européens pour la technique d'électrodialyse. Cette technique dérivée de l'électrodialyse, non encore autorisée au niveau communautaire n'a pas été jugée prioritaire au niveau des études réalisées dans le cadre d'ORWINE et n'ont pas été reconduites en 2007 et 2008.

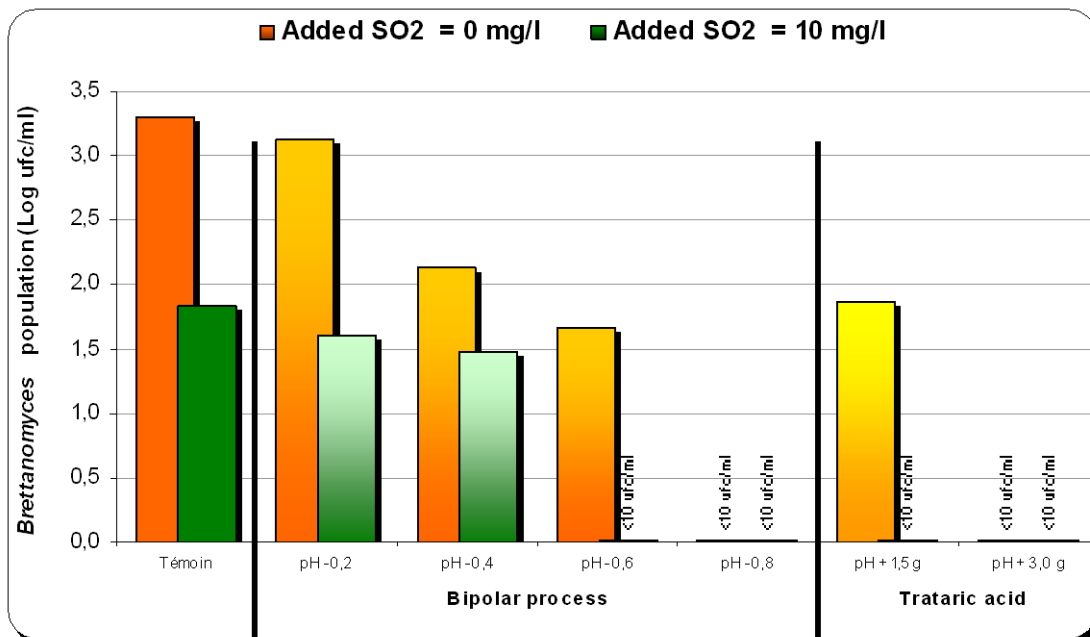


Figure 9 : Population de Brettanomyces 3 jours après la contamination (moyenne de 2 répétition) IFV – 2006