



VIGNERONS BIO
NOUVELLE AQUITAINE

OENO BIO

With the financial support of



VIGNERONS BIO NOUVELLE AQUITAINE

Vignerons Bio Nouvelle Aquitaine : our missions

*Regional union representative of the Organic Wines producer created in 1995
Today, more than 200 organic winegrowers are members
Accompanying the harvest until it is put on the market*



REPRÉSENTATION & DÉFENSE

bio winemakers' interests in regional, national and European viticulture and organic



PROMOTION

Promote and develop the collective image and awareness of organic wines and spirits among professionals and individuals



RECHERCHE & DÉVELOPPEMENT

Initiate and collaborate on research and experimentation programs aimed at improving the quality of Organic wines



ŒNOLOGIE

Contribute to the economic and technical development of organic wine production, by accompanying organic winegrowers individually and collectively



ECONOMIE

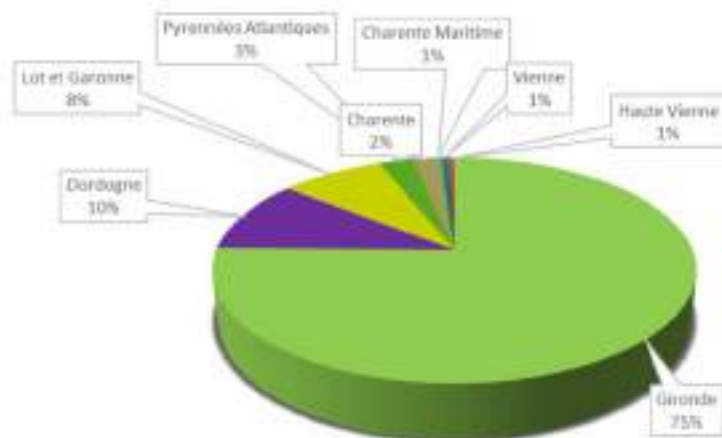
Nos adhérents

207 members

28 new members in 2018

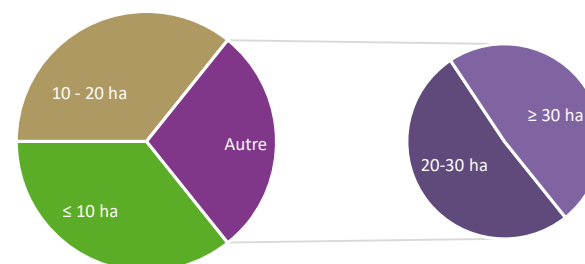
A hundred PDOs and PGI

Répartition Géographique des adhérents

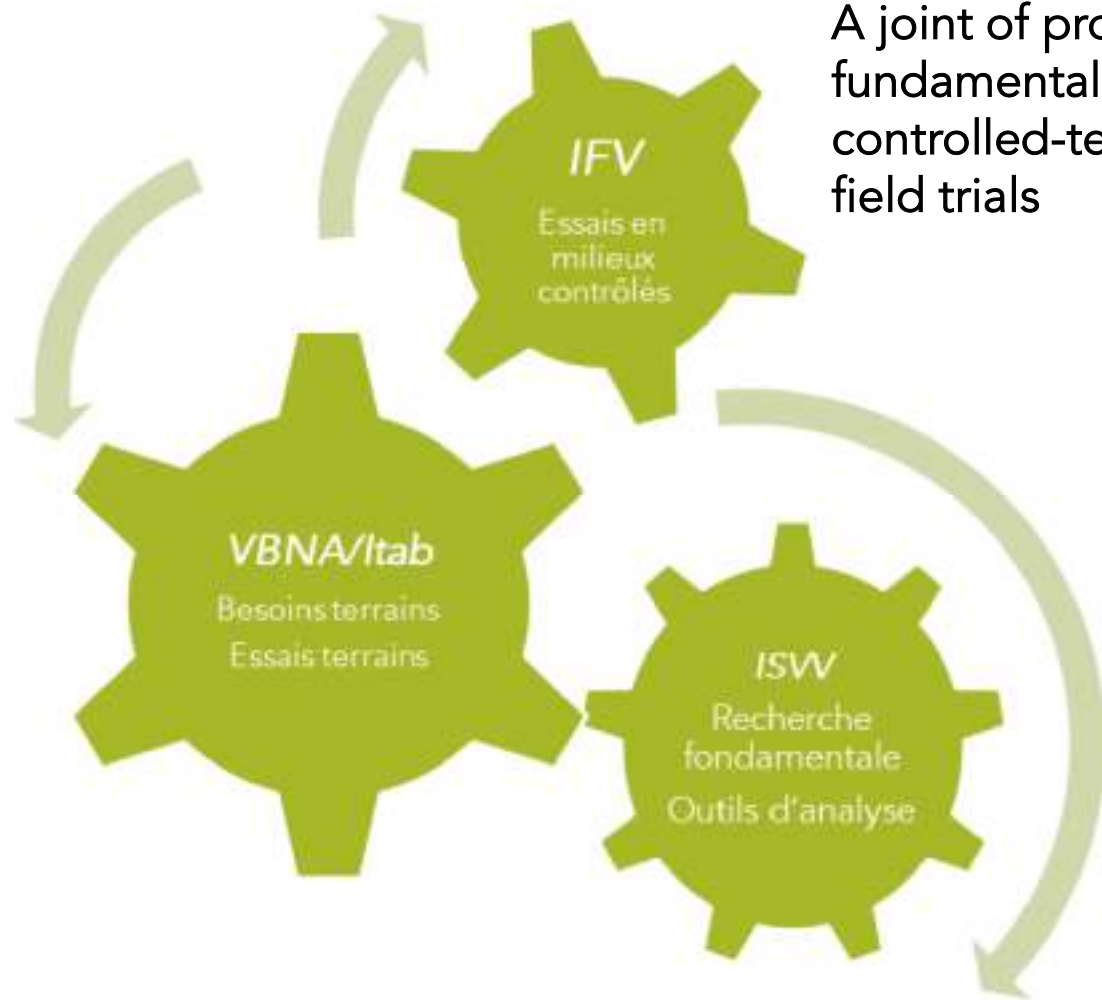


Taille des propriétés adhérentes

■ ≤ 10 ha ■ 10 - 20 ha ■ 20-30 ha ■ ≥ 30 ha



Recherche et développement



A joint of projects on three scales:
fundamental research
controlled-test
field trials

Research and development

WILDWINE **2012/2015**

Characterization and selection of yeasts and bacteria for making mixed sourdough, including Yeasts Non saccharomyces

Bioprotection **2016/2017**

Evaluation of microbiological tools to make winemaking without SO2

RESPECT **2017/2020**

Wines without SO2
Characterization, new analytical tools, microbiological and physical tools to make wine without SO2 from winemaking to bottling

SECURBIO **2011/2013**

Pesticide Contamination Management

FAM de La Vigne au Verre **2013/2015**

Comparaison d'itinéraire de vinification en fonction du mode de conduite

VINS de BORDEAUX SANS SO2 **2017/2020**

CIVB compliance co-financing

2011

2020

CASDAR Levain Bio **2012/2015**

Native yeasts and bacteria
Diversity analysis
Fermentation and selection

Pied de Cuve indigène pour fermentation malolactique **2017/2020**

Casdar Levain Organic Suite on the Bacteria Part

Colles sans allergène et clarification en vinification biologique **2017/2020**

Brettanomyces et la tolérance au SO2

Characterization
Brettanomyces property
identification and analysis

Pesticides **2017/2020**

Ensure the quality of organic wines by controlling the risks of incidental contamination with plant protection products during the process of winemaking organic wines in new Aquitaine.

Partners and funders

Casdar levain Bio



Bioprotection



Les principaux Financeurs :



The consortium



Brettanomyces



RESPECT/Vin de bordeaux sans SO2



Pieds de cuve Bactéries



CONTEXT

functions

Ex: Enzymes only for clarification

A number of wine inputs are required to be Organic if availability :

A list of Organic wine products available in France is produced each year by France Vin Bio in partnership with UFLIO and OENOPPIA validated and disseminated by INAO

[illegible]

Miss & Mrs. J. W. B. 1879

Lists of authorized inputs



Dénomination des produits ou substances	Type de traitement visé	Conditions et restrictions spécifiques dans le cadre des limites et conditions fixées au règlement (CE)
Air	Utilisation pour aération ou oxygénation	
Oxygène gazeux		
Perlite	Centrifugation et filtration	Uniquement comme adjuvant de filtration inerte
Cellulose		
Terre à diatomées		
Apote	Utilisation afin de créer une atmosphère inerte et de manipuler le produit à l'abri de l'air	
Anhydride carbonique		
Argon		
Lesures(1)	Fermentation Alcoolique	
Ecorces de levures(2)	Gestion fermentation alcooliques	Dans la limite d'utilisation de 40 g/l
Phosphate diammonique	Nutrion de la levure	Dans la limite d'utilisation respective de 1 g/l (exprimé en sel) ou de 0,3 g/l pour la seconde fermentation des vins moussés
Chlorhydrate de thiamine		Dans la limite d'utilisation de 0,6 mg/l (exprimé en thiamine) pour chaque traitement
Lesures inactivées		
Autolyats de levure et enveloppes de levures		
Anhydride sulfureux	Stabilisation vin	a) La teneur maximale en anhydride sulfureux n'exécède pas 100 milligrammes par litre pour les vins rouges visés à l'annexe I B, point A 1 a), du règlement (CE) no 606/2009 présentant une teneur en sucre résiduel inférieure à 2 grammes par litre. b) La teneur maximale en anhydride sulfureux n'exécède pas 150 milligrammes par litre pour les vins blancs et roses visés à l'annexe I B, point A 1 b), du règlement (CE) no 606/2009 présentant une teneur en sucre résiduel inférieure à 2 grammes par litre. c) Pour tous les autres vins, la teneur maximale en anhydride sulfureux appliquée le 1er août 2010 conformément à l'annexe I B du règlement (CE) no 606/2009 est réduite de 30 milligrammes par litre.
Disulfite de potassium ou métabisulfite de potassium		
Charbons à usage œnologique	Traitement des casses/ Couleur	Seulement pour les moûts et les vins nouveaux encore en fermentation, le moût de raisins concentré rectifié, et pour les vins blancs Dans la limite d'utilisation de 100 g de produit sec par hl
Gélatine alimentaire(2)	Clarification	Pour le traitement des vins, la limite d'utilisation du chitosane est de maximum 100 g/l
Matrices protéiques d'origine végétale issues de blé ou de pois(2)		
Colle de poisson(2)		
Ovalbumine(2)		
Tannin(2)		
Protéines de pommes de terre(2)		
Extraits protéiques lévuriers(2)		
Caséines		
Chitosane dérivé d'Aspergillus niger		
Caséinate de potassium		
Dioxyde de silicium		
Bentonite		
Enzymes pectolytiques		

Acide lactique	Acidification	Dose maximale : 180 g/hL (soit 180 mL/L de solution à 80%) sur moût et 300 g/hL (soit 312 mL/L de solution à 80%) sur vin (soit augmentation max de 1,5 g/L exprimé en Ac tartrique sur moût et 2,5 g/L max exprimé en Ac tartrique sur vin)
Acide L(+)-tartrique	Déacidification	Dose maximale : 150 g/hL sur moût et 250 g/hL sur vin (soit 4 g/L cures exprimés en acide tartrique = 54 meq/L = 2,61 g/L H2SO4)
Acide L(-)-tartrique		
Carbonate de calcium		Dose maximale : 65 g/hL sur vin La désacidification des vins ne peut être effectuée que dans la limite maximale de 1 gramme par litre exprimée en acide tartrique (= 12,2 meq/L = 0,65 g/L H2SO4)
Tartrate neutre de potassium		Dose maximale : 160 g/hL sur vin La désacidification des vins ne peut être effectuée que dans la limite maximale de 1 gramme par litre exprimée en acide tartrique (= 12,2 meq/L = 0,65 g/L H2SO4)
Bicarbonate de potassium		Dose maximale : 150 g/hL sur vin La désacidification des vins ne peut être effectuée que dans la limite maximale de 1 g/L exprimée en acide tartrique (= 12,2 meq/L = 0,65 g/L H2SO4)
Résine de pin d'Alep	Conservation des vins	Cette pratique œnologique ne peut être effectuée que sur le territoire géographique de la Grèce
Préparations d'écorces de levures(2)	Détoxification du milieu	Dans la limite d'utilisation de 40 g/l
Les faïches, saines et non diluées qui contiennent des levures provenant de la vinification récente de vins secs dans des vins secs	Conservation/Vieillesse des vins	Quantités non supérieures à 5 % du volume du produit traité
Bactéries lactiques	Fermentation Malolactique	
Acide L-ascorbique	Stabilisation microbiologique	Quantité maximale dans le vin traité mis sur le marché: 250 mg/l
Barbotage Azote	Traitement des vins	
Anhydride carbonique	Gestion gaz	Pour les vins tranquilles, la quantité maximale en anhydride carbonique dans le vin traité mis sur le marché est 3 g/L, et la surpression due à l'anhydride carbonique doit être inférieure à 1 bar à la température de 20 °C
Acide citrique	Stabilisation des vins	Quantité maximale dans le vin traité mis sur le marché: 1 g/l
Tannin(2)	Stabilisation Vin/Tartrage	
Acide métatartrique	Stabilisation tartrique	Dans la limite d'utilisation de 100 mg/l
Gomme d'acacia (gomme arabique)(2)	Stabilisation vin	Dose maximale 0,3 g/L
Bisulfate de potassium	Stabilisation tartrique	
Cuivre de cuivre	Traitement des goûts de réduit	Dans la limite d'utilisation de 1 g/l et à condition que le produit traité n'ait pas une teneur en cuivre supérieure à 1 mg/l
Microprotéines de levures	Stabilisation tartrique	
Copeaux de chêne	Utilisation bois/Stabilisation	
Alginate de potassium	Traitement vins moussés et pétillants	Seulement pour l'élaboration de toutes les catégories des vins moussés et des vins pétillants, obtenus par fermentation en bouteille et pour lesquels la séparation des lies est effectuée par dégorgement
Chitosane dérivé d'Aspergillus niger	Stabilisation vin	
Lesures inactivées	Clivage	
Sulfate de calcium		Pour les vins vint generoso ou vint generoso de l'ore unique

Liste non exhaustive des intrants bio interdits

Dénomination des produits ou substances	Type de traitement visé
Polyaspartate de potassium	Stabilisation tartrique
Plaques filtrantes contenant des zéolithes Y-faujasite	Traitement/Filtration des vins
Acidification par traitement électromembranaire	Acidification
Chitine-glucane d'origine fongique	Traitement casses/ Stabilisation microbiologique
Bisulfite d'ammonium	Protection Vendange
Cellulose microcristalline	Amélioration fermentation
Sulfate d'ammonium	Nutrition Levure
Elimination de l'anhydride sulfureux par des procédés physiques	Elimination SO ₂
Kaolin	Clarification
Polyvinylpyrrolidone	Collage
Acide sorbique sous forme de sorbate de potassium	Stabilisation microbiologique
Acide L-malique	Acidification
Acide D, L-malique	Acidification
Tartrate de calcium	Désacidification
Lysozyme	Stabilisation microbiologique
Ferrocyanure de potassium	Traitement des vins
Phytate de calcium	Traitement des vins
Hydrogéntartrate de potassium,	Stabilisation tartrique
Tartrate de calcium	Stabilisation tartrique
Acide D, L- tartrique, également appelé acide racémique, ou de son sel neutre de potassium	Précipitation Calcium
Caramel	Traitement couleur vin de liqueur
Disques de paraffine pure imprégnés d'isothiocyanate d'allyle	Création atmosphère stérile
Dicarbonate de diméthyle (DMDC)	Stabilisation microbiologique
Traitement par électrodialyse	Stabilisation tartrique
Uréase	Traitement des vins
Alginate de calcium	Traitement vins mousseux et pétillants
Désalcoolisation partielle des vins	Désalcoolisation
Copolymères polyvinylimidazole	Traitement métaux lourds
Polyvinylpyrrolidone (PVI/PVP)	Traitement métaux lourds
Carboxyméthylcellulose (gommes de cellulose)	Stabilisation tartrique
Gestion des gaz dissous des vins au moyen de contacteurs membranaires	Gestion gaz dissous
Utilisation d'activateurs de fermentation malolactique	Fermentation malolactique
Réduction de la teneur en sucre des moûts par couplage membranaire	Réduction sucre
Désacidification par traitement électromembranaire	Désacidification
Acidification par traitement avec échangeurs de cations	Acidification ¹

Techniques

Negative list (anything that is not prohibited or restricted is allowed)

Forbidden technics :

Objectif	banned	Authorized
Enrichissement	Partial cold concentration	Reverse osmosis on must
Decrease SO2 content	Elimination sulphurous anhydride by physical processes	
Decrease TAV	Partial de-alcoholization of wines	
Tartaric stabilization	Electrodialysis Treatment with cation exchange resins	Cold treatment

Techniques prone to RESTRICTION:

-Heat treatments: maximum heating temperature - 70°C

2021 (new General Regulation (EU) 2018/848 applicable in 2021)

-Filtering: pore size - 0.2µm

sterile filtration (0.65µm-0.5µm) allowed.

no restriction on nature or type of filter (membrane filter, cartridge, earth, press, tangential microfiltration, cellulose filtration, earth ...)

-thermal treatment, reverse osmosis and use of ion exchange resin for production of MCR

SO2



The rule is a 50mg/l reduction in total SO2 levels on dry wines (less than 2 g/l of residual sugars) and 30mg/l on other wines compared to CMO limits

	Norme OCM viticole	Vin Bio Europe
vins rouges < 2 g/L sucre	150	100
vins rouges entre 2g/L et 5g/L de sucre	150	120
vins rouges > 5g/L de sucre	200	170
vins blancs secs et rosés < 2 g/L	200	150
vins blancs et rosés entre 2g/L et 5g/L de sucre	200	170
vins blancs et rosés > 5g/L de sucre	250	220
vins mousseux : crémants < 2 et à plus de 5g/L de sucre	150	120
vins mousseux Qualité : < 2 et plus de 5g/L sucre	185	155
vins mousseux autres : cuve close... < 2 et à plus de 5g/L	235	205
vins moelleux/liqueureux peu botrytisés ou passerillés	300	270
vins liqueureux fort botrytis ou passerillage	400	370
vins blancs IGP de TAVT > 15% vol et > 45 g/L sucre	300	270
vins de liqueurs, moins de 2 g/L sucre	150	100
vins de liqueurs, plus de 2 g/L sucre	200	170
vins doux naturels	200	170

Vinification

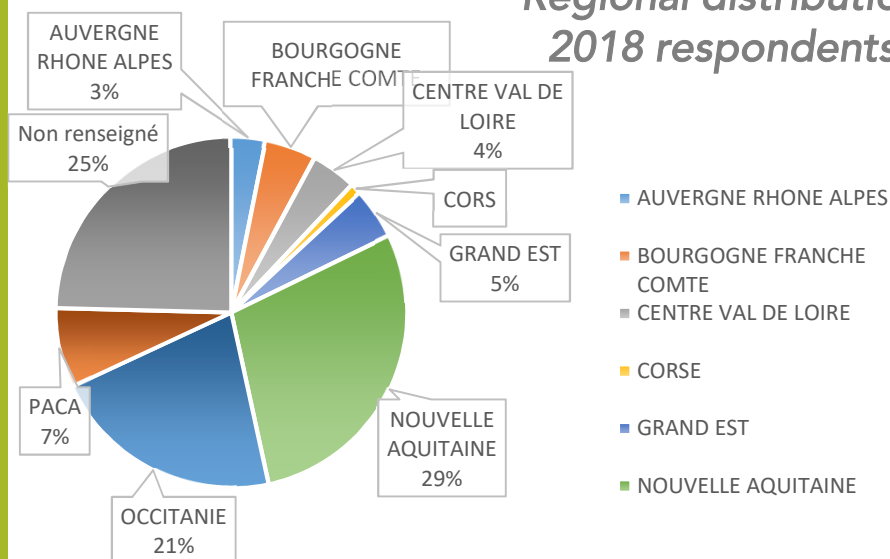
Fermentation



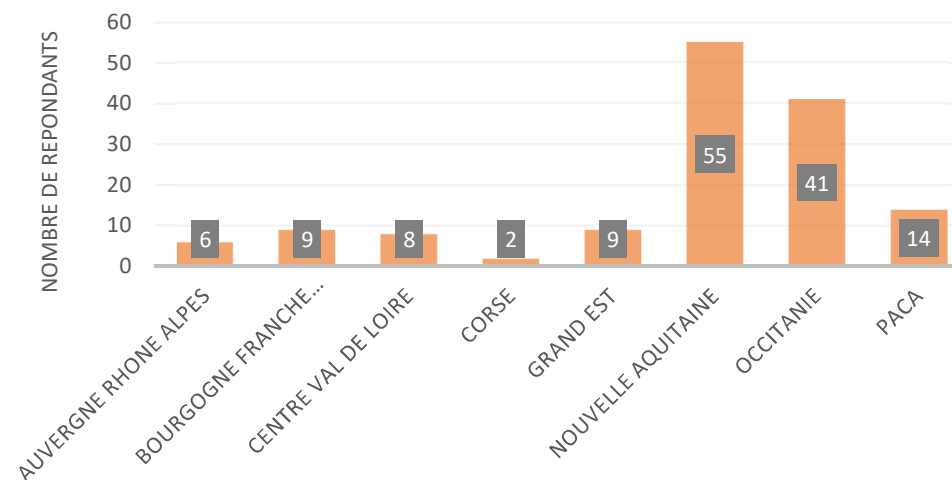
Protection de la vendange	Dioxyde de soufre (SO ₂)	✓	✓
	Acide ascorbique	✓	✗
Enzymage, débourage, extraction du jus	Enzyme pectolitique	✓	✗
	Enzyme d'extraction	✗	✗
Aération	Air / oxygène	✓	✓
Fermentation alcoolique	Levures exogènes	✓	✗*
Nutrition des levures	Ecorce de levures	✓	✓
	Thiamine	✓	✗
	Phosphate diammonique	✓	✗
	Bisulfite d'ammonium	✗	✗
Fermentation malolactique	Bactéries lactiques exogènes	✓	✗*

* une dérogation peut être accordée dans des cas bien précis, motivés et justifiés et après étude de la demande par la commission cahier des charges de Demeter France

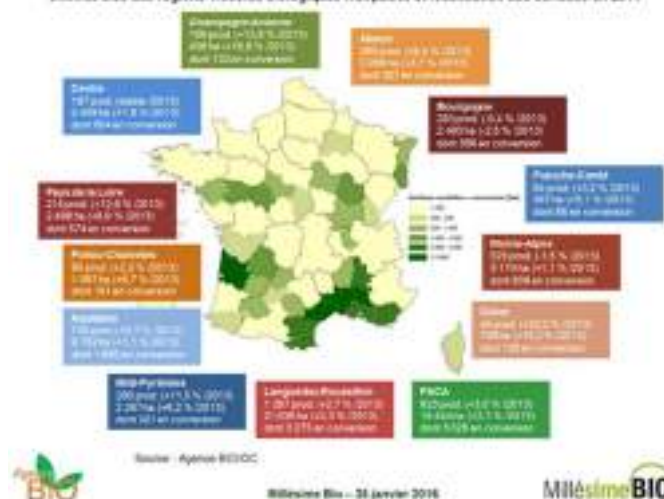
Regional distribution 2018 respondents



Regional breakdown 2018 in number of respondents

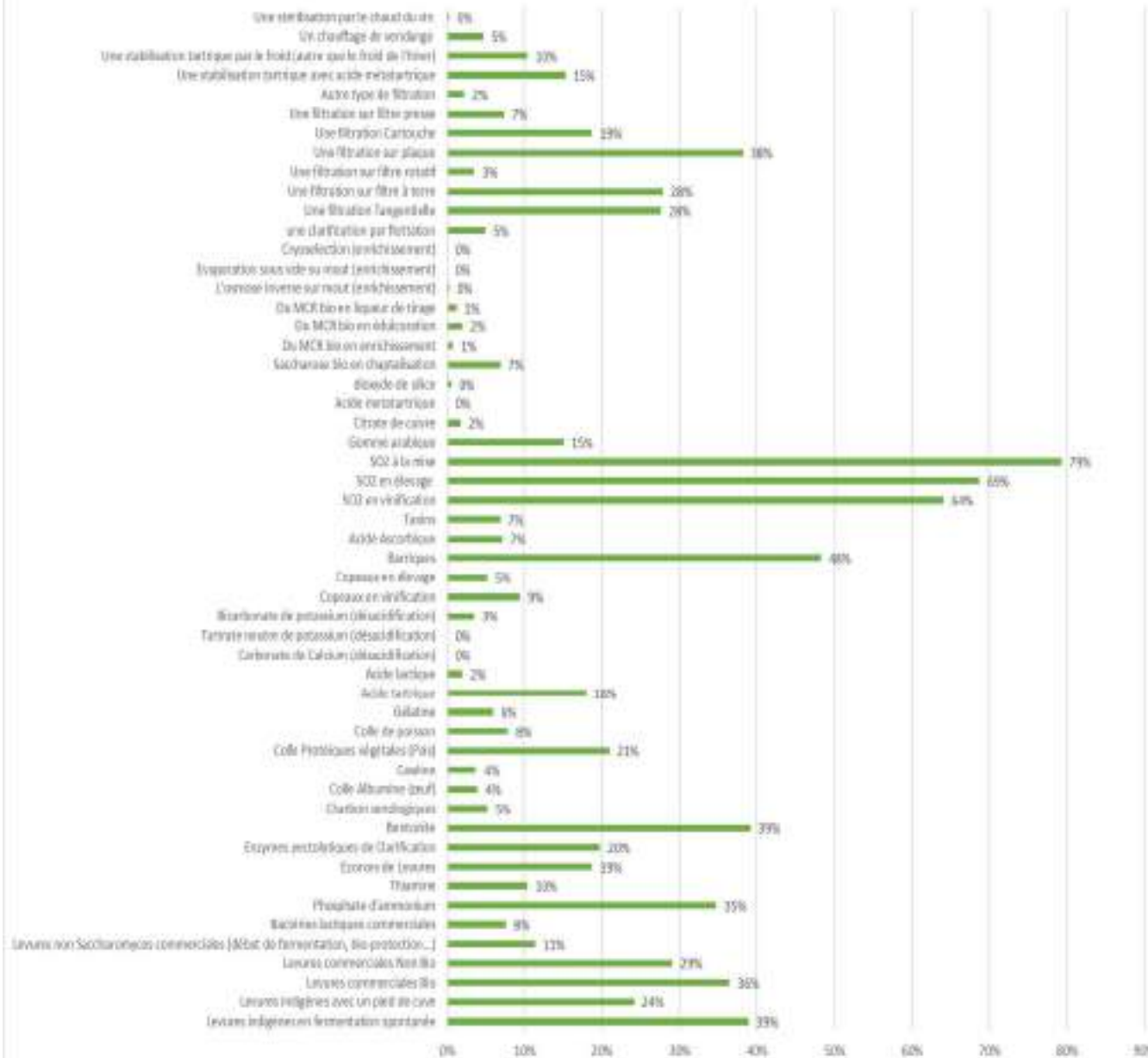


Chiffres clés des régions viticoles biologiques françaises et localisation des surfaces en 2014



- 191 respondents across France
- Distribution quite close to the geographical distribution of Organic winemakers in France.
- If not for the PACA region where it is still difficult for us to obtain a return rate that is up to the representation of this region.

Intrants et pratiques œnologiques utilisés en bio - National 2018



The main trends:

-Almost all of the tools made available by organic wine regulations are used

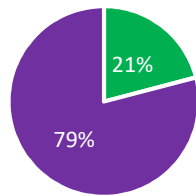
-But overall low use for most inputs and techniques (-30% usage)

-Excluding SO₂, barrels (48%), plate filtration (38%), bentonite (39%), ammonium phosphate (35%)

-The use of indigenous fermentation is important in organic: 39%

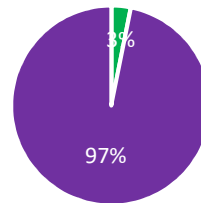
-These uses are often related to a type of product.

Vignerons réalisant une cuvée sans SO2



■ Oui ■ Non

Vignerons réalisant du vrac sans SO2



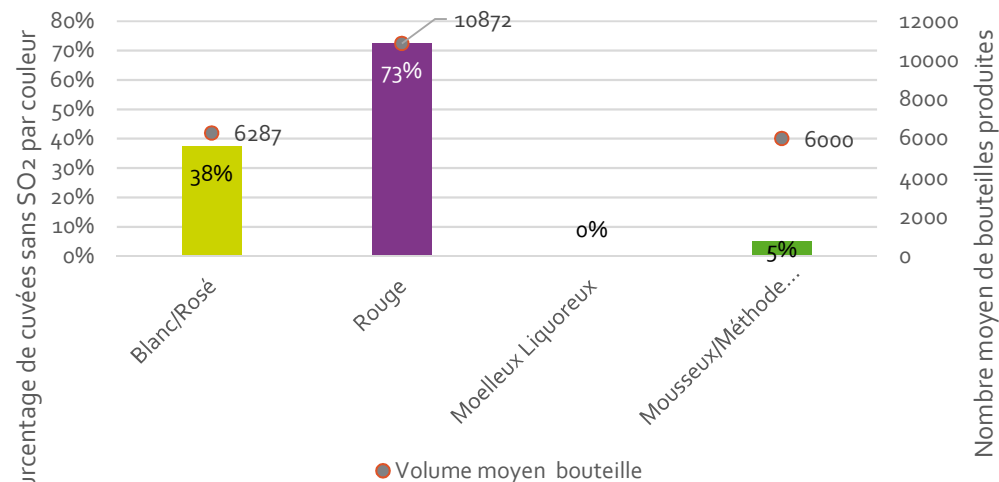
■ Oui ■ Non

Wine without SO2

A significant proportion of winemakers making vintages without SO2: almost 1/5 of respondents

Not developed in Bulk producers

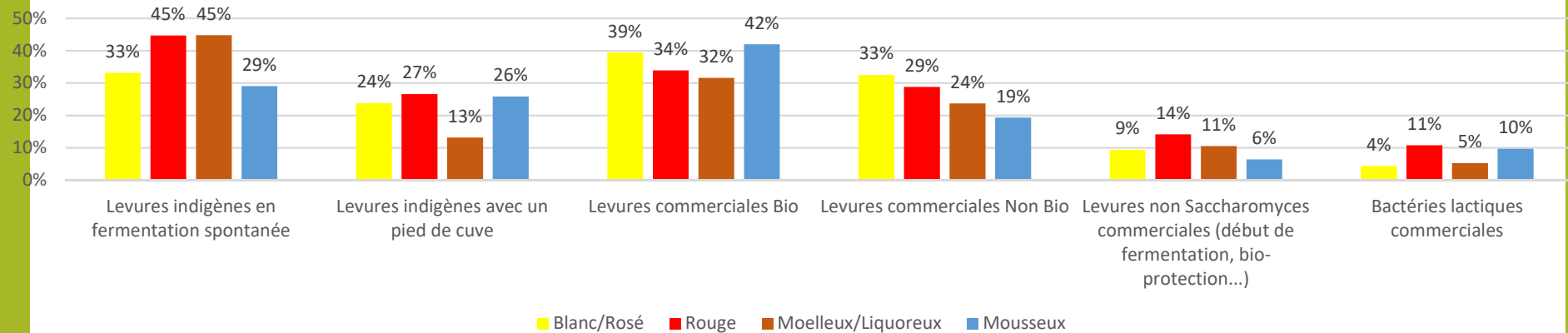
Distribution by colour of cuvées without SO2 and average of the number Bottle produced per product



- Unsurprisingly, the majority of so2-free vintages are made on red wines because technically easier to make
- However, some winemakers do it all over their range
- Consistent average volume produced in red (more than 10,000 bottles on average)

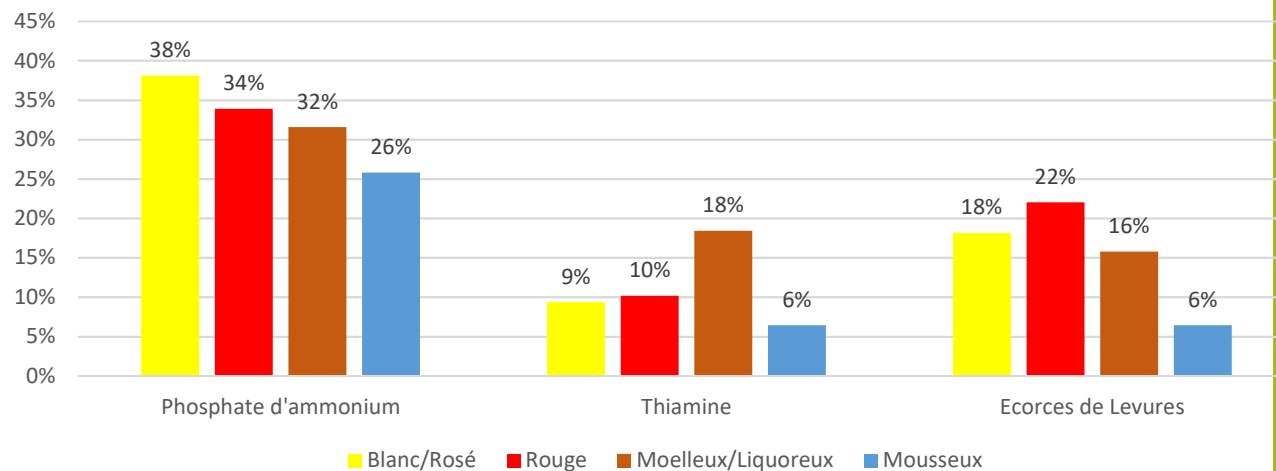
Comparison of input/practice use by product type

Breakdown by color of yeast and bacteria use - 2018



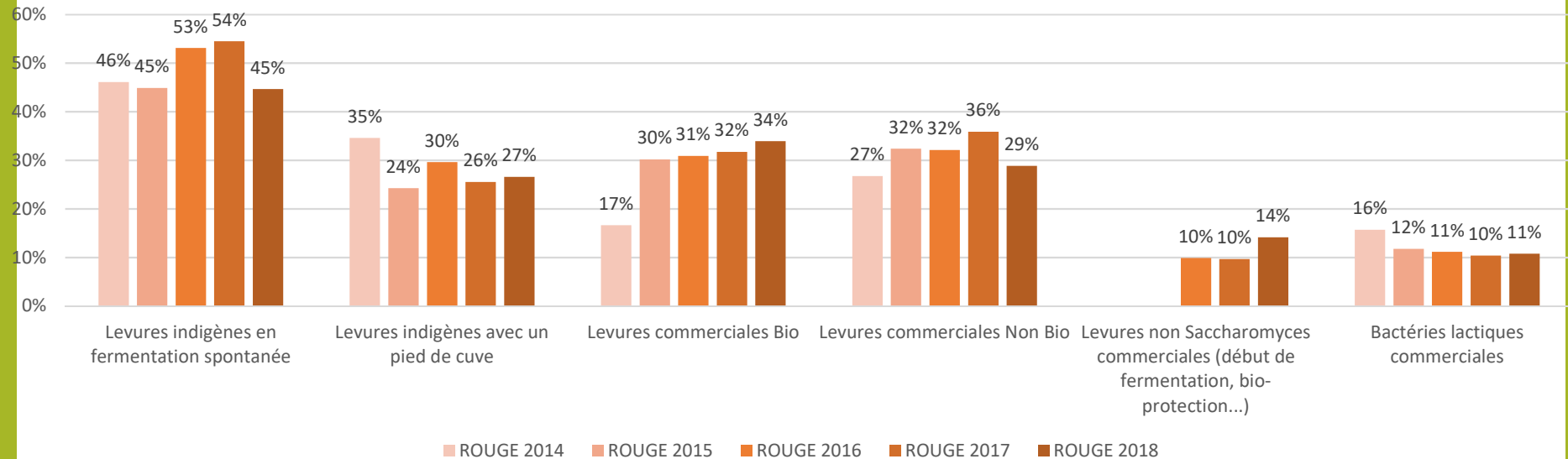
As far as nutrition is concerned there does not seem to be a great distinction between white and red.

Produits de nutrition et stimulateurs de fermentation - 2018



Red focus: yeasts and bacteria

Evolution use Yeasts/Bacteria in Red



- Majority indigenous fermentation in red: between 45 and 55% of winemakers each year
- Use of stabilized tank feet, which does not increase
- implementation that requires time at the beginning of the harvest
- gold depending on the harvest conditions (lack of time or good fermentation conditions (potential alcoholic degrees, assimilable nitrogen...) vintners will let vats go into spontaneous fermentation
- Higher use of commercial LSA Organic (34%) compared to non-organic (29%)
- Use of minority commercial bacteria (11%). Recourse in the case of spontaneous trigger pb or willingness to quickly realize FML to sell quickly
- Increased use of non-Saccharomyces yeasts

INDIGENOUS FERMENTATION

Project CASDAR Levain BIO

CASDAR
Levain
BIO

Diversity assessment
Carting Levure Sacch and
Oeno Bacteria

Tank foot protocol
Settings rating

IFV Tests - Ground
Trials

Selection of yeast and
bacteria strains

IFV Tests - Ground
Trials

Broadcast of PDC and
Selection Protocols

Développement
de nouvelle
méthodes
d'analyse

WILDWINE

Carting Levure Sacch and
Oeno Bacteria - NO SACCH
and Lactic Bacteria

Caracterisation, évaluation , sélection
des souches.
Test levains mixtes

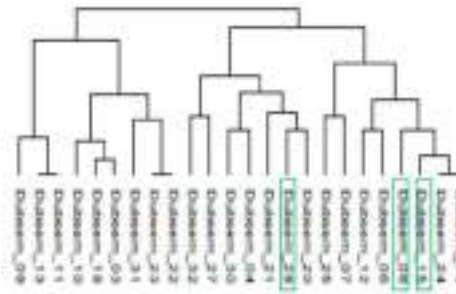
IFV Tests - Ground
Trials

Obtaining original mixed
sourdoughs
Selection protocols

Professional and
general public
tastings

Selection of FA strains

method



ISVV

IFV

Châteaux

In a castle:

- Diversity analysis
- Strain isolation

Synthetic Must Preselection

- Fermentary Kinetics
- Chemical analysis

Natural Must selection

- Fermentary Kinetics
- Chemical analysis
- H₂S test for yeasts
- Biogenic amines test for bacteria

Production of cream to test the strain in vat
strain at the IFV

Production of cream to test the strain at
the estate

CURRENT CONTEXT

problematic:

	Avantages	Inconvénients
Lsa	-Quantitative and qualitative mastery -"pure guaranteed strain" -Quick and simple implementation	-Buying -Minimum dose to be respected
Spontaneous natives	-No purchase -Diversity of strains -Typicity	-Heavy implementation -Unknown native population -Possibility of unnecessary or harmful yeasts -Random success
PDC	-No purchase -Diversity of strains -Typicity	-Heavy implementation -Unknown native population -Possibility of unnecessary or harmful yeasts -Random success
Selected natives	-Physiological quality mastery -Better sourdough control	-Heavy implementation -Precaution to avoid contamination -Costly

————→ **Outils de maîtrise**



CASDAR PROJECT « LEVAIN BIO »

Improving the quality of organic wines and ciders obtained through the use of native yeasts and bacteria



Projet National

Diversity



ACTION 1

Mapping the diversity of yeast and bacteria strains in Aquitaine:

Yeast

LIBOURNAIS

- 1-Château les Minauderies
- 2-Château Moulin de lagnet
- 3-Lycée Montagne
- 4-Château Bellevue
- 5-Château Dubourg
- 6-Château Franc Boudron
- 7-Château Lateyron
- 8-Château Brandeau
- 9-Châteaux des Rochers
- 10-Château Franc la fleur
- 11-Clos Puy Arnaud
- 12-Château Beynat

ENTRE DEUX MERS

- 13-Château Du bourdieu

MEDOC

- 14-Closerie des Moussis

GRAVES

- 15-Château Baulos Charmes
- 16-Château Bichon Cassignol
- 17-Château Climents
- 18-Château Guiraud



Bacteria

LIBOURNAIS

- 1-Château de Piote
- 2 -Château Rioublanc
- 3 -Château La croix de Roche
- 4 -Château Annereaux
- 5 -Châteaux Beauregard
- 6 -Château Moulin de lagnet
- 7 -Lycée Montagne
- 8-Château Bellevue
- 9 -Château Laroque
- 10- Château d' Arcole
- 11 -Château Beynat
- 12 -Château Tour haut balette
- 13 -Château Brandeau
- 14 -Château La Peyrere OU LA CROIX

ENTRE DEUX MERS

- 15- Château d'Esther
- 16 -Château Lavergne dulong
- 17 -Château Moulin de Peyronin
- 18-Château Du bourdieu

MEDOC

- 19 -Château Segue longue
- 20 -Château Micalet
- 21 -Closerie des Moussis

GRAVES

- 22-Château Baulos Charmes
- 23 -Château Bichon Cassignol
- 24 -Château Guiraud





ACTION 1

Genetic analysis and comparison of yeasts from regions and production sites :

PCR delta: Differentiating *Saccharomyces.cerevisiae* strains

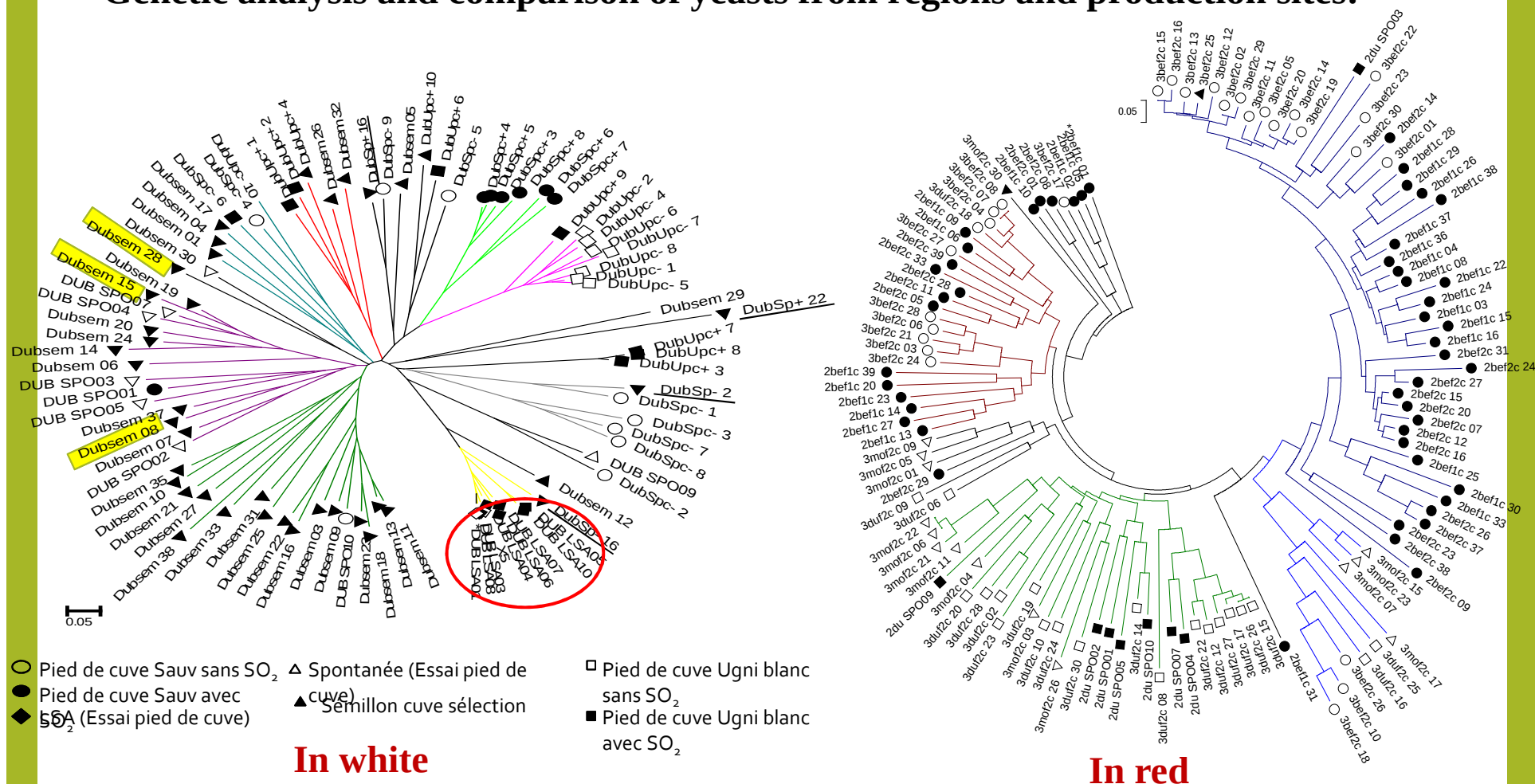
Microsatellites: Genetic proximity of *Saccharomyces.cerevisiae* strains

- 75% of the strains identified are of the species *S. cerevisiae* (287 clones)
- 5% to other yeasts of the genus *Saccharomyces*
- 20% to non-*Saccharomyces* species.



ACTION 1

Genetic analysis and comparison of yeasts from regions and production sites:



Research: Biodiversity study

- *Saccharomyces cerevisiae*

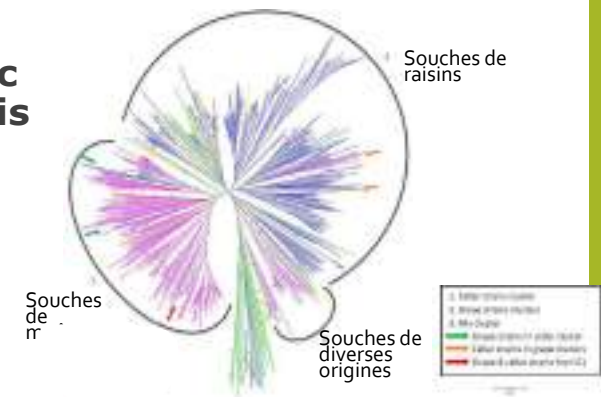


- **Sampling**

- New Aquitaine
- 26 farms
- 600 strains

- **Genetic analysis**

-



- **Very wide variety of strains (up 10,000)**
- **Separation of grape and chai populations**
- **No specific strain of region or estate**
- **But persistence of strains on several vintages in appellations and cellars**

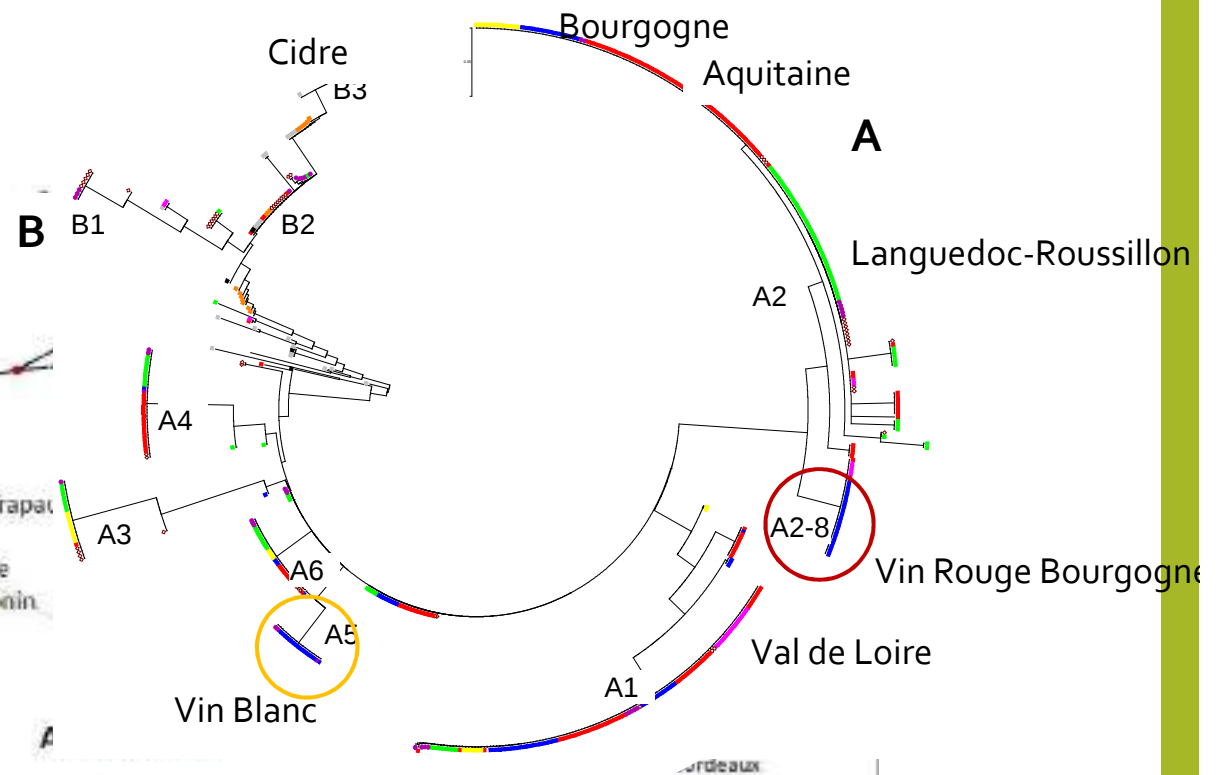
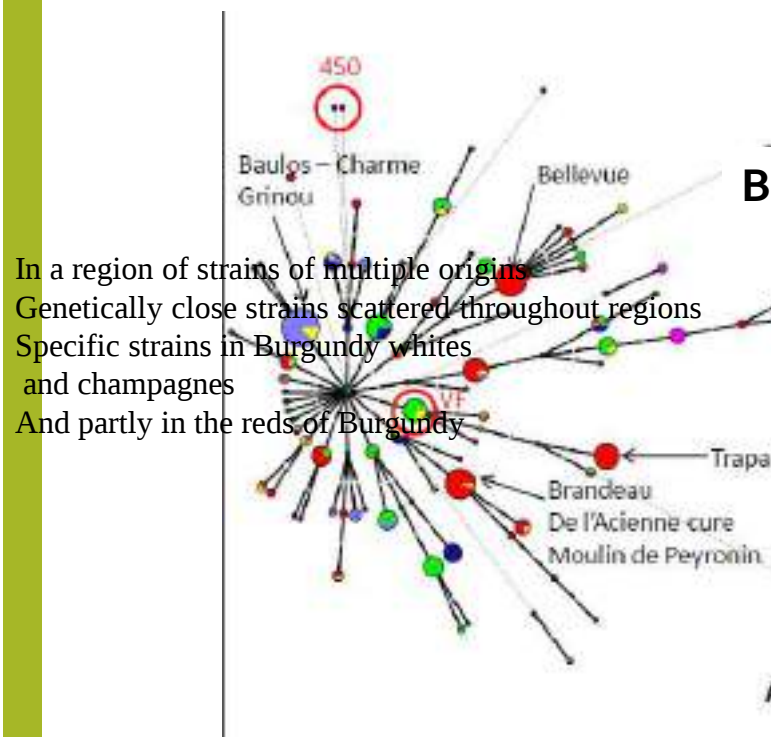


ACTION 1

Genetic analysis and comparison of bacteria in regions and production sites:

VNTR: Differentiates *Oenococcus oeni* strains

SNP: Genetic proximity of *Oenococcus oeni* strains (determine strains are specific, or not, of regions, farms or products)

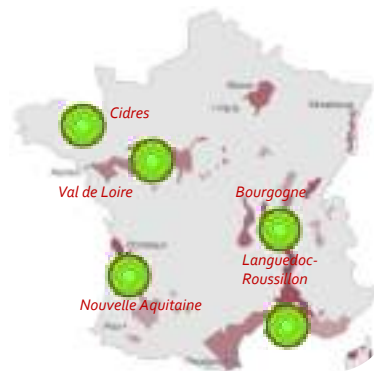


1072 colonies *Oenococcus oeni* and 200 strains *Oenococcus oeni*

Mariette El Khoury
Patrick Lucas

Research: Biodiversity study

- *Oenococcus oeni*



set of samples

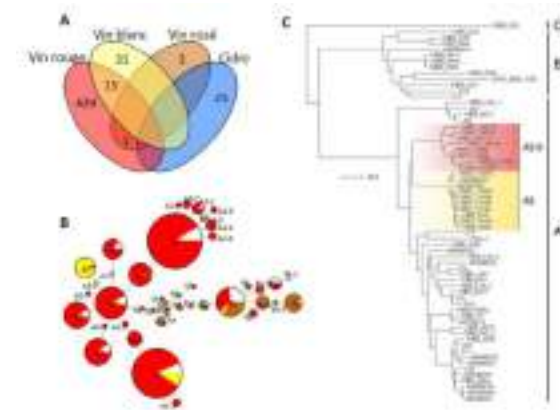
5 regions

74 farms

235 wines and ciders

3000 bacteria

Genetic analysis



- **No regionally specific strains**
- **Nor exploitation**
- **But strains adapted to types of wines**
- **And strains persisting on farms**



ACTION 1

Conclusion:

For each species, yeast strains and oenological bacteria:

- form a single genetic family (a single origin)
- their recent appearance and is related to human activity
- form genetic groups (sub-families) sometimes specific of products
- no specific groups of region (or exploitation), as they disperse
- no dominant strains, (no "invasion" of commercial strains)
- are very diverse (a few hundred or thousands of different strains per region)
- are rarely found in several regions
- without being "genetically specific" to a region, or a farm, they can sometimes appear "unique" to a region or exploitation (because they are very diverse)

Starter for Yeast



ACTION 2

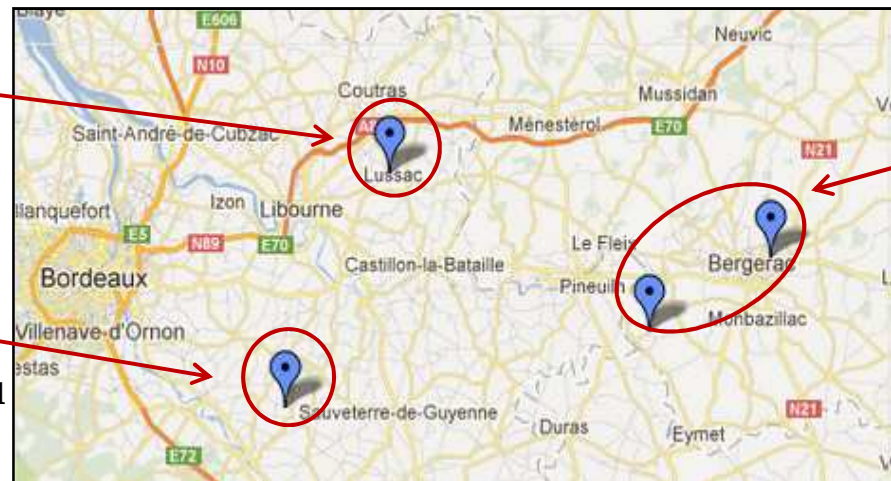
Setting up a network of sites for PDC and SELECTION testing

Lussac – St Emilion

. Château Bellevue

Entre-deux Mers

. Domaine Du Bourdieu



Bergerac

. Domaine des Costes

. Château Richard

PDC

30L Or 50L

ISVV/IFV

2012

PDC: Merlot

Harvest: Merlot

Modality: -Liquid and Solid

-With SO2 and Sans SO2

-LSA Bio

-Spontaneous

2013

PDC: Sauvignon Blanc

Harvest: Sauvignon Blanc

Modality: -13C and 18C

-With O2 and No O2

-LSA F33

-Spontaneous

2014

PDC: Sauvignon Blanc

Harvest: Sauvignon Blanc

Modality: -T-18 degrees Celsius

-With O2 Or Without O2

-LSA F33

-Spontaneous

Controlled
environments

PDC: Merlot

Harvest: Merlot

Modality: -18C and 24C

-With O2 and No O2

-LSA F33

-Spontaneous

PDC: Merlot

Harvest: Merlot

Modality: -T-24degrees Celsius

-With O2 and No O2

-LSA F33

-Spontaneous

2,5hL

Estate

2012

PDC: Ugni Blanc and Sauvignon blanc

Harvest: Sauvignon gris

Modality: -With SO2 and Sans SO2

-LSA Bio

-Spontaneous



2013

No ground test

2014

PDC: Sauvignon Blanc

Harvest: Sauvignon Blanc

Modality: -LSA X5

-PDC

PDC: Merlot

Harvest: Merlot

Modality: -LSA F33

-PDC

PDC: Merlot

Harvest: Merlot

Modality: -

Spontaneous

-PDC

PDC: Merlot

Harvest: Merlot

Modality: -Be15

-Mixe

Ground

Testing The PDCs

A T-0 Chemical Analysis by IFV on Overall Juice



In erlens

50% chemical analysis by IFV
qPCR at 50% by ISVV
Tastings at 75% by ISVV



In vats

IFV samples for isolation
Levurian population at 75% by ISVV
Tastings by IFV



ACTION 2

Develop FA tank foot preparation and control protocols



Domaine Du Bourdieu

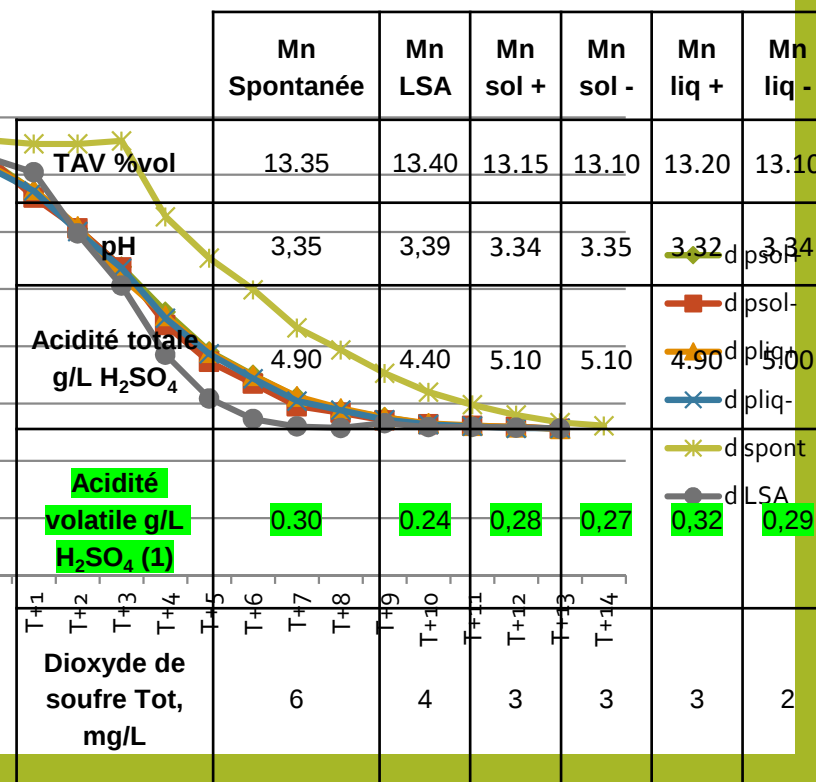
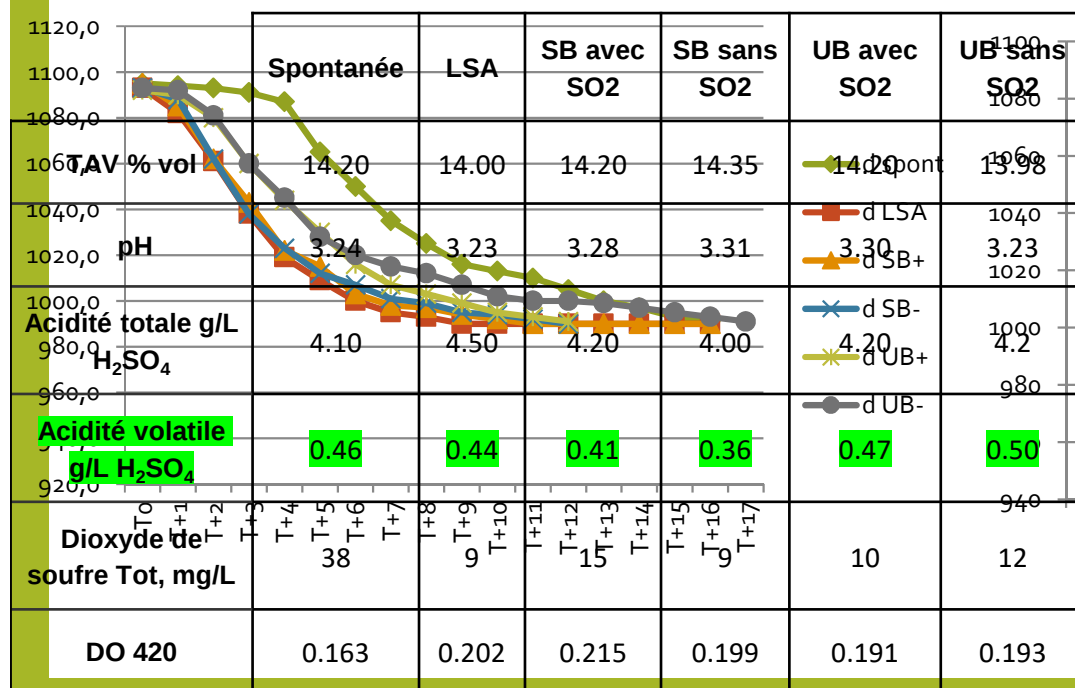
Ugni Blanc and
Sauvignon blanc

2012:

With SO2 and without SO2

Château Bellevue

Liquid and Solid
Merlot





ACTION 2

Develop FA tank foot preparation and control protocols



Domaine Du Bourdieu

Ugni Blanc and
Sauvignon Blanc

Château Bellevue

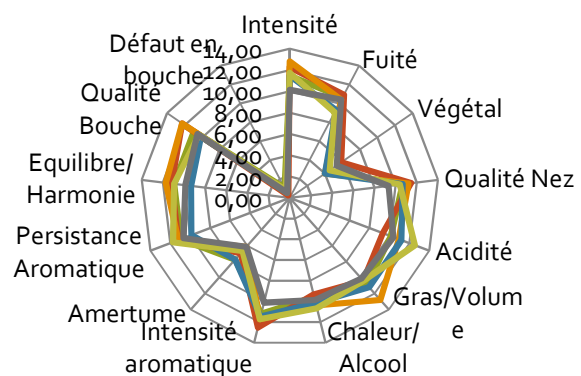
2012:

With SO2 and without SO2

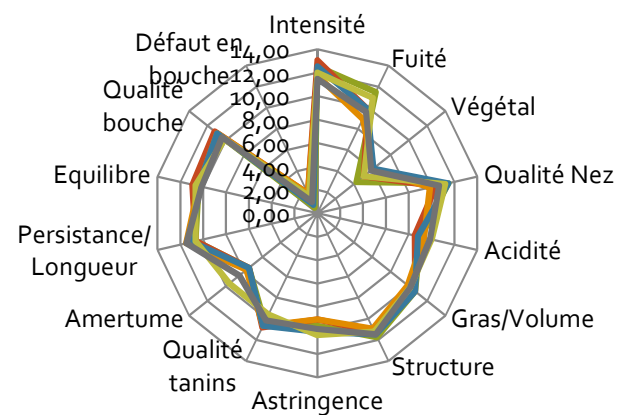


Liquid and Solid
Merlot

tasting



39- Spontanée
218- LSA
856- PDC UB+
720- PDC UB-
518- PDC SB+
987- PDC SB-



259- Spontanée
595- LSA
041- sol+
121- sol-
733- liqu +
248- liqu -



ACTION 2

Develop FA tank foot preparation and control protocols

Domaine Du Bourdieu

Sauvignon blanc



2013:

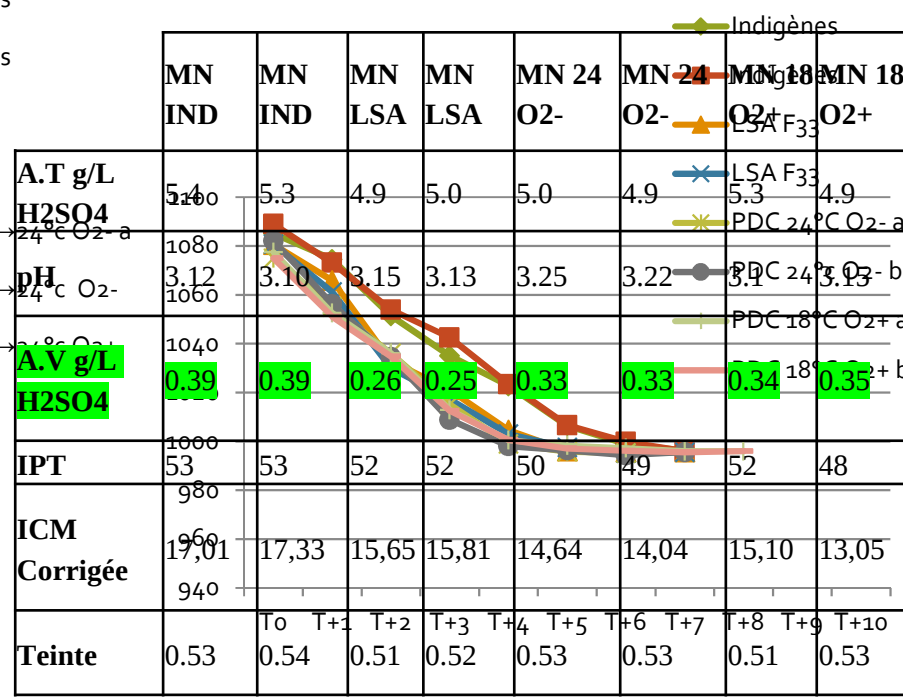
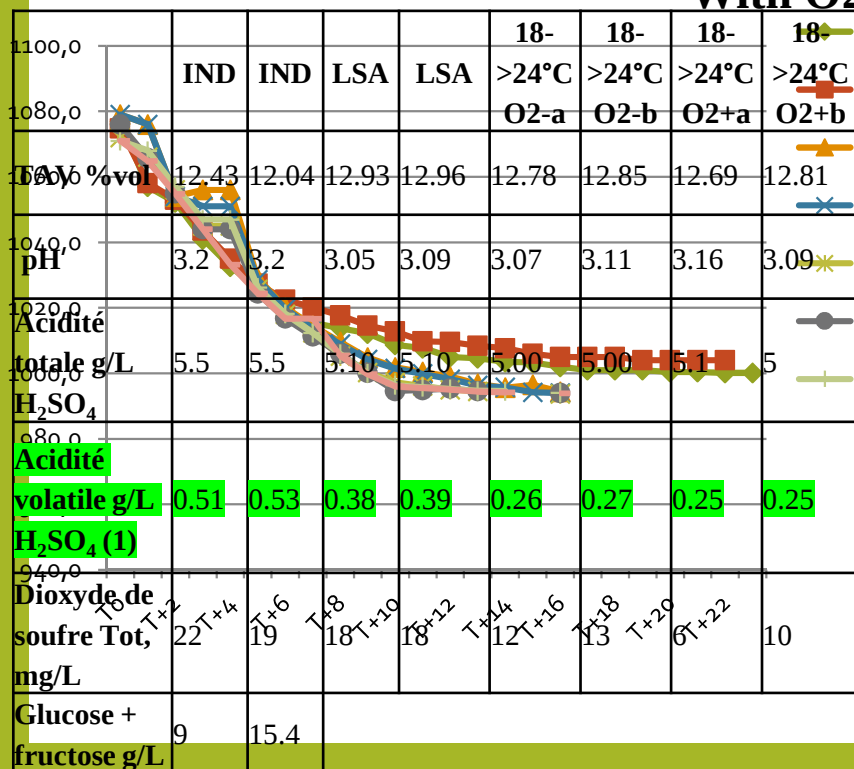
T-18 and 24

+

With O2 and without O2

Château Bellevue

Merlot





ACTION 2

Develop FA tank foot preparation and control protocols

Domaine Du Bourdieu

2013:
T-18 and 24

Château Bellevue

Sauvignon blanc

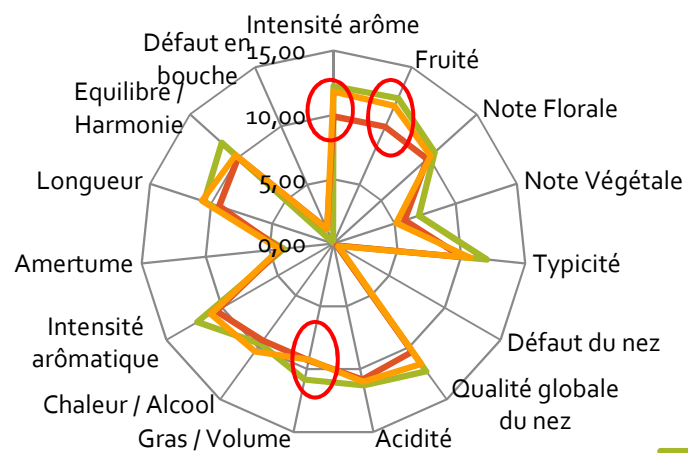


With O2 and without O2

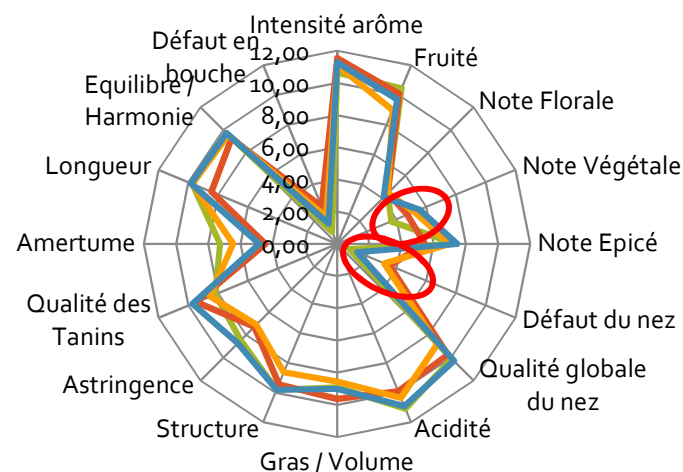


Merlot

tasting



LSA X5
PDC1 18°C O2 -
PDC2 18°C O2+



Spontanée
LSA F33
PDC1 24°C O2-
PDC2 18°C O2+



ACTION 2

Conclusion

- Solid/Liquid - No difference → Choice - Liquid because it's more convenient to manage
- Picking grapes with maturity, healthy and not too acidic
- SO₂= No difference → But better control of microorganisms and promotes the development of *Saccharomyces.cerevisiae*
- Température → 18oC for whites
24oC for the Reds
- O₂ = No answer

PDC Protocol



ACTION 2

Essai PDC

Château Lavergne Dulong

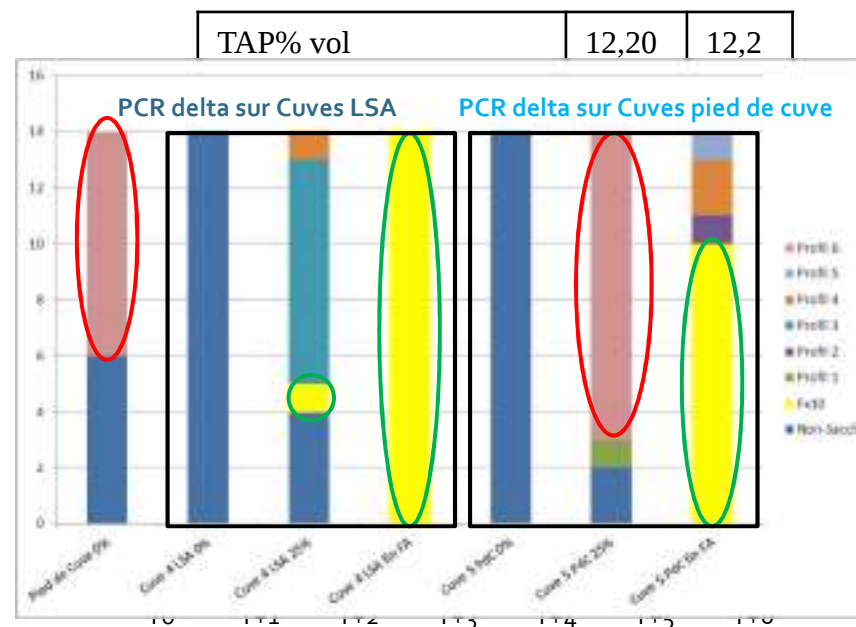
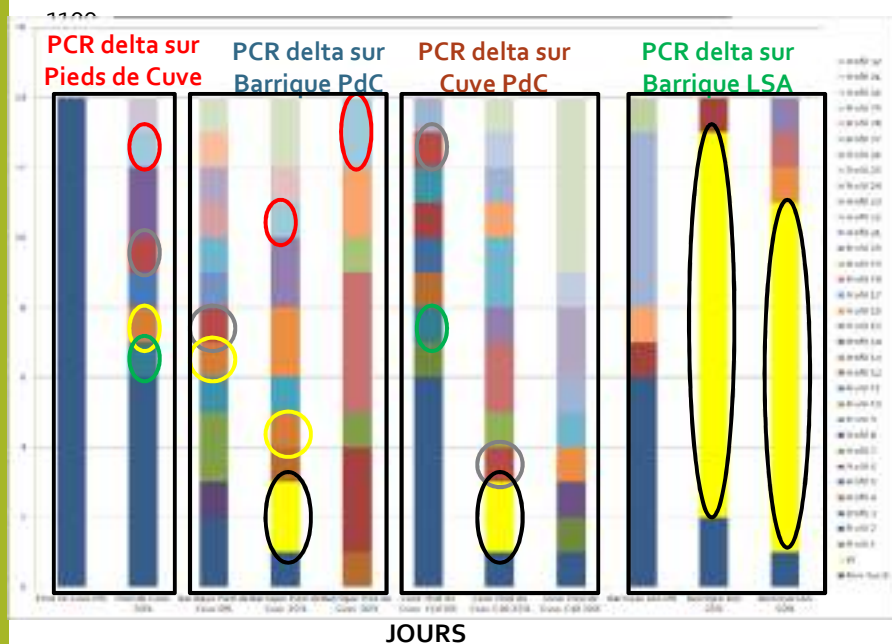
2014:

New barrel - Barrel 1 wine
Sauvignon Blanc



2014:

PDC Rouge
Merlot



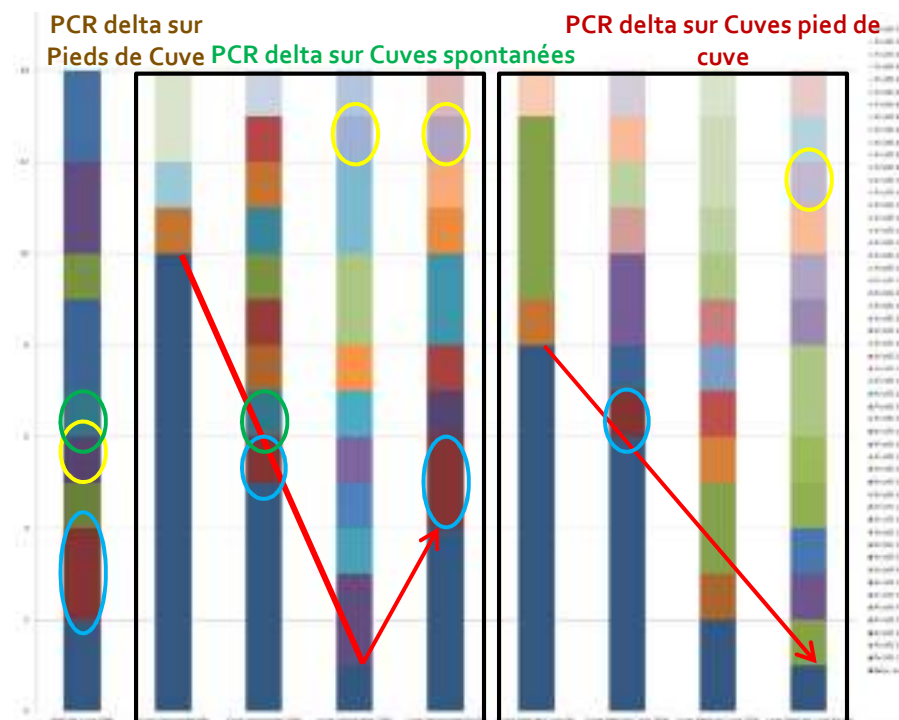
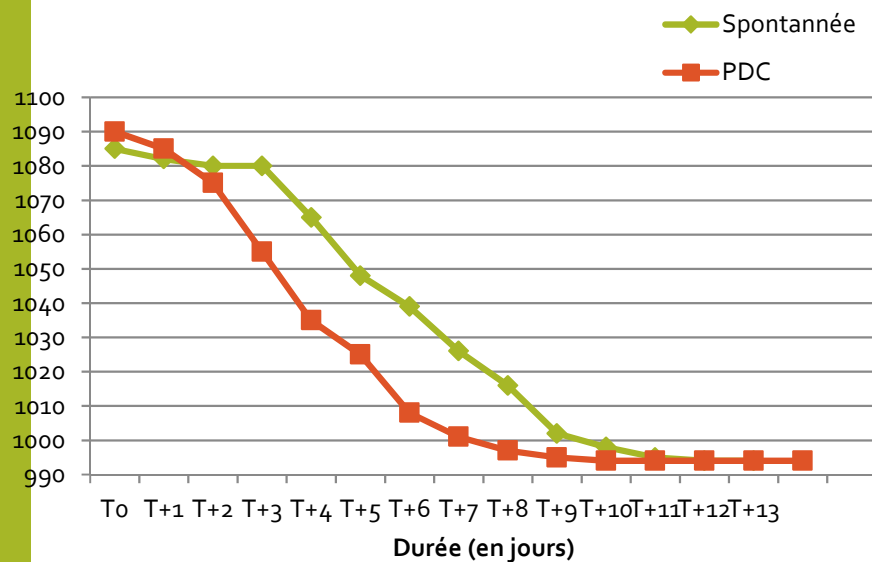
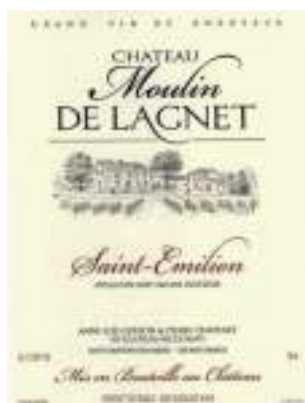


ACTION 2

Essai PDC

Château Moulin de lagnet

2014:
PDC Merlot



Starter for Bacteria



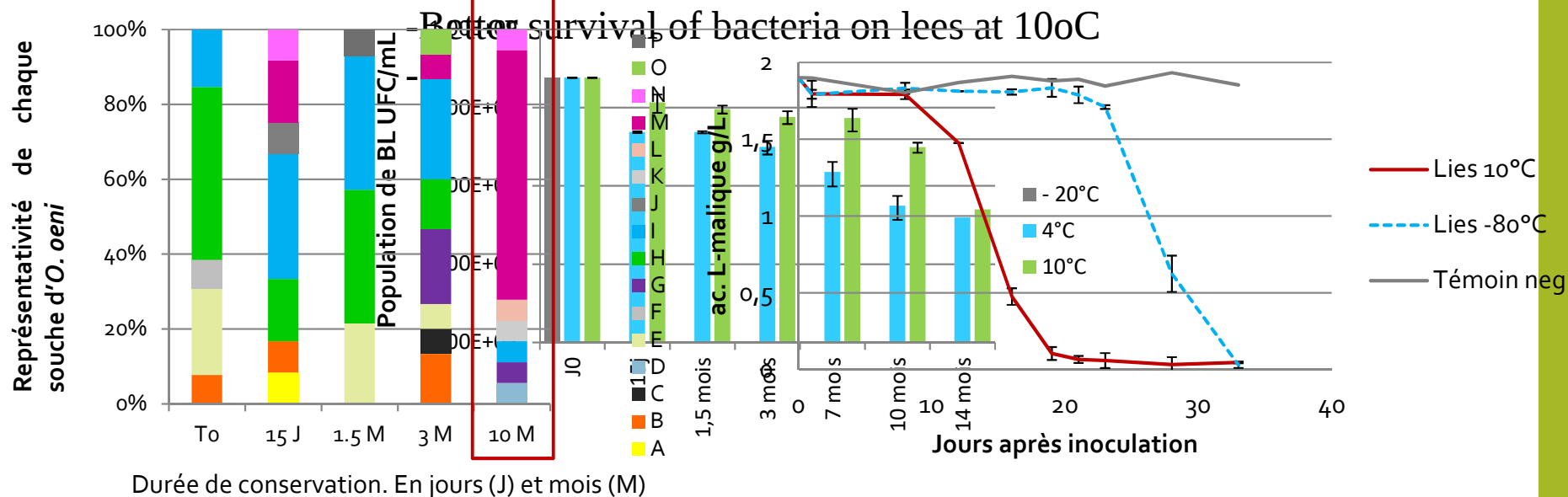
ACTION 2

Develop FML tank foot preparation and control protocols

Conservation of lees

- Gradual disappearance of majority strains during conservation
- Detection of new strains

Keep the lees to use as PDC in year N+1

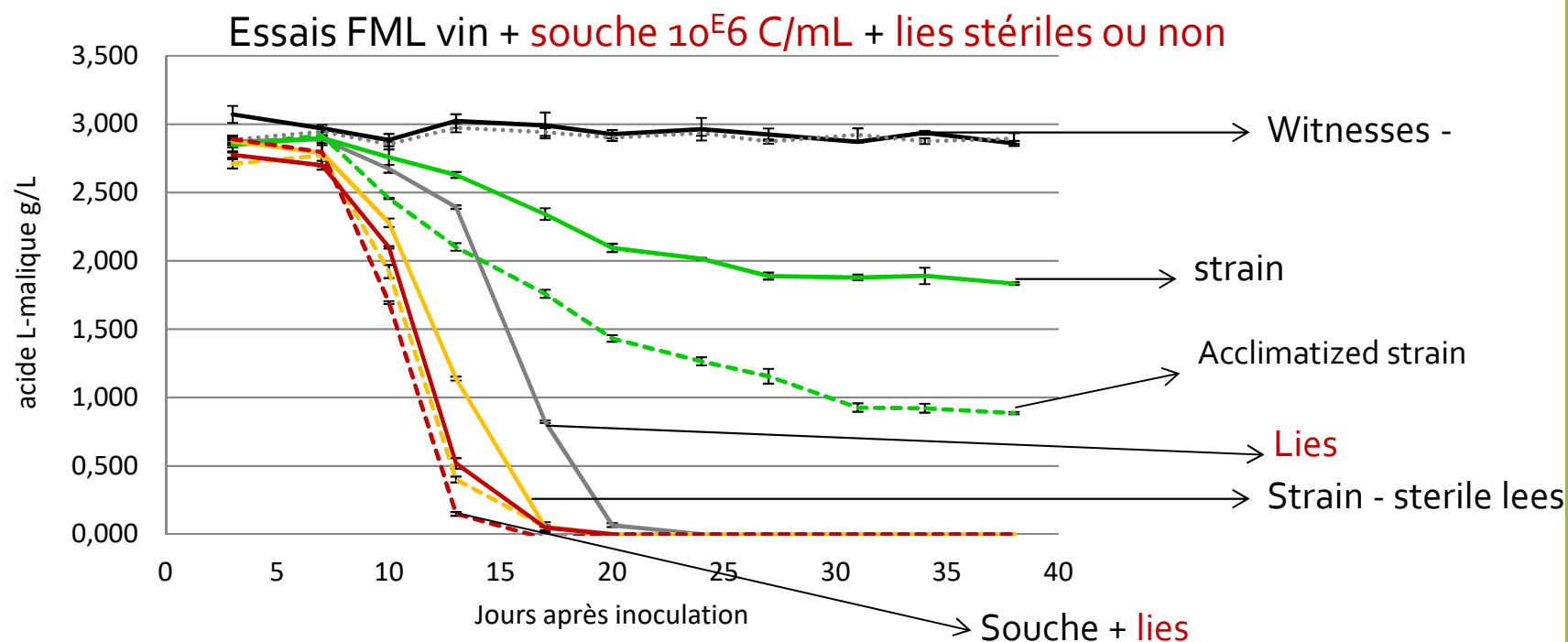




ACTION 2

Develop FML tank foot preparation and control protocols

Relevance of FML's lees



*FML only bad strain probably because of wine

*Strain - lees (sterile or not): FML - 15 days

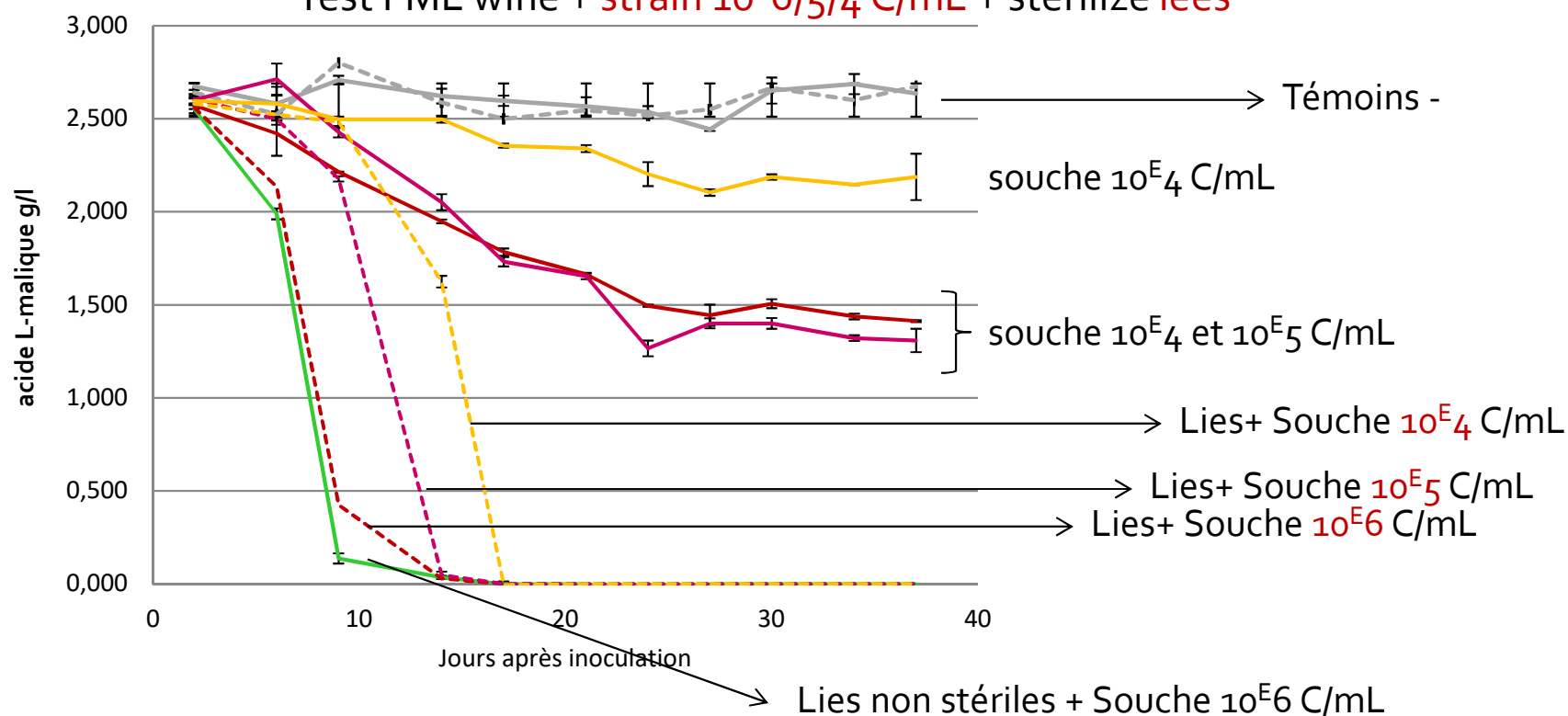


ACTION 2

Develop FML tank foot preparation and control protocols

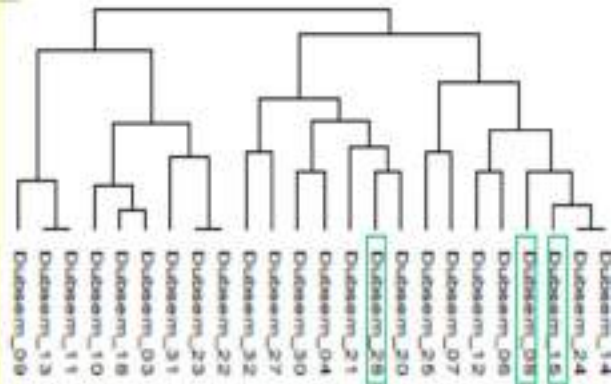
Relevance of FML's lees

Test FML wine + strain $10^{E6/5/4}$ C/mL + sterilize lees



100 X less inoculated strain achieves the FML so inoculated with lees
The ability to use the lees to make FML tank feet

Selection



SELECTION

STRAIN/CHATEAUX

Synthetic Must Preselection

- Fermentary Kinetics
- Chemical analysis

ISVV

Natural Must selection

- Fermentary Kinetics
- Chemical analysis
- H₂S test for yeasts
- Biogenic amines test for bacteria

IFV

Production of cream to test the strain
in vats at the IFV

Châteaux

Production of cream to test the strain
at the property



ACTION 3

Sélection de levures au Château

Diversité des levures du Château

	Strain 1	Strain 2	Strain 3
Domaine Du Bourdieu Semillon	28	08	15
Château Bellevue Sauvignon	25	29	15
Château Bellevue Merlot	15	37	33
Château des Costes Merlot	20	11	02
Château Richard Merlot	18	15	28

→ 3 strains tested by Châteaux



ACTION 3

Selection of yeast sat at the Château

Selection tests and results

FIRST SELECTIONS Red and White

Château Bellevue = **Be15**
Château Des Costes = **Cos2** } **Rouge**

No strain selected in White



ACTION 3

Selection of yeast sat at the Château

Selection tests and results

2: Second SELECTIONS ON White

Château Bellevue = **Bef1co6**

Domaine Du Bourdieu = **2DUBspc+5**

} **Blanc**



ACTION 3

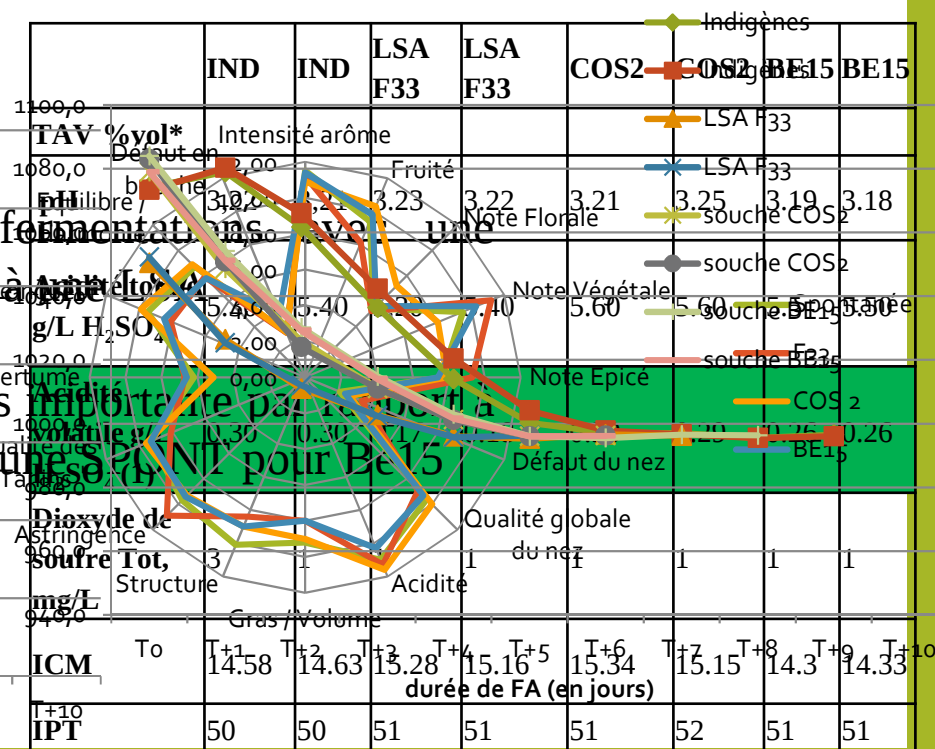
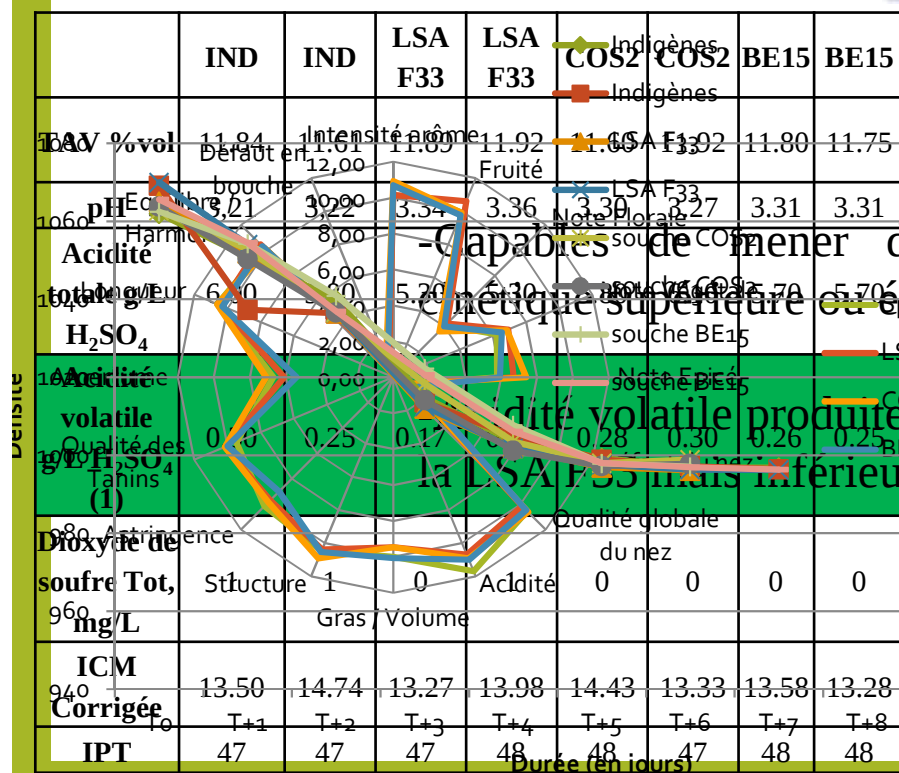
IFV trials with selected strains (microvinifications)

Souches Be15 et Cos2

Cabernet Sauvignon



Merlot





ACTION 3

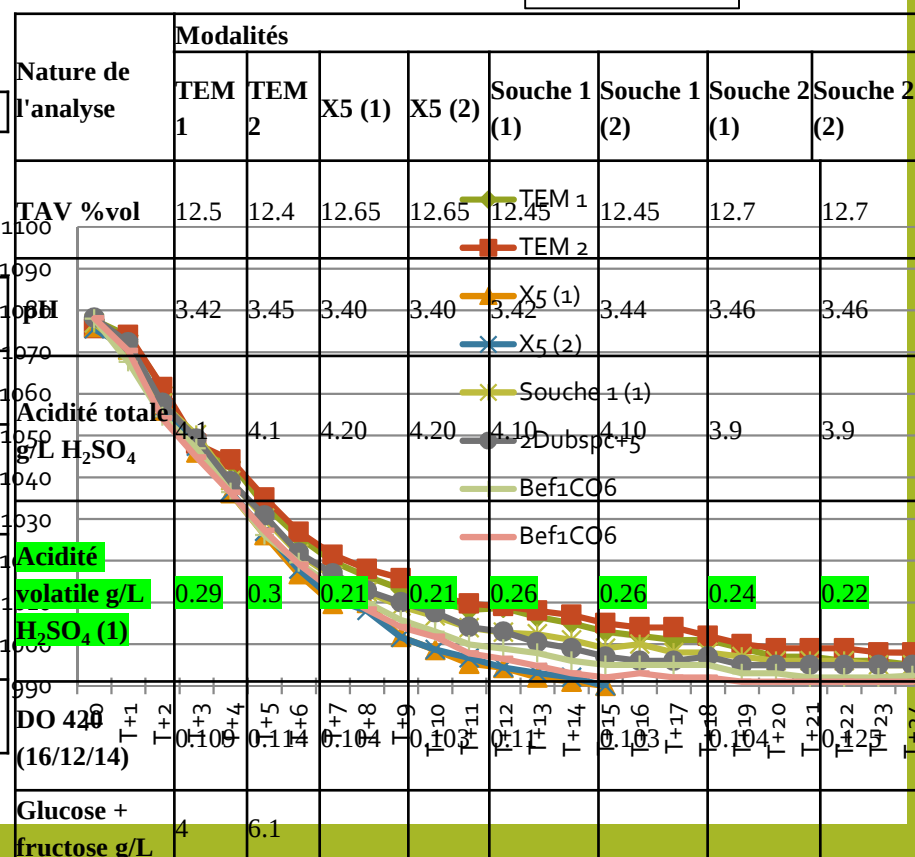
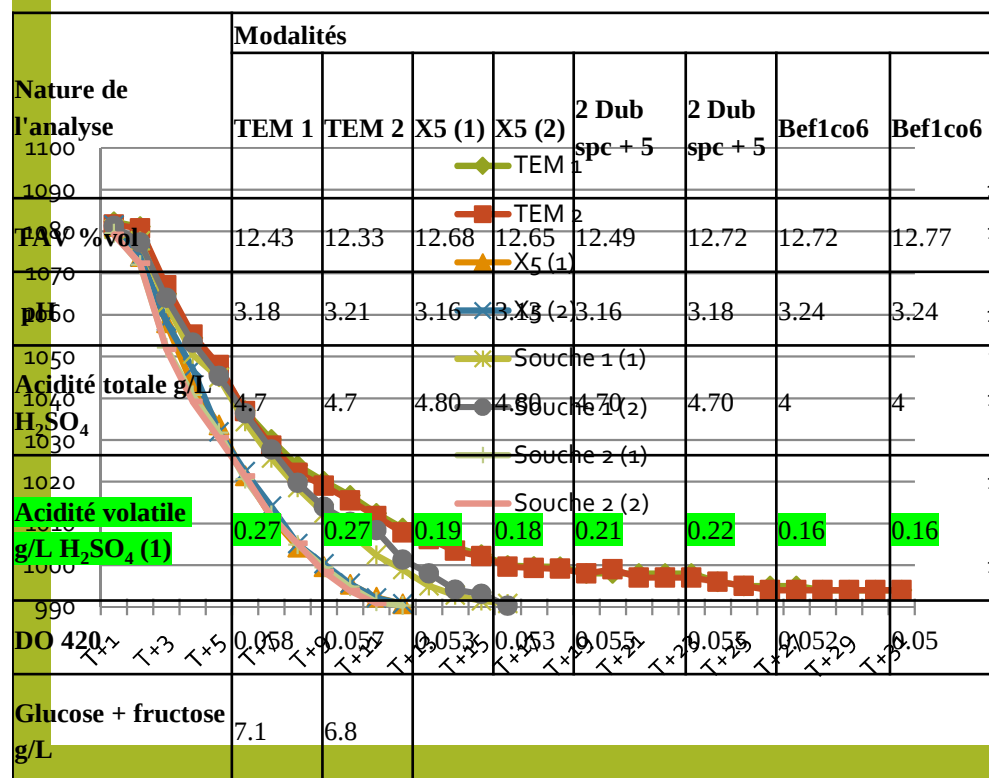
IFV trials with selected strains (microvinification)



Sauvignon blanc

Souches Bef1co6 et 2Dubspc+5

Sémillon





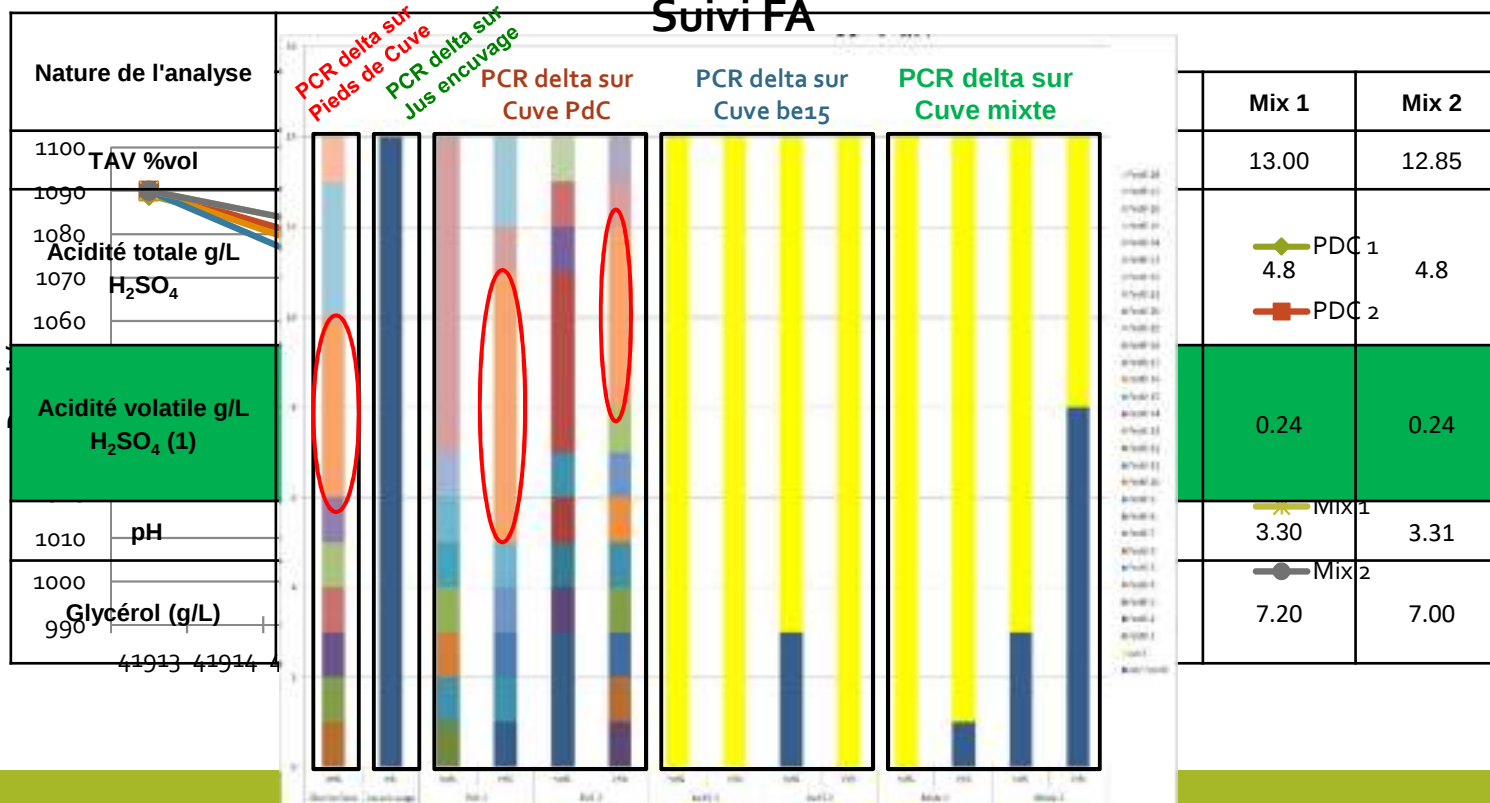
ACTION 3

Property trials with selected strains

Château Bellevue: Be15 selection



Suivi FA





ACTION 3

Selection of bacteria at the Castle

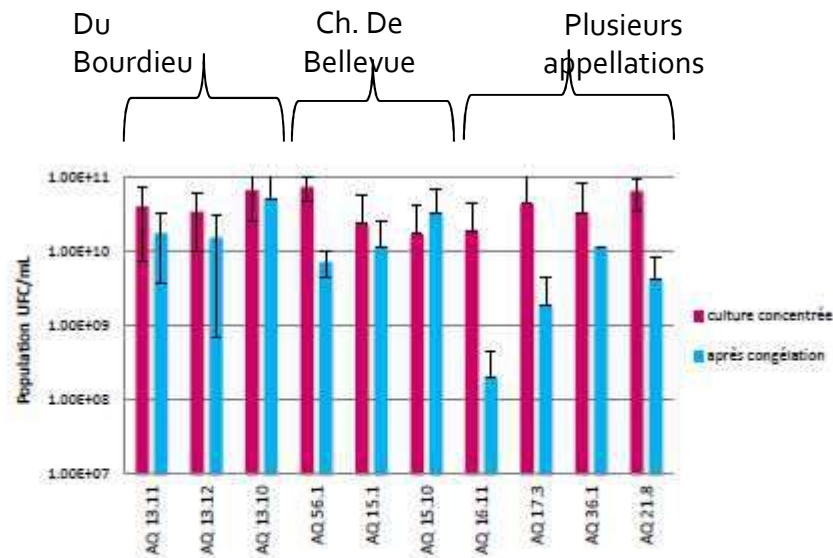


Figure 43. Mesure de la survie de 10 souches d'*O. oeni* à la congélation dans l'azote liquide.

Dix souches d'*O. oeni* ont été cultivées en milieu jus de raisin jusqu'en fin de phase exponentielle de croissance, puis concentrées par centrifugation et congelées sous forme de billes dans de l'azote liquide. Les populations de chaque souche ont été mesurées avant et après congélation. Les étalements et les dénombrements ont été réalisés en triplicata.

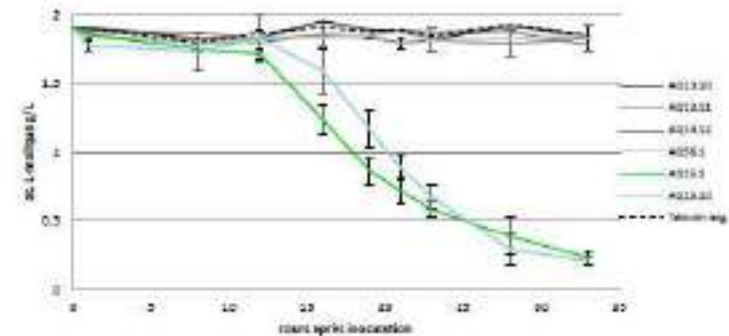


Figure 44. Cinétique de dégradation de l'acide malique des souches congelées dans l'azote liquide.

Six souches d'*O. oeni* préparées sous forme congelée ont été inocuées à 10^6 cellules/ml dans un vin rouge ajusté à pH 3,6 et 12% éthanol. La cinétique de dégradation de l'acide malique a été mesurée pendant 35 jours. Tous les essais ont été réalisés en duplicat et les dosages enzymatiques en triplicata.



Under the conditions of experimentation:

- PDC fermentation is faster and volatile acidity is lower than spontaneous fermentation
- Native fermentation is easier in red than white
- The PDCs used for alcoholic fermentation give better results in red just as the selection which, we have seen is more difficult in white
- The realization of malolactic fermentation with lees looks promising and research continues
- Production of LSA selected strains not possible AND cream production does not sow large volume
- Alternative might be the seeding of PDC by cream

Sélection de Levures Indigènes Processus et Etapes Clés



Principe et Intérêt

La sélection de levures indigènes consiste à isoler, dans un milieu de culture, les souches de levures qui sont les plus adaptées à la production de bière. Cependant, ce processus est complexe car il faut sélectionner des levures qui sont capables de fermenter les sucres présents dans le moût de bière.

Levure	Caractéristiques	Intérêt
Yeast	- Meilleure adaptation à la production de bière - Meilleure adaptation à la production de bière	- Meilleure adaptation à la production de bière
Yeast	- Meilleure adaptation à la production de bière - Meilleure adaptation à la production de bière	- Meilleure adaptation à la production de bière
Yeast	- Meilleure adaptation à la production de bière - Meilleure adaptation à la production de bière	- Meilleure adaptation à la production de bière
Yeast	- Meilleure adaptation à la production de bière - Meilleure adaptation à la production de bière	- Meilleure adaptation à la production de bière

Préliminaires

La sélection de levures indigènes est un processus complexe qui nécessite une série de préliminaires. Ces préliminaires sont :
- La sélection de levures indigènes : il s'agit de sélectionner des levures qui sont capables de fermenter les sucres présents dans le moût de bière.
- La sélection de levures indigènes : il s'agit de sélectionner des levures qui sont capables de fermenter les sucres présents dans le moût de bière.
- La sélection de levures indigènes : il s'agit de sélectionner des levures qui sont capables de fermenter les sucres présents dans le moût de bière.

Identification et Sélection

Algorithme de Sélection des Levures Indigènes

Algorithme de Sélection des Levures Indigènes :
1. Sélection de levures indigènes : il s'agit de sélectionner des levures qui sont capables de fermenter les sucres présents dans le moût de bière.
2. Sélection de levures indigènes : il s'agit de sélectionner des levures qui sont capables de fermenter les sucres présents dans le moût de bière.
3. Sélection de levures indigènes : il s'agit de sélectionner des levures qui sont capables de fermenter les sucres présents dans le moût de bière.

Données de Sélection des Levures Indigènes

Données de Sélection des Levures Indigènes :
- Les données de sélection des levures indigènes sont :
- Les données de sélection des levures indigènes sont :
- Les données de sélection des levures indigènes sont :

Annexe 1

Identification des Levures Indigènes

Levure	Caractéristiques	Intérêt
Yeast	- Meilleure adaptation à la production de bière - Meilleure adaptation à la production de bière	- Meilleure adaptation à la production de bière
Yeast	- Meilleure adaptation à la production de bière - Meilleure adaptation à la production de bière	- Meilleure adaptation à la production de bière
Yeast	- Meilleure adaptation à la production de bière - Meilleure adaptation à la production de bière	- Meilleure adaptation à la production de bière

Les données de sélection des levures indigènes sont :
- Les données de sélection des levures indigènes sont :
- Les données de sélection des levures indigènes sont :

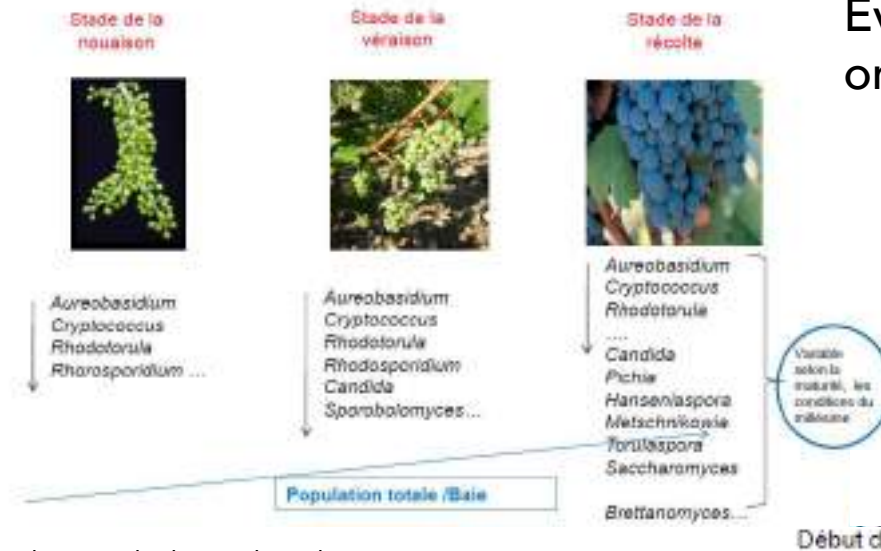
Les données de sélection des levures indigènes sont :
- Les données de sélection des levures indigènes sont :
- Les données de sélection des levures indigènes sont :

	Avantages	Inconvénients
LSA	-Facilité d'utilisation -Bonne conservation et stabilité -Maîtrise de la fermentation alcoolique	-Quantité minimale de production élevée -Temps de conservation en Bio limité 1an -Ajout d'un intrant exogène lors de la production
Crème ou Liquide	-Utilisation d'une levure déjà potentiellement présente dans le moût -Maîtrise du lancement et du déroulement de la fermentation alcoolique	-Coût élevé -Temps de conservation limité (environ 3semaines) -Temps de mise en œuvre plus long (utilisation d'un PDC pour diminution des coûts de production de la crème en gros volumes) -Production à renouveler chaque année



WILDWINE

Evolution fungal community on cluster



Evolution of yeast population during Alcoholic fermentation

There is little tool at the time to discriminate against strains of the same species:

Methods that are difficult to implement, not very reproducible

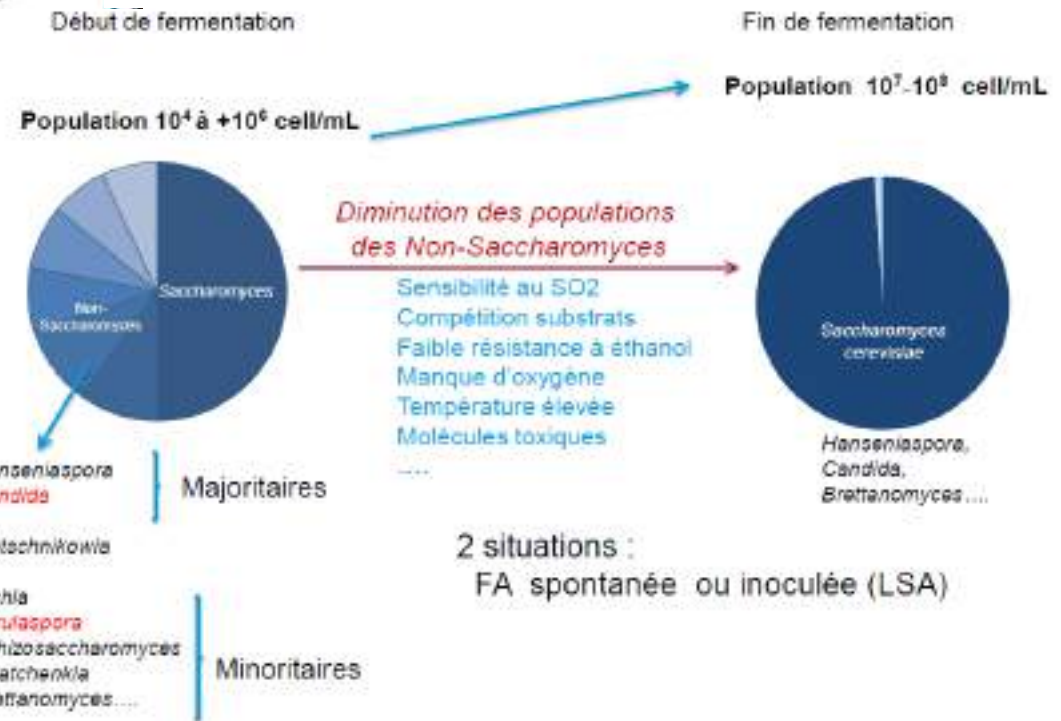
No methods available to analyze genetic relationships in NS

Development of molecular markers for NS: The example of *Torulaspora delbrueckii*

Genome sequence available (Gordon et al, 2009)

Development of 8 microsatellite markers on 6/8 chromosomes

Application to a collection of strains from around the world and various substrates



Introduction

Isolation and identification

Pre-selection of strains with enological potential

23 *S.cerevisiae* strains (+ 6 commercial strains)
+ 46 non-*Saccharomyces* strains

Performance of pre-selected strains in vivo

Pure cultures : 8 *S.cerevisiae* + industrial *S.cerevisiae* strains)

2 mixed cultures :

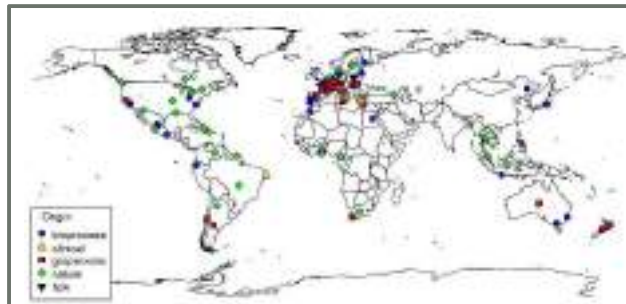
« **Natural culture** » : From the results of the qPCR analysis of 11 musts from Saint Emillion and 13 musts from Sauternes of 2013, we elaborated a yeasts mixture of 4 non-*Saccharomyces* and 1 *S.cerevisiae*

« **Technological culture** » : only the non-*Saccharomyces* species which have a technological interest (according to the type of wine)

Research: Biodiversity study

- Non-Saccharomyces Yeasts

- *Torulaspora delbrueckii*
- *Hanseniaspora uvarum*
- *Metschnikovia pulcherima*
- *Candida zemplinina* ...

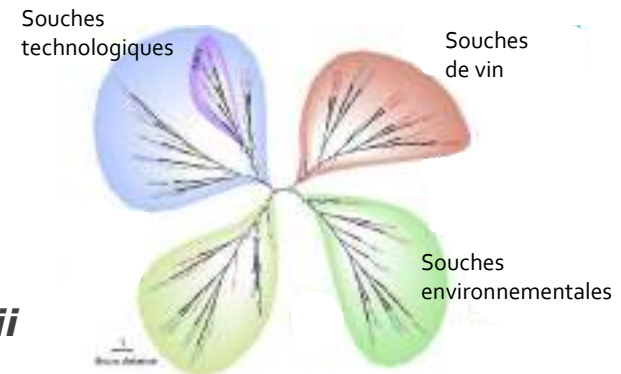


set of samples

- Depending on the species
- Global, regional, farms

Genetic diversity

T. delbrueckii

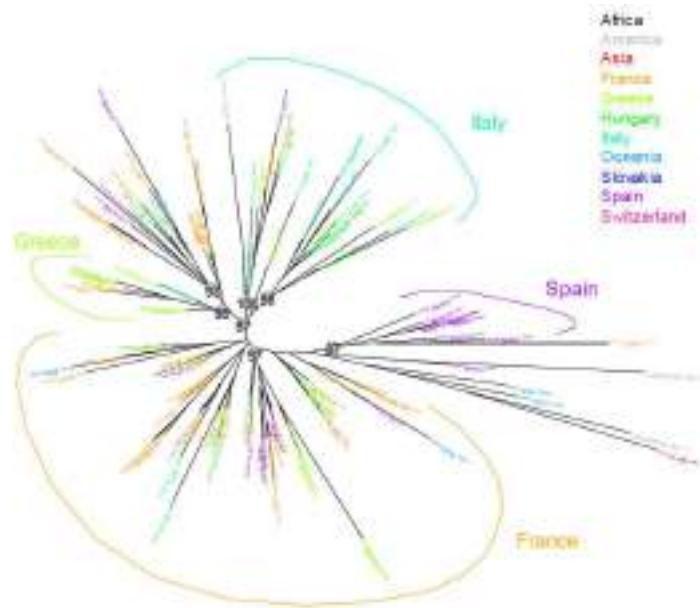


Grouping according to human activities
'Oenological' group - 1900years

Technology properties

- Fermentary performance below *S.cerevisiae* slow FA and incomplete
- T. delbrueckii*: No AV production, H₂S: interesting application for the production of sweet wines
- Organoleptic potential

Candida Zemlinina



⇒ Regroupement en fonction origine géographique peu marqué

- * No substrate grouping
- * Grouping by low geographical origin
- * No 'genetic' signature of the winery

Technology properties

- Fermentary performance below *S.cerevisiae* Slow FA and incomplete
- Production of unwanted metabolites (AV , H₂S....)
- Low ethanol/sugar yield
- Fructophilia
- No industrial application possible

Isolation and identification

306 *S.cerevisiae* (genotyping by microsatellite markers)

750 non-*Saccharomyces* isolates : 108 Non-*Saccharomyces* strains were identified by PCR – ITS-sequence analysis

Pre-selection of strains with enological potential

23 *S.cerevisiae* strains selected from microsatellite analysis

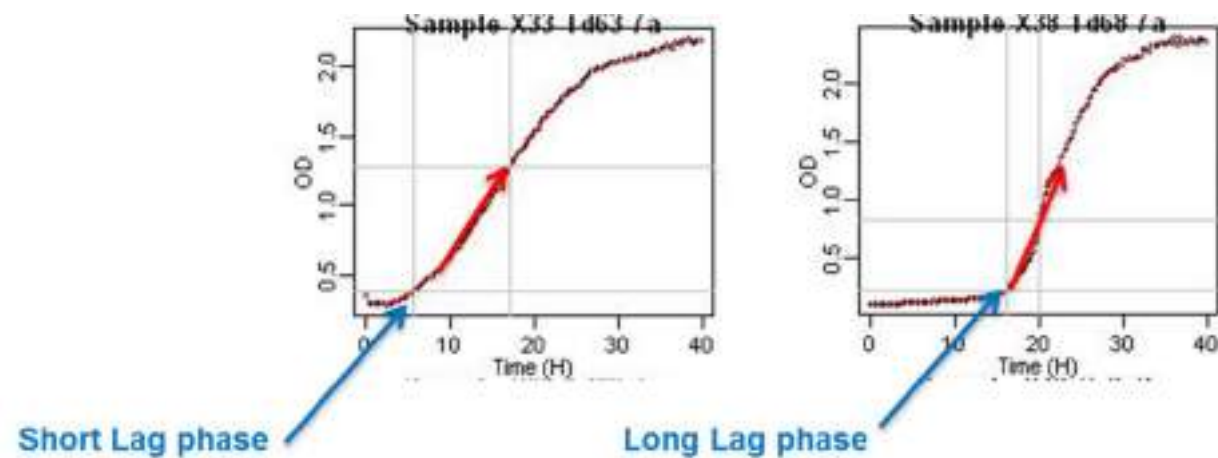
(+ 6 commercial strains)

46 non-*Saccharomyces*

Species	Saint-Emilion	Sauternes
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12	11
<i>Candida zemplinina</i>	4	5
<i>Hanseniaspora sp.</i>	5	5
<i>Metschnikowia sp.</i>	5	5
<i>Pichia kluyveri</i>	5	5
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	2	5

In Vitro tests :

- *Enzymatic tests : protease, esterase, pectinase, β -glycosidase,*
- *Killer activity,*
- *H₂S production*
- *Measurement of the time to start the growth (lag phase time) and growth rate*



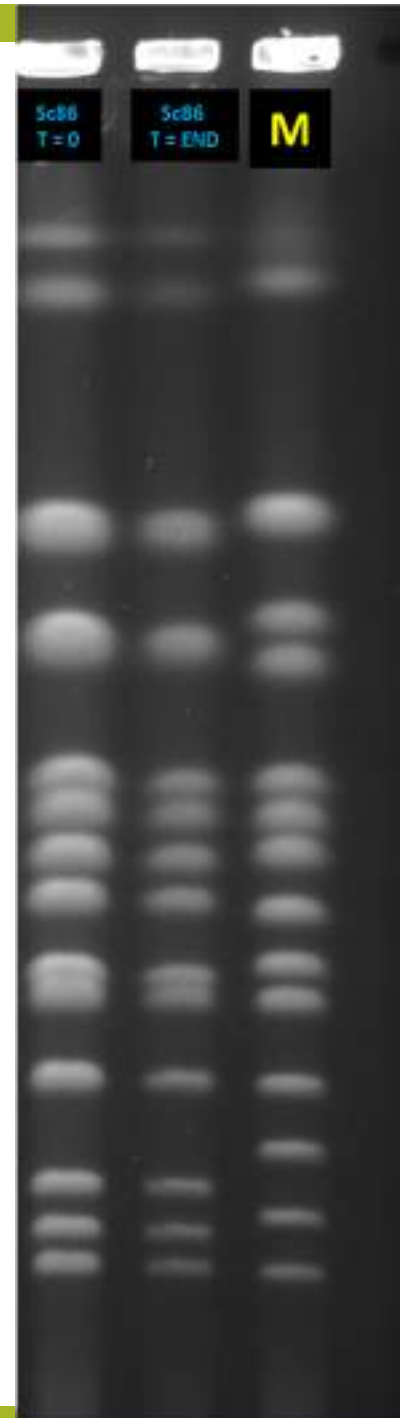
From these tests , selection :

8 *S.cerevisiae* from each regions (Saint –Emilion, Sauternes) and
10 Non-*Saccharomyces* (*H.uvarum*, *C.zemplinina*, *M. pulcherrima*,

T.delbrueckii)

Genetic stability : after 10 generations

- Pulsed field gel electrophoresis (PFGE), for *S.cerevisiae*
- For non-*Saccharomyces* : microsatellite analysis is in progress



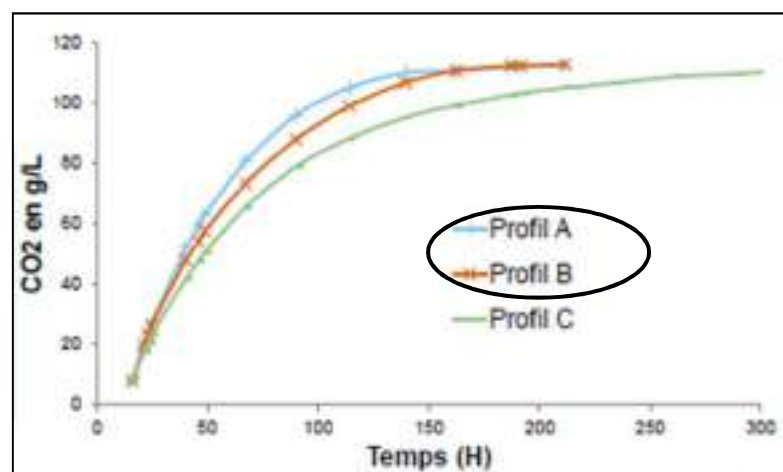
Performance of pre-selected strains in vivo

Development of starter cultures in micro-fermentations

- Evaluation during micro-fermentations 300 ml
(sterile Merlot or Semillion grape musts)



1- Pure cultures : 8 *S.cerevisiae* + industrial *S.cerevisiae* strains (1 or 2)



{ **AF Kinetics**
Classic wine analyses : Ethanol, residual sugars, volatile acidity, SO₂,...

Yeast Selection for *S.cerevisiae* :

- Kinetics : Profil A or B
- Low volatile acidity
- No residual sugars (red wines)
- Low SO₂ combined compounds (Sauternes wines)

2 - Sensory evaluation



- 1 *S.cerevisiae* BE15 for red Wine (Saint-Emilion)
- 2 *S.cerevisiae* (83 /43) for Sauternes Wine



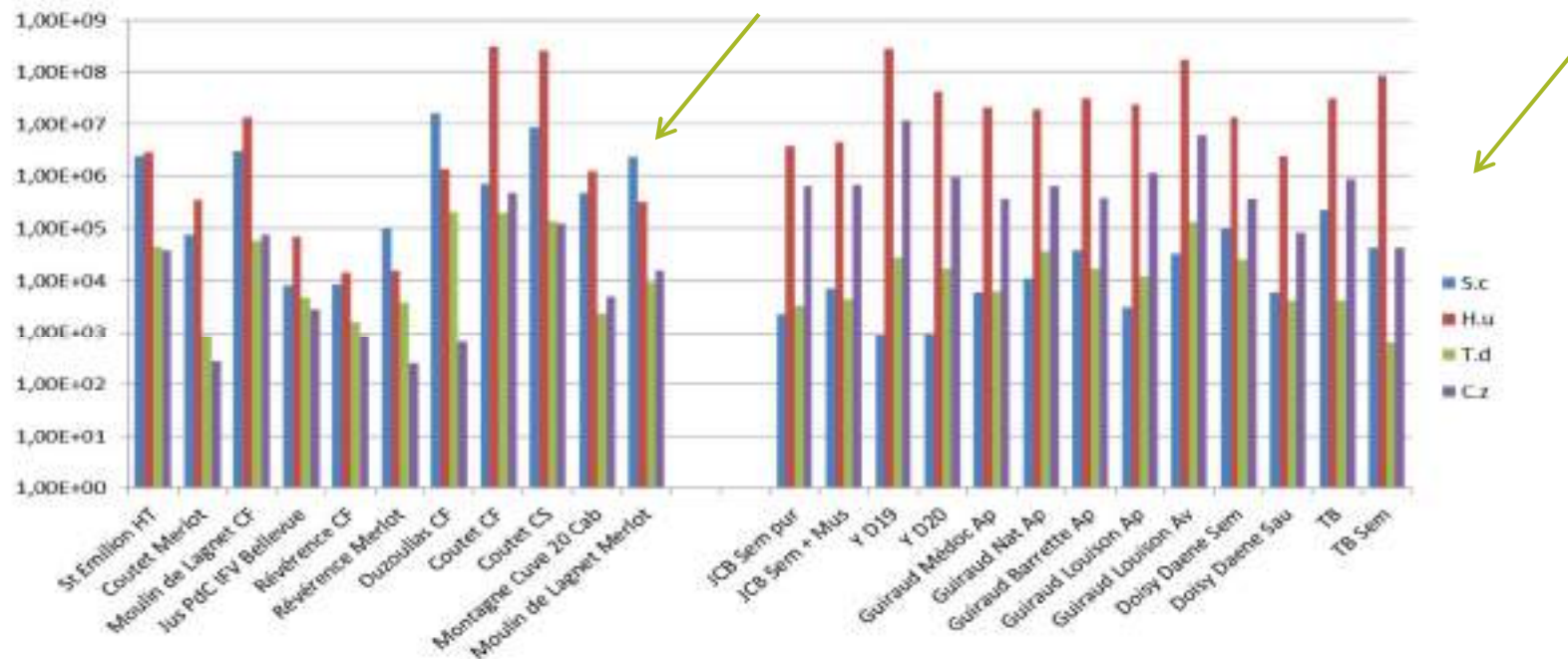
Performance of pre-selected strains in vivo



3 - 2 types of mixed cultures :

« Natural culture » :

Reconstruction of a yeasts mixture according to the results of the qPCR analysis.
2013 harvest : average of 11 musts from Saint Emillion and 13 musts from Sauternes



« Technological culture » : only the non-*Saccharomyces* species which have a technological interest (according to the type of wine)



Saint Emillion

Sauternes



« Natural culture »

S.cerevisiae

$5 \cdot 10^5$ cell/ml

$5 \cdot 10^5$ cell/ml

T=0

$3 \cdot 10^5$ cell/ml
 10^5 cell/ml

Hanseniaspora uvarum
Candida zemplinina

$2 \cdot 10^5$ cell/ml
 $2 \cdot 10^5$ cell/ml

T=0

10^4 cell/ml
 10^4 cell/ml

Metschnikovia pullcherima
Tylospora delbrueckii

10^4 cell/ml
 10^4 cell/ml

« Technological culture »

$5 \cdot 10^5$ cell/ml

S.cerevisiae

$5 \cdot 10^5$ cell/ml after 24 h

T=0

Same blend but without
H.uvarum and *C.zemplinina*

Non-Saccharomyces

only *T.delbrueckii*
at 10^7 cell/ml, t=0

« Pure culture »

$2 \cdot 10^6$ cell/ml

S.cerevisiae (Industrial and selected)

$2 \cdot 10^6$ cell/ml

- Evaluation (in triplicate) during **micro-fermentations**

(sterile Carbernet-Franc or Semillion grape musts)

Alcoholic fermentation kinetics

qPCR analysis (5 points t=0; 25%, 50% 75 and 100% of AF, in progress)

- Classic Wine analysis : residual sugars, Ethanol, Glycerol, SO₂, glycerol and volatile acidity (acetic acid)
- Aroma compounds (esters)
- Sensory evaluation

Development of starter cultures in micro- fermentations

Task 4.1 : Performance of pre-selected strains in vivo

July-August : Production of yeasts (creams)

3 *S.cerevisiae*,
2 *M.pulcherrima*
2 *T.delbruecki*

Task 4.2 : Performance of selected strains in situ (ISVV)

WP5 : Implementation of selected strains and blends as
starter cultures in pilot scale wine production



Harvest 2014

Saint Emillion

Sauternes

« Technological culture »

$T = 0$ 10^4 cell/ml 10^4 cell/ml $\left[\begin{array}{l} \text{Metschnikovia pulcherrima} \text{ -----} \\ \text{Torulaspora delbrueckii} \end{array} \right. \quad 10^7 \text{ cell/ml } T=0$

$T = 0$ $5 \cdot 10^5$ cell/ml *S.cerevisiae* $5 \cdot 10^5$ cell/ml $T=24H$

« Pure culture »

$2 \cdot 10^6$ cell/ml *Selected S.cerevisiae* $2 \cdot 10^6$ cell/ml
Industrial S.cerevisiae (F33 and ST)



Cabernet -Franc



Sémillon

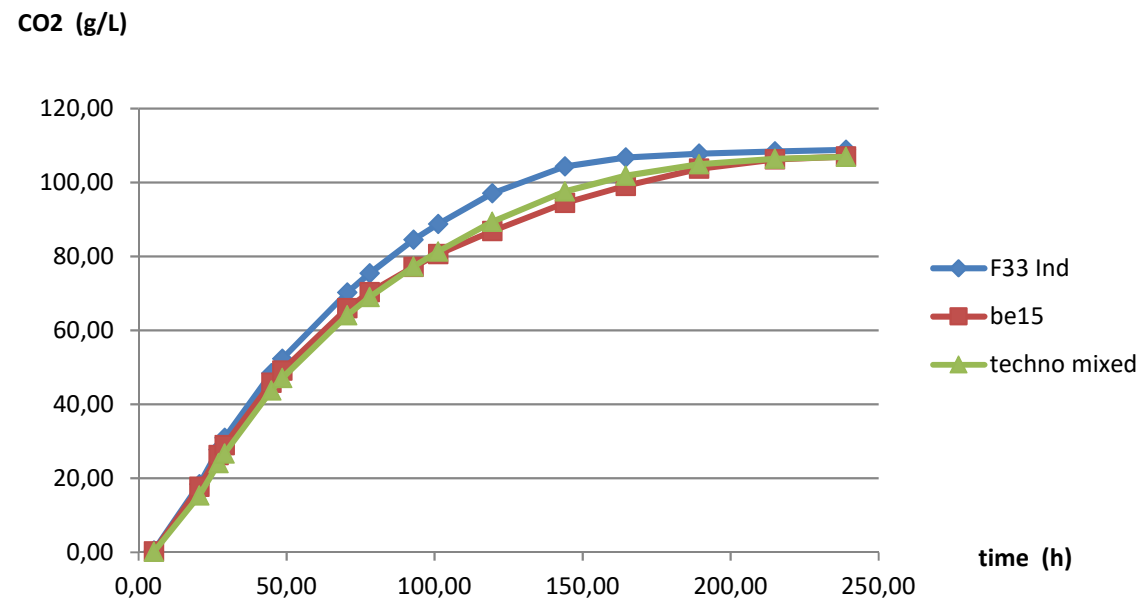
Cabernet- Franc



A.F Kinetic

Different behavior than in
sterile must

Better performance of F₃₃

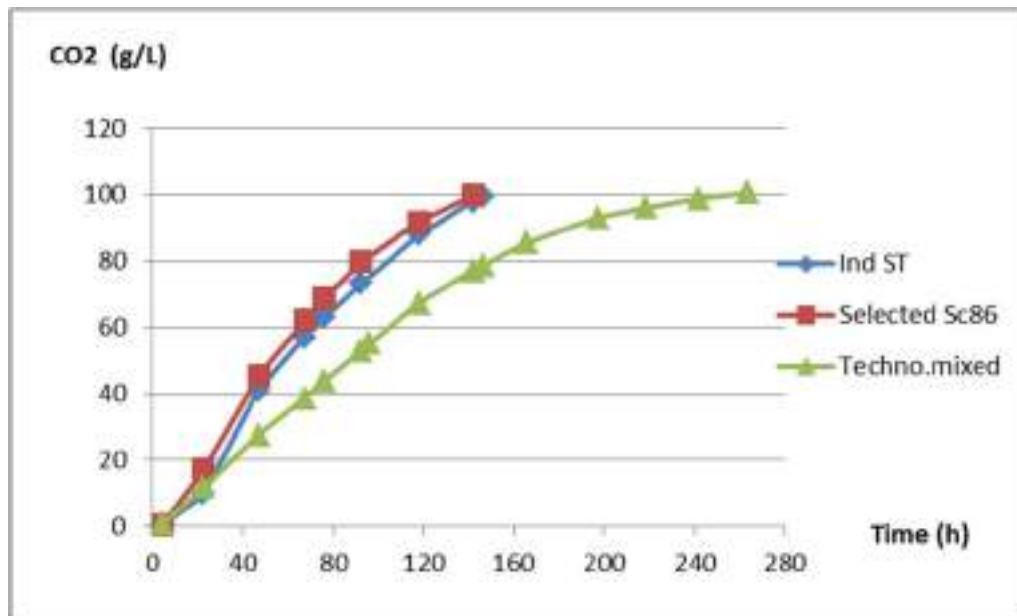


Classic Analysis of Wine :

No difference between the mixed culture and the 2 *S.cerevisiae* pure cultures

Esters analysis and qPCR analysis : in progress

Sensory evaluation : in January



Semillon



A.F Kinetic

Same behavior than in sterile must

A lower Alcoholic fermentation rate with *T. delbrueckii*

Classic Analysis of Wine :

No difference between the mixed culture and the 2 *S.cerevisiae* pure cultures

Except for **Volatile acidity** : Mixed = Selected Sc86 > Industrial *S.cerevisiae* ST
(A low producer of VA)

Esters analysis and qPCR analysis : in progress

Sensory evaluation : in January

Meeting WildWine

Saint Emillion

Sauternes

« Technological culture »

$T = 0$ 10^4 cell/ml 10^4 cell/ml $\left[\begin{array}{l} \text{Metschnikovia pulcherrima} \text{ -----} \\ \text{Torulaspora delbruekii} \end{array} \right. \quad 10^7 \text{ cell/ml } T=0$

$T = 0$ $5 \cdot 10^5$ cell/ml *S.cerevisiae* $5 \cdot 10^5$ cell/ml $T=24H$

« Pure culture »

$2 \cdot 10^6$ cell/ml *Selected S.cerevisiae* $2 \cdot 10^6$ cell/ml
Industrial S.cerevisiae



Cabernet -Franc

19 décembre 2014

Semillon
And
Sauvignon



Meeting WildWine

78



WP 4.1 Performance of pre-selected strains in vivo



Saint Emillion

Sauternes

« Natural culture »

T=0	5.10 ⁵ cell/ml	<i>S.cerevisiae</i>	5.10 ⁵ cell/ml	T=0
	3.10 ⁵ cell/ml	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	2.10 ⁵ cell/ml	
	10 ⁵ cell/ml	<i>Candida zemplinina</i>	2.10 ⁵ cell/ml	
	10 ⁴ cell/ml	<i>Metschnikovia pullcherima</i>	10 ⁴ cell/ml	
	10 ⁴ cell/ml	<i>Torulaspora delbrueckii</i>	10 ⁴ cell/ml	

« Technological culture »

T=0	5.10 ⁵ cell/ml	<i>S.cerevisiae</i>	5.10 ⁵ cell/ml after 24 h
	Same blend but without <i>H.uvarum</i> and <i>C.zemplinina</i>	Non-Saccharomyces only <i>T.delbrueckii</i> at 10 ⁷ cell/ml, <u>t=0</u>	

« Pure culture »

2.10 ⁶ cell/ml	<i>S.cerevisiae</i> (Industrial and selected)	2.10 ⁶ cell/ml
---------------------------	---	---------------------------

Task 4.1 : Performance of pre-selected strains in vivo

- Alcoholic fermentation kinetics
- Classic Wine analysis : residual sugars, Ethanol, Glycerol, SO₂, glycerol and volatile acidity (acetic acid)
- Sensory evaluation

Selection of the technological culture for WP 4.2 in situ and WP5

Task 4.2 : Performance of pre-selected strains in situ

«Technological culture»

5.10⁵ cell/ml **Selected *S.cerevisiae* (Be15, 86 et 43)** 5.10⁵ cell/ml after 24 h

$T=0$

Metschnikovia pullcherima **Non-Saccharomyces** only *T.delbrueckii*
Torulaspora delbrueckii at 10^7 cell/ml, t=0

« Pure culture»

2.10⁶ cell/ml *S.cerevisiae* (F33, Be15) 2.10⁶ cell/ml *S.cerevisiae* (ST, 86 + 43)

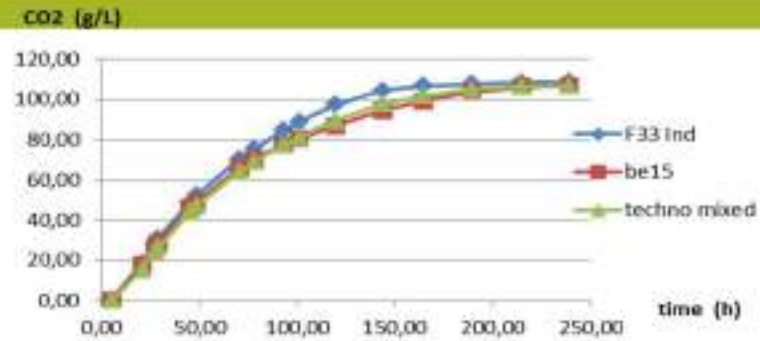


Cabernet -Franc



Sémillon

- **A.F Kinetic**
Better performance of Sc F33
- **Classic Analysis of Wine :**
No difference



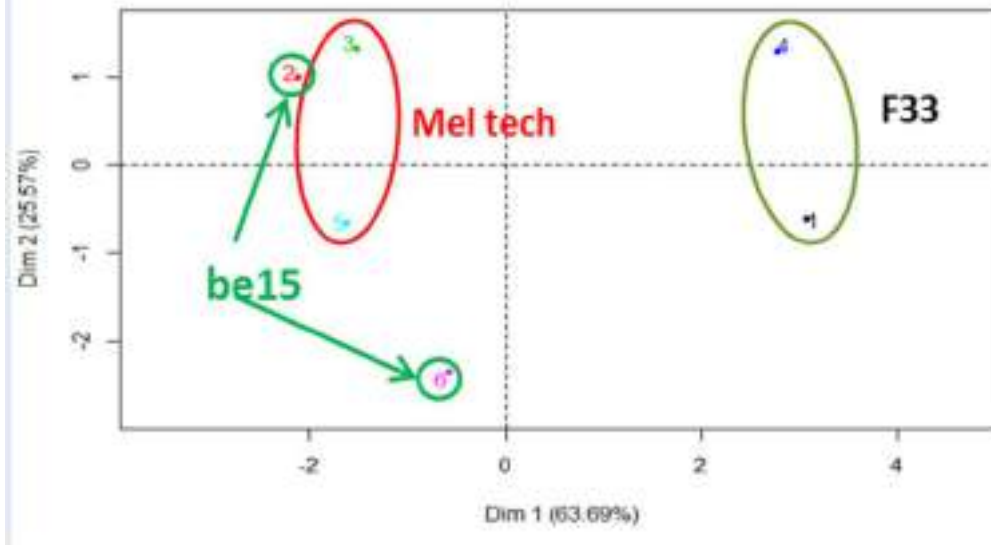
Cabernet- Franc

- **Sensory evaluation** F33 wine was evaluated to be different from the other 2 wines (very similar)
- **Esters analysis (6 main esters)**



2-Phenylethyl alcohol	Wilted rose	
Isoamyl acetate	Fruity-English candy	
Phenylethyl acetate	Floral	
Ethyl decanoate	Floral-Soap	
Ethyl hexanoate	Fruity	
Ethyl octanoate	Floral-Soap	
Ethyl butanoate	Pineapple-Fruity	

- We performed a PCA and a kruskal-Wallis test

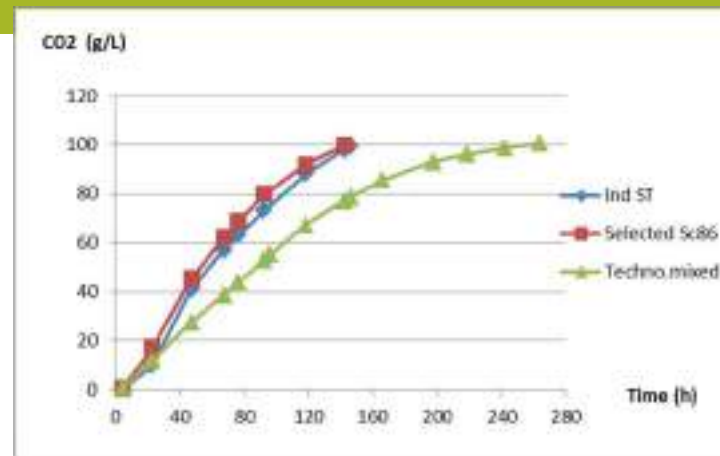


- PCA shows that the industrial wine (F33) differs from the 2 other wines ,as we reported in the sensory evaluation
- KW test : higher concentration of 2 phenyl ethanol and 2 phenyl-ethyl acetate in F33 wine compared to Be15 wine

Test de Kruskal-Wallis							
	2-phényléthanol	Acétate d'isoamyle	Acétate de 2-phényléthyl	Décanoate déthyle	Hexanoate déthyle	Octanoate déthyle	Butanoate déthyle
F33 vs be15	>	NS	>	NS	NS	NS	NS
F33 vs mel tech	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
be15 vs mel tech	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

- **A.F Kinetic**

A lower Alcoholic fermentation rate with *T. delbrueckii*



Semillon

- **Classic Analysis of Wine :**

No difference between the mixed culture and the 2 *S.cerevisiae* pure cultures, except for volatile acidity :

Mixed = Selected Sc86 > Industrial *S.cerevisiae* ST

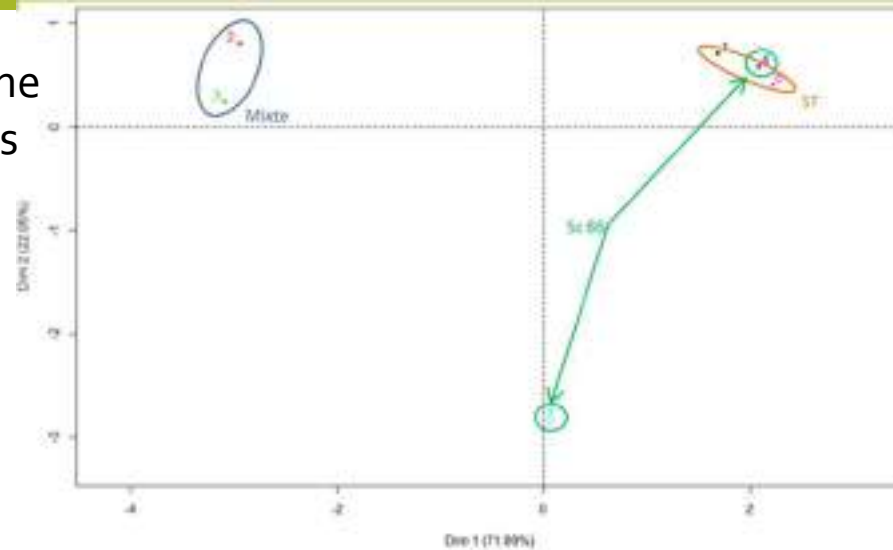
- **Sensory evaluation**

Mixed cultures were evaluated to be significantly different from 2 *S.cerevisiae*'s wine. ST wine was evaluated to be different from the Sc 86 wine



- **Esters analysis**

- PCA shows that the mixed wine is different than the 2 Sc wines



- KW test : in mixte culture wine
 - higher concentration of isoamyl and 2 phenyl-ethyl acetate compared to ST wine;
 - also a higher concentration of 2 phenyl ethanol compared to Sc 86 wine

Test de Kruskal-Wallis

	2-phényléthanol	Acétate d'isoamyle	Acétate de 2-phényléthyl	Décanoate déthyle	Hexanoate déthyle	Octanoate déthyle	Butanoate déthyle
ST vs Sc 86	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ST vs mel tech	NS	<	<	NS	NS	NS	NS
Sc 86 vs mel tech	<	NS	NS	NS	NS	NS	NS



Production de levures (crêmes)

3 *S.cerevisiae* (1 Bellevue 2 Guiraud)
 2 *M.pulcherrima* (Bellevue and Guiraud)
 2 *T.delbruecki* (Bellevue and Guiraud)

Essais

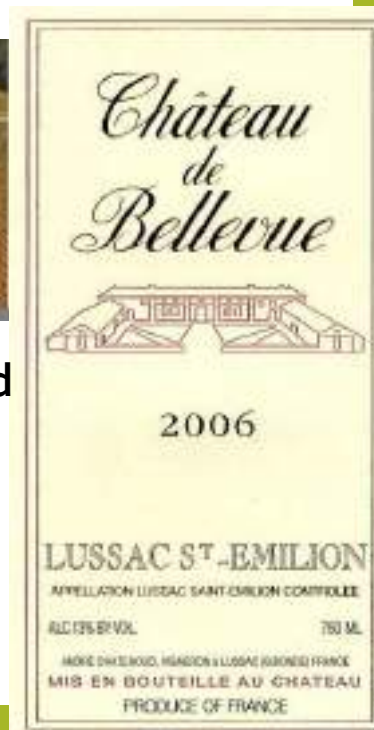
Stephane Becquet (SVBA), Emmanuel Vinsonneau (IFV), Quentin Robert (IFV)



**Mr Xavier
Planty**



Mr André Chatenoud



	A l'IFV		En propriété	
	Les différentes modalités			
Château Bellevue	Sc F33 Sc Be15 Sc Be15 + <i>Torulaspora delbrueckii</i> / <i>Metschnikowia pulcherrima</i>		« pied de cuve » /Spontaneous Fermentation Sc Be15 SC Be15 + <i>Torulaspora delbrueckii</i> / <i>Metschnikowia pulcherrima</i>	
Château Guiraud	Sc ST Sc ST + Td « Alpha » Sc 86 Sc 86 + Td 63		Fermentation spontanée Sc ST Sc43 Sc86	ST Sc ST+ Td Alpha Sc86 Sc86 + Td 63

SAINT-EMILLION

Château Bellevue

Terms:

Spontaneous fermentation with « Pied De Cuve" x 2

S.cerevisiae selected Be 15 x2

S.cerevisiae selected Be 15 - *Torulaspora delbrueckii*/ *Metschnikowia pulcherrima* selected x2



Merlot

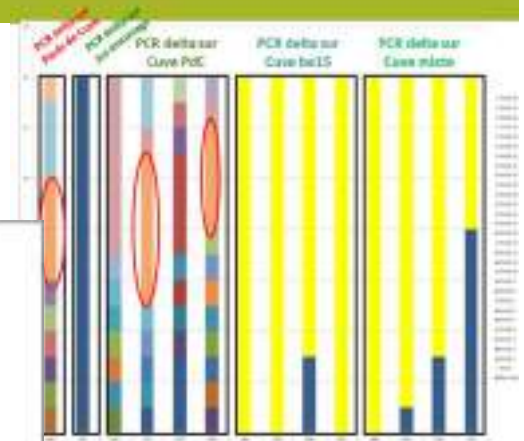
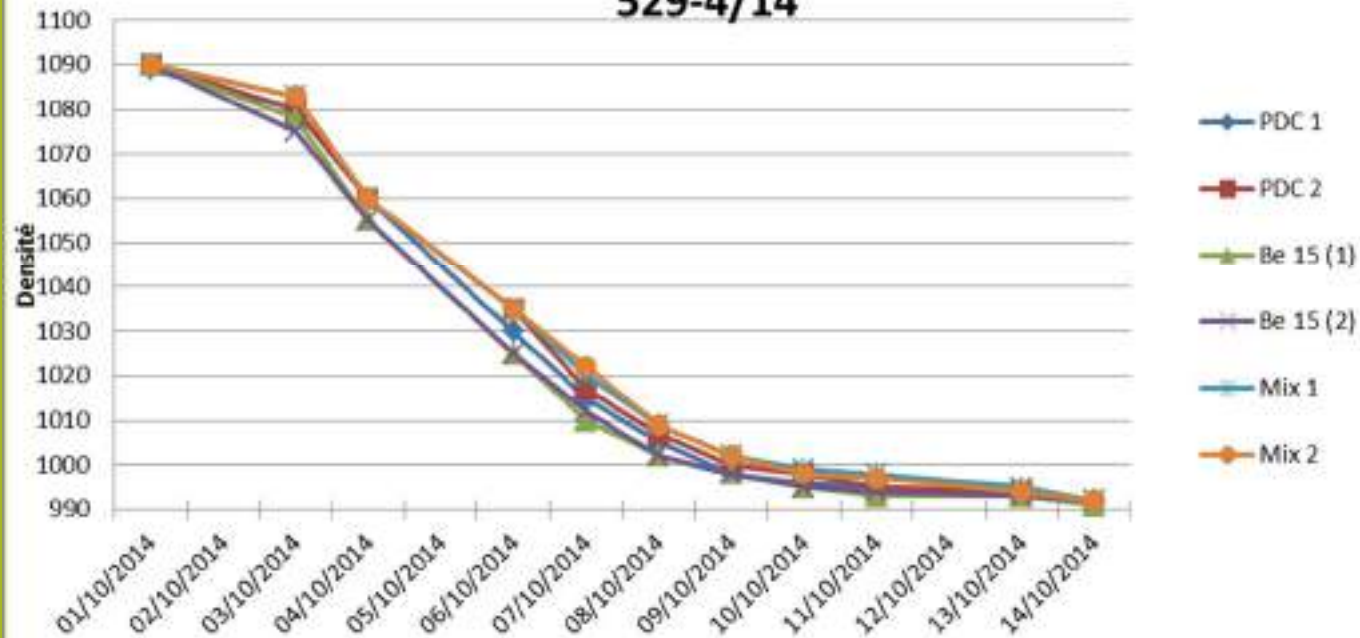
- Harvest by hand
- Vinification 2 hl vat
- Temperature control (20-22 degrees Celsius to D-1000 and then 25 degrees Celsius).



Nature de l'analyse	Modalités					
	PDC 1	PDC 2	Be 15 (1)	Be 15 (2)	Mix 1	Mix 2
TAV %vol	13	12.95	12.80	12.95	13.00	12.85
Acidité totale g/L H_2SO_4	4.2	4.2	4.8	4.8	4.8	4.8
Acidité volatile g/L H_2SO_4 (1)	0.27	0.26	0.24	0.23	0.24	0.24
pH	3.37	3.38	3.29	3.31	3.30	3.31
Glycérol (g/L)	7.8	7.60	7.20	7.40	7.20	7.00

Château Bellevue

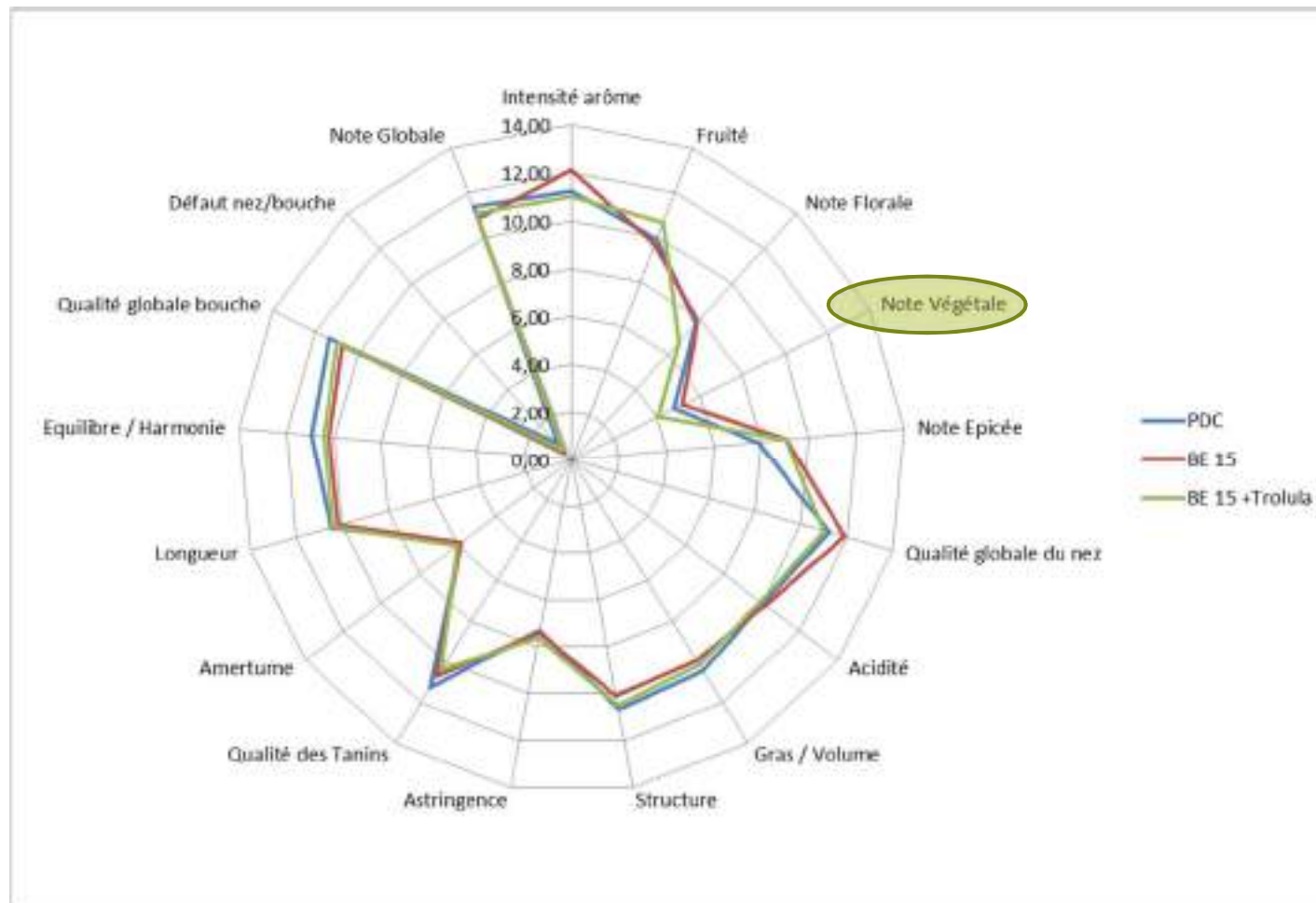
Suivi densité Essai Levain Bio Pôle Bordeaux Aquitaine - 2014 529-4/14



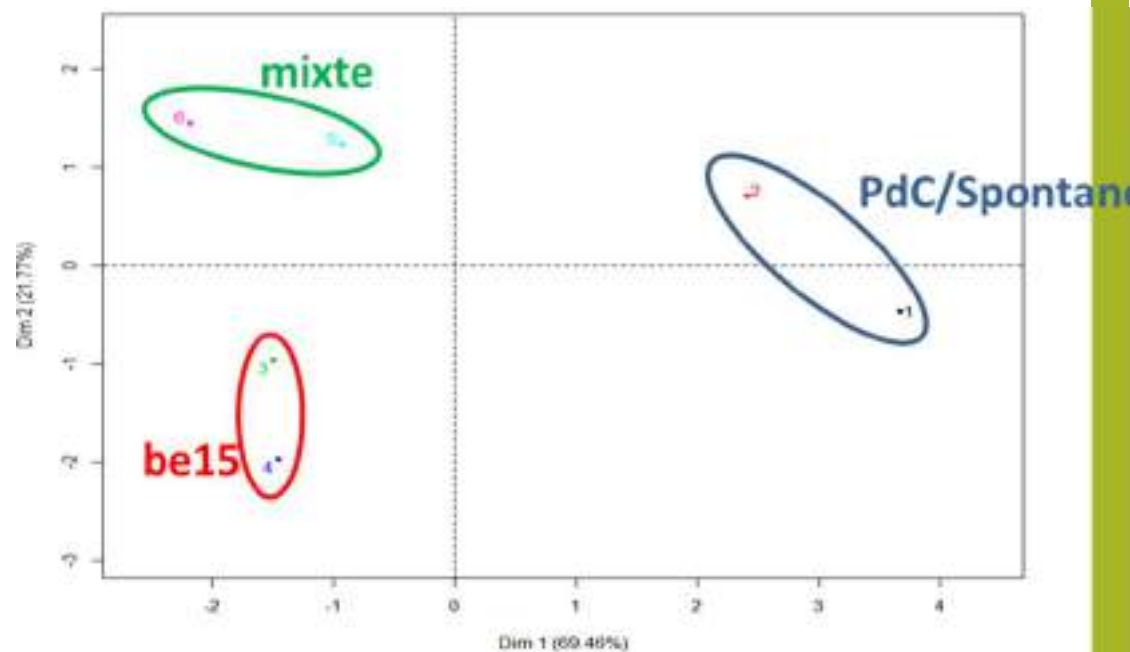
Implementation of
Positive *S. cerevisiae*

Tasting: IFV (professional tasters)

	PDC	BE 15	BE 15 +Trolula
Vegetal Aromas	4,78	5,17	4,06



- Esters analysis



Test de Kruskal-Wallis

	2-phényléthanol	Acétate d'isoamyle	Acétate de 2-phényléthyl	Décanoate déthyle	Hexanoate déthyle	Octanoate déthyle	Butanoate déthyle
PdC vs be15	>	>	>	NS	NS	NS	NS
PdC vs mixte	>	NS	>	NS	<	NS	NS
Be15 vs mixte	NS	<	NS	NS	NS	NS	NS

Château Bellevue 2014 : vinification IFV (mout identique)

Terms (35 l):

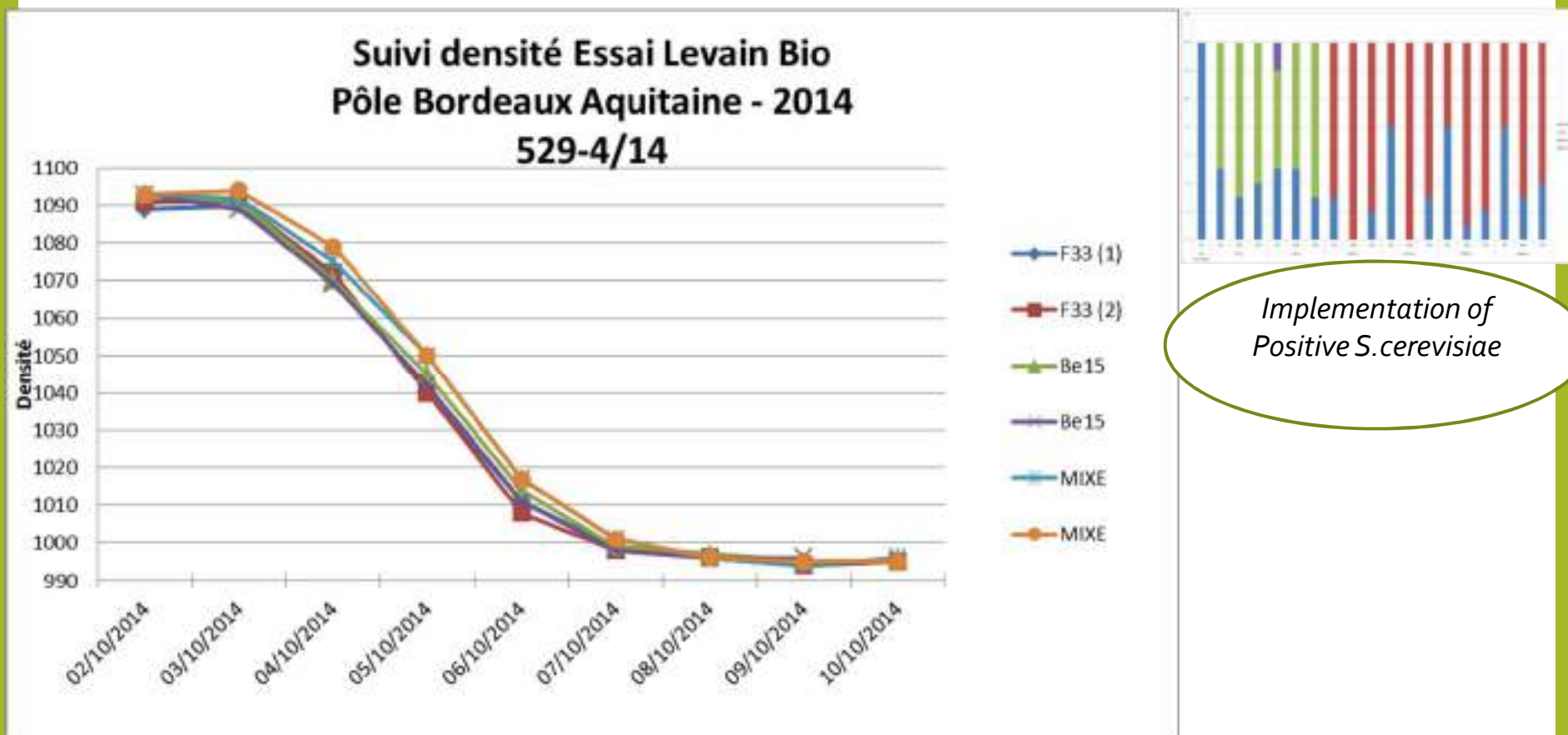
F33 x 2 (in place of the PDC)

S.cerevisiae selected Be 15 x 2

S.cerevisiae selected Be 15 - Torulaspora delbrueckii/ Metschnikowia pulcherrima selected x 2



Merlot

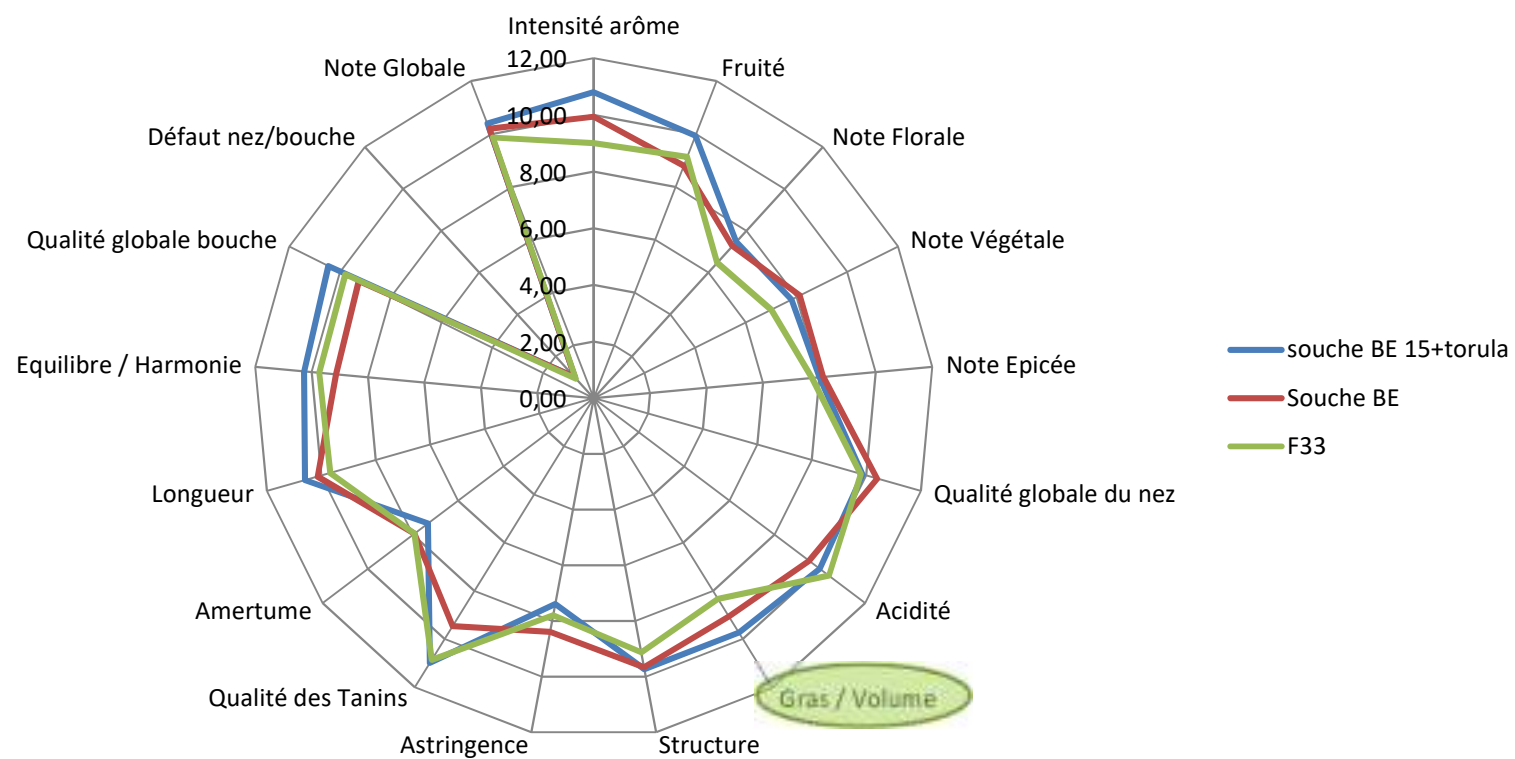


2014: Tests conducted at the IFV:

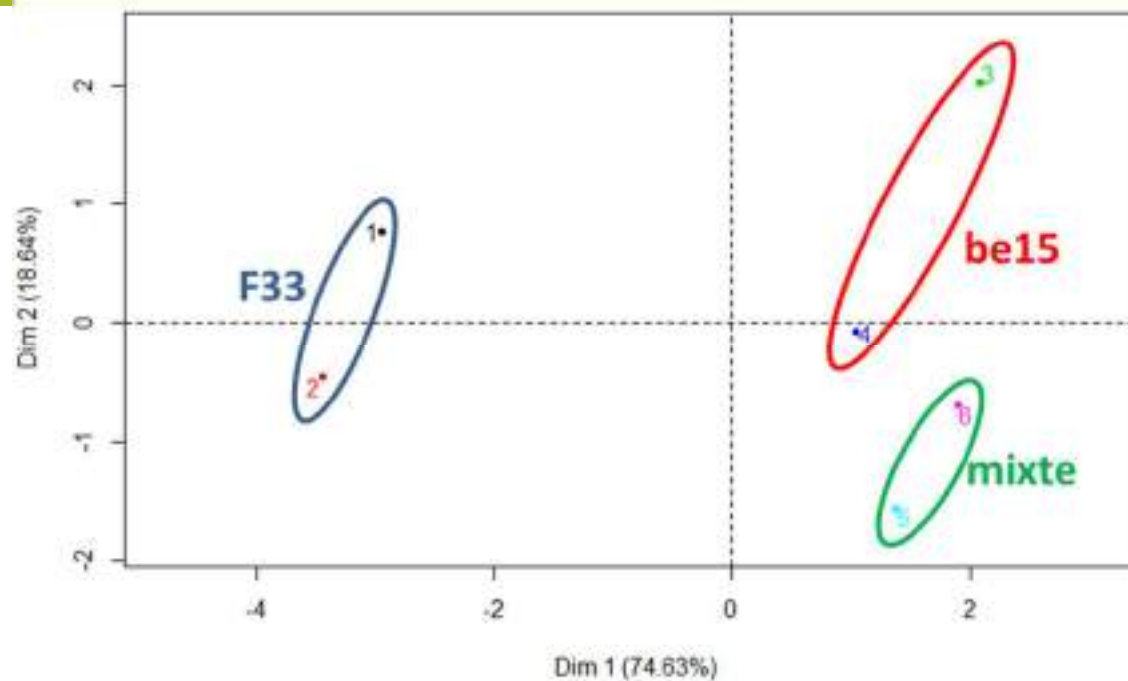
Nature de l'analyse	Modalités					
	F33 (1)	F33 (2)	Be15	Be15	MIXE	MIXE
TAV %vol	12.35	12.45	12.60	12.60	12.65	12.65
Acidité totale g/L H ₂ SO ₄	4	4	4.00	4.00	4.00	4.00
Acidité volatile g/L H ₂ SO ₄ (1)	0.17	0.22	0.26	0.30	0.26	0.26
pH	3.42	3.43	3.45	3.43	3.43	3.42
Dioxyde de soufre Tot, mg/L	51	42	47	42	53	56
Intensité col. Modf Corrigée	11.74	12.24	12.04	11.90	12.83	12.23
Anthocyanes mg/L	408	405	405	386	429	414
Indices Polyphénols totaux	54	53	56	55	57	56
Teinte	0.47	0.49	0.48	0.5	0.47	0.47
DO 420 sous 1 cm	3.47	3.69	3.60	3.61	3.76	3.60
DO 520 sous 1 cm	7.31	7.48	7.43	7.27	8.03	7.63
DO 620 sous 1 cm	0.97	0.07	1.00	1.02	1.05	1.00

Tasting: IFV (professional tasters)

Moyennes	souche BE 15 + torula/metsch	Souche BE 15	F33
Roudness/Volume	9,73	9,07	8,33



- Esters analysis
-



Test de Kruskal-Wallis							
	2-phényléthanol	Acétate d'isoamyle	Acétate de 2-phényléthyl	Décanoate d'éthyle	Hexanoate d'éthyle	Octanoate d'éthyle	Butanoate d'éthyle
F33 vs be15	>	NS	>	NS	<	<	NS
F33 vs mixte	>	<	>	NS	<	<	<
Be15 vs mixte	<	<	NS	NS	NS	NS	NS

BACTERIA

Château BELLEVUE

Bacteries selectionnées

2 souches *O. oeni* "specifique du Chateau Bellevue

-AQ15.1

-AQ15.10

Une souche *O. oeni* "specific" d'Aquitaine (isolé dans plusieurs chai d'aquitaine)

-AQ.16.1

IFV

8 Cuves (30 l) :

2 spontanées MLF

2 souches « specific » du Château Bellevue

2 souches « specific » du Chateau Bellevue + lies

2 souches « specific » du Chateau Bellevue + 1 souche

« specific » d'Aquitaine

Château Bellevue

4 Barriques (2,5 hl) :

2 spontanées MLF x 2

2 souches « specific » du Château Bellevue

2 souches « specific » du Chateau Bellevue + 1 souche

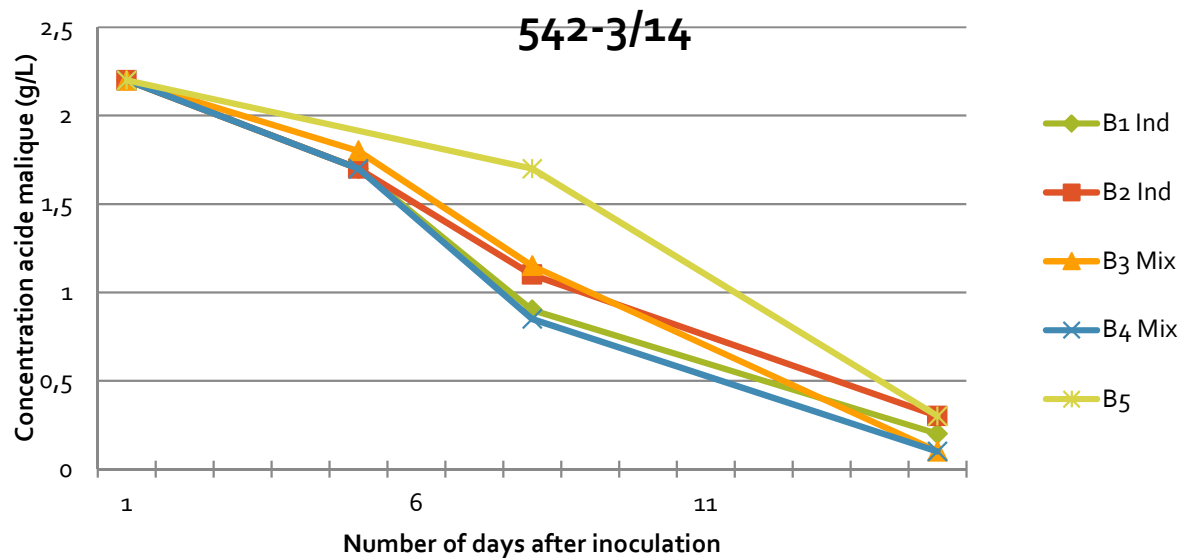
« specific » d'Aquitaine

Analysis	B1 Ind	B2 Ind	B3 Mix 1	B4 Mix 2
Date	19/12/2014	19/12/2014	19/12/2014	19/12/2014
Alcohol (%vol)	12.96	12.97	12.96	12.98
Total acidity (g/L H ₂ SO ₄)	3.7	3.7	3.7	3.7
Volatile acidity (g/L H ₂ SO ₄)	0.36	0.37	0.35	0.35
pH	3.47	0.46	3.48	3.46
Color Intensity Modif Corrected	10.92	11.08	10.79	10.87
Total Polyphenols Index	56	56	56	56
Tint	0.54	0.55	0.54	0.55
OD 420 (1 cm)	3.51	3.57	3.46	3.5
OD 520 (1 cm)	6.445	6.528	6.387	6.42
OD 620 (1 cm)	0.965	0.985	0.943	0.953

Château Bellevue

Malic acid evolution- WildWine Bellevue- 2014

B1 FML spontanée
B2 FML spontanées
B3 Mix 1: 2 souches /Château Bellevue
B4 Mix 2: 3 souches/ Chateau Bellevue +
Aquitaine



			2012/2013		2013			
			Profils					
Barrique		pop BL C/mL	1	2	3	4	5	6
B1	48 h	2.30E+05	8	8				
	75% FML	1.00E+07	16	6	1	1		
B2	48 h	6.00E+04	6	7		1		
	75% FML	1.50E+07	10	12			1	
B3	48 h	3.30E+05	9	5				1
	75% FML	1.30E+07	13	9	1			
B4	48 h	2.40E+06	5	8				1
	75% FML	2.40E+07	10	9				

- Aucune souche ne correspondent à celles inoculées
- Souches 1/2/3/4/6 déjà identifiée en année N-1

Château Bellevue : vinification IFV

	pop BL C/mL	1	2	4	5	6	7	8	10	12	13	14	15	19	23	25	27	28	29	31
Mix 1.1	3.10E+06	2	9				1								1				1	5
Mix 1.2	2.60E+06	2		1	1	1									1		2	1		3 8
Mix 1+lies 1	1.10E+07					3		1	1	1	3	1		1	4					8
Mix 1+lies 2	4.60E+06					1			1	1	1	1	1		1	3		4		9

		3	6	9	10	11	13	14	16	17	18	21	23	28	30
Mix 2.1	9.00E+06	1	4		2		3			1	1		1		1 8
Mix 2.2	1.20E+07		3	1	1	1	2	2	1	1		1	1	1	11

		10	11	13	16	19	20	22	23	24	26	28	30
Temoin 1	1.10E+07	3		1		1	1	2	1		1	2	4 9
Temoin 2	7.50E+06	2	1	4	1			1	5	1			7

Aucune souche ne correspondent à celles inoculées

Sauf AQ15.10 identified in some MLF

½ des bacteries déjà identifiées l'année précédente, ½ nouvelles

TASTING AT MILLÉSIME BIO





Aquitaine

H O F O

Votre âge :

Blanc Sémillon

Modalités	Echelle de plaisir	Descripteurs (2/3 mots)
035	  	
036	  	

Un questionnaire hédonique facile

Château Bellevue Rouge

Age	Sexe	Don	Notes	descripteur
1	25 H	CBR1	2	agré
2	25 F	CBR1	3	bon
3	40 H	CBR1	3	
4	46 H	CBR1	2	
5	42 H	CBR1	1.5	
6	28 H	CBR1	4	
7	27 H	CBR1	3	
8	27 H	CBR1	3	oxydatif fruité léger
9	24 F	CBR1	0.5	
10	22 H	CBR1	3	astringent
11	50 H	CBR1	5.5	
12	37 H	CBR1	1.5	
13	64 H	CBR1	2.5	
14	60 F	CBR1	4.5	
15	42 H	CBR1	4	
16	31 F	CBR1	3.5	fruité léger
17	28 H	CBR1	5.5	léger
18	24 H	CBR1	3	
19	24 H	CBR1	1.5	
20	26 H	CBR1	5	doux
21	57 H	CBR1	5.5	
22	37 H	CBR1	3.5	
23	37 F	CBR1	1.5	
24	39 F	CBR1	2	fort
25	21 H	CBR1	3	long
26	21 H	CBR1	5	
27	20 H	CBR1	2	acide
28	18 H	CBR1	3	aromaté

Descripteurs

MILLESIME BIO

Echantillon chateau BELLEVUE (LUSSAC ST EMILION):

MODALITY:

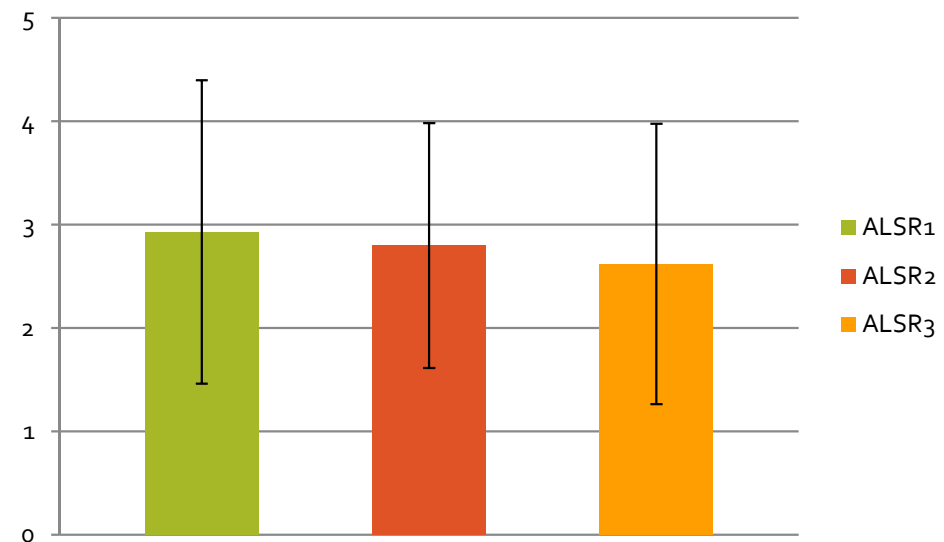
ALSR1=PDC

ALSR2=Be-15

ALSR3=Be-15+Non Sach

Panel de dégustateur : 42 personnes /modalités

Pas de differences
significatives



Le vigneron André Chatenoud a aussi
servi des vins de Wildwine sur son stand
à Millésime Bio



Un document de présentation pour les personnes venant déguster



Introduction

- Le projet Wild Wine a été mis en place à l'initiative de chercheurs de l'Institut agronomique grec DEMETER. Les partenaires du projet sont des associations de PVE, des exploitants viticoles et des organismes de recherche situés en Espagne, France, Italie et Grèce. En France, le projet implique l'Association des vigneron bio d'Aquitaine, Château de Bellevue, Château de Guiton, l'Institut Français du Vin (IFV) et l'INRA au travers de l'unité de Recherche oenologie de l'Université Bordeaux Segalen.

Le projet est financé par l'Union Européenne dans le cadre d'appel d'offre 2012 « Cosmos » destiné au bénéfice des Associations de PME (PME-SME-AG). Il est prévu pour une durée de 3 ans (2012-2015).

Concept du projet

- Évaluer et exploiter la diversité des levures et bactéries indigènes pour développer des levures originales (« levures sauvages »), spécifiques des régions viticoles, et donc utilisables pour produire des vins de terroir.



Portée novatrice du projet

- Combiner des cultures indigènes de Saccharomyces avec des non-Saccharomyces et des Gesoporus (et) indigènes avec des bactéries lactiques d'autres espèces pour former des mélanges particuliers de levures et de bactéries.

TASTING AT THE PARIS AGRICULTURE SHOW



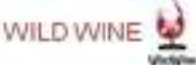


19/06/2015

WILDWINE



109



Introduction

Le projet Wild Wine a été initié en 2014 par le consortium de recherche Agropolis 2020, un consortium de sept universités de France, des départements d'Alsace et des universités de Suisse, d'Espagne et d'Italie. L'objectif est de développer des produits innovants à base de raisin et de vin, en utilisant des technologies de pointe et des connaissances scientifiques de pointe.

Le projet Wild Wine est financé par le conseil régional d'Aquitaine à hauteur de 50% des dépenses de R&D (2014-2015), par le conseil régional de Nouvelle-Aquitaine à hauteur de 50% des dépenses de R&D (2016-2017), et par le conseil régional de Bourgogne à hauteur de 50% des dépenses de R&D (2018-2019).

Objectifs du projet

Le projet Wild Wine vise à développer des produits innovants à base de raisin et de vin, en utilisant des technologies de pointe et des connaissances scientifiques de pointe. Les objectifs du projet sont :

- Développer des produits innovants à base de raisin et de vin, en utilisant des technologies de pointe et des connaissances scientifiques de pointe.
- Mettre à disposition des produits innovants à base de raisin et de vin, en utilisant des technologies de pointe et des connaissances scientifiques de pointe.
- Promouvoir les produits innovants à base de raisin et de vin, en utilisant des technologies de pointe et des connaissances scientifiques de pointe.

Partenaires du projet

Le projet Wild Wine est financé par le conseil régional d'Aquitaine à hauteur de 50% des dépenses de R&D (2014-2015), par le conseil régional de Nouvelle-Aquitaine à hauteur de 50% des dépenses de R&D (2016-2017), et par le conseil régional de Bourgogne à hauteur de 50% des dépenses de R&D (2018-2019).

Aquitaine

H O F O

Votre âge :

Blanc Sémillon

Modalités	Echelle de plaisir	Descripteurs (1/3 mots)
035	  	
036	  	



Même questionnaire

Château Bellevue Rouge modalité IFV SALON DE L'AGRICULTURE

Pas de differences significatives.

Average :

CBR1 = 3.17 (+/-1.28)

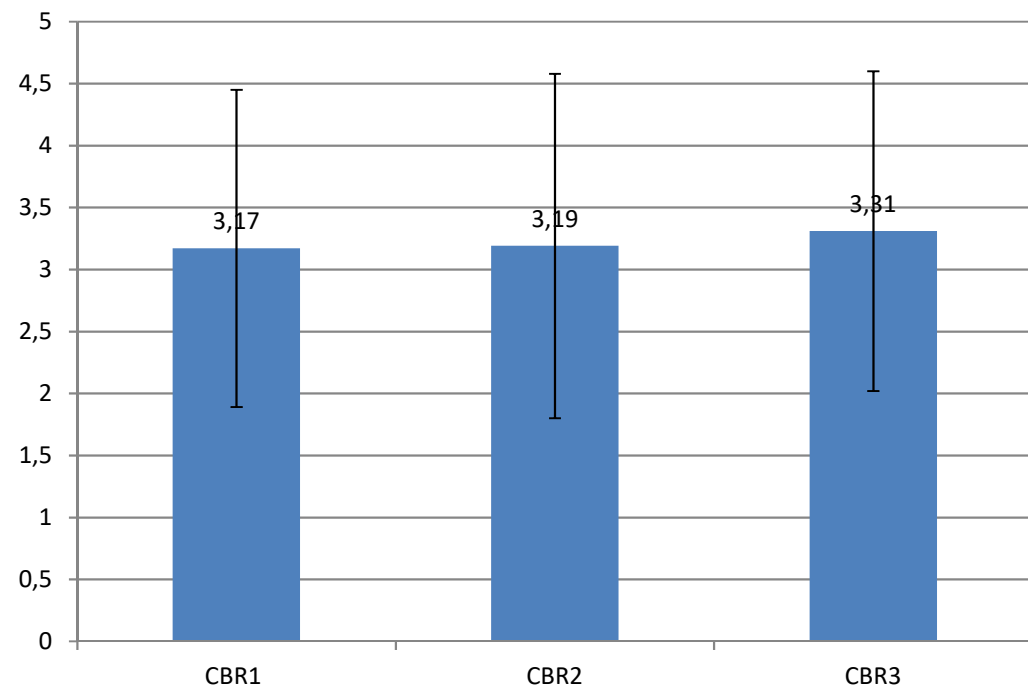
CBR2= 3.19 (+/- 1.39)

CBR3= 3.31 (+/- 1.29)

CBR1: LSA F33

CBR2: Souche Be 15

CBR3: Souche Be 15+ Torulaspora



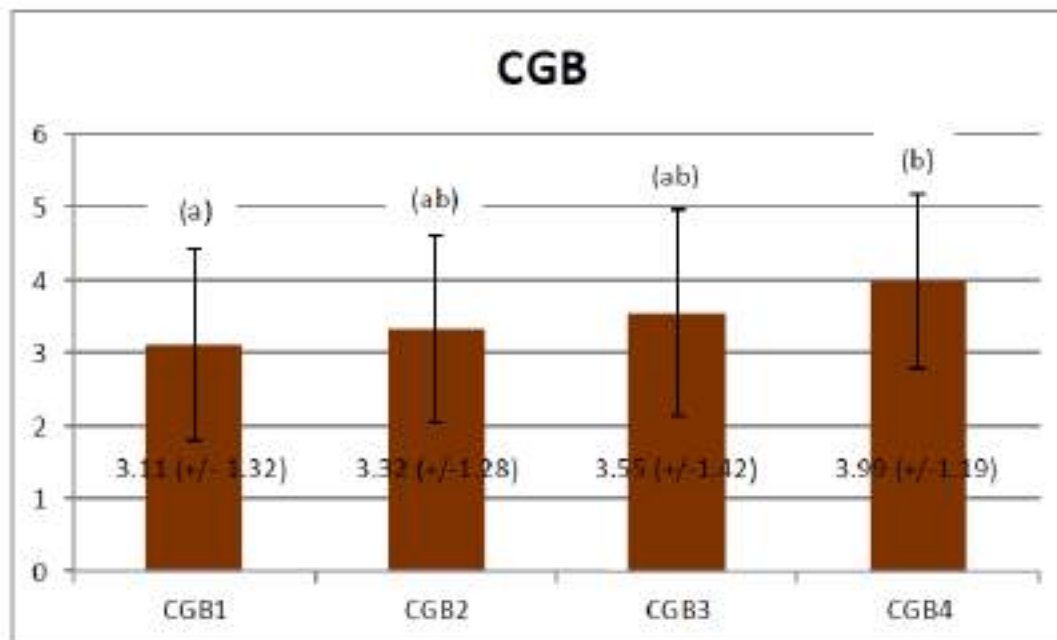
Dégustation des modalités IFV au château Guiraud

CGB 1 : LSA ST

CGB 2 : LSA ST+ *Torulaspora*

CGB 3 : SelectYeast (Sc 86)

CGB 4 : SelectYeast (Sc 86) + *Torulaspora*



L'analyse montre une difference significative entre les modalité avec une preference pour CGB₄



Project Bactéria

« PDCMalobio »

improve control of native malolactic fermentations by optimizing the preparation of FML vat feet

2018 - 2020

Porté par :

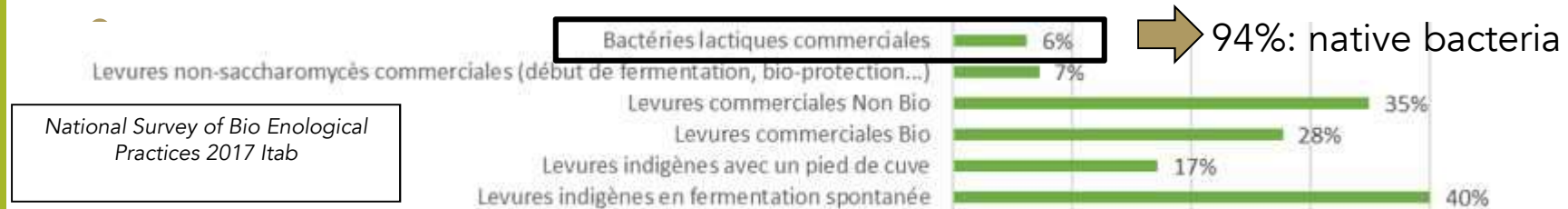


Avec les financements de :



Context

- FML in indigenous is generally going well: no need to intervene



- Sauf dans certains cas :
 - ✓ On some sites, FML does not trigger or FML languid
 - ✓ Some winemakers want to frame FML while remaining indigenous, for example: winemaking without SO₂, early MEB
 - ✓ Indigenous co-inoculation
- Project objective: establish a PDC protocol to manage its FML as an indigenous

Axes de travail projet PDC Malobio

- *Laboratory scale: ISVV leader*

-

1) Setting up a PDC protocol from

- BL of the Year N

- year's lees n-1

Determination in the lab of the best conditions for the spread of strains (pH of the must, presence or not of alcohol, temperature ...).

2) Tracking bacterial populations pdt conservation of lees for field inoculation

Evolution différente des souches indigènes d'*Oenococcus oeni* pendant la conservation → peut influencer sur capacité des lies à déclencher la FML ou modifier la qualité sensorielle des vins.

3 lots de lies 2018 seront suivies en 2019

Axes de travail projet PDC Malobio

Pilot scale: IFV leader

PDC protocol optimization and validation under controlled conditions

- Healthy harvest
- Surmuries harvest
- Problem harvest (after FA heating to kill all BL)

Field scale: LEADER VBNA

Optimizing and validating PDC protocols on 2 farms