



HAL
open science

Acidification biologique d'un moût de merlot par une levure non-saccharomyces *Lachancea thermotolerans* dans un contexte de vinification utilisant la macération préfermentaire à froid

Mikaël Marrot

► To cite this version:

Mikaël Marrot. Acidification biologique d'un moût de merlot par une levure non-saccharomyces *Lachancea thermotolerans* dans un contexte de vinification utilisant la macération préfermentaire à froid. Sciences du Vivant [q-bio]. 2025. <dumas-05241689>

HAL Id: dumas-05241689

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-05241689v1>

Submitted on 5 Sep 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

université
de **BORDEAUX**

Mémoire présenté à l'Université de Bordeaux

Pour l'obtention du **Diplôme National d'Œnologue**

Par **Mikaël MARROT**

ANGELUS



Acidification biologique d'un moût de merlot par une levure non-saccharomyces *Lachancea thermotolerans* dans un contexte de vinification utilisant la macération préfermentaire à froid

Soutenu devant la commission d'examen de la première session 2025

Remerciements

Je remercie toutes les personnes qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à la rédaction de ce rapport.

Tout d'abord, je remercie Benjamin Laforêt, mon maître d'apprentissage durant ces quatre années passées au château Angélu. Merci pour cette opportunité d'intégrer ton équipe à l'époque du BTS, d'avoir permis cette reconversion, et de ta confiance renouvelée pour ces deux ans d'alternance en DNO.

Je remercie également François Lezian pour son accueil au sein du vignoble. De la même manière, j'adresse mes remerciements à la totalité du pôle viticole pour m'avoir partagé, chacun à leur manière, un savoir faire et une vision de la vie dans les vignes. Avec une pensée particulière pour Bruno Lavigne et Patrick "Dan" Brunel qui ont activement participé à mon apprentissage des gestes et techniques de la vigne.

Pour la partie chai, un immense merci à Jean-charles Dugos et Sullivan Compadre pour avoir pris en charge la formation technique d'un jeune ex-cadre parisien incapable de reconnaître une clef de 17 dans un atelier. Vos conseils, discussions et votre humeur m'ont beaucoup appris sur le travail au chai et ont rendu ces quatre ans exceptionnels. J'en profite également pour remercier Julien Guerault et Quentin Perche, quasiment assimilés à l'équipe chai, pour leurs nombreux conseils techniques, leur joie de vivre sans limite et pour tous ces moments inoubliables au château ou ailleurs. Évidemment, je ne pouvais pas ne pas remercier Christelle "Zinda" Poudre, mascotte de la bande et que chaque chai devrait avoir.

Je souhaite également remercier Romane Pic pour les documents fournis et les nombreuses discussions sur bien des sujets; ta bonne humeur a été un véritable rayon de soleil. Je remercie aussi Noellie Barsac pour nos échanges, toujours pertinents et utiles, sur mon expérimentation ou la R&D en général.

Je tiens à remercier tous les stagiaires, CDD et alternants que j'ai pu croiser durant ces quatre millésimes. En particulier l'équipe Angélu de ce millésime 2024, Margaux, Seba et Raul qui ont tous fait grandir ma vision du vin. Et tout spécialement à Maël pour ces deux ans de complicité, à l'école comme au château, et qui aura marqué cette fin d'aventure à Angélu. Qui sait, peut-être bientôt à trois en Corse.

Enfin, même si un remerciement n'est pas suffisant face à son importance ici, je remercie Hiti pour m'avoir suivi pendant ces quatre années de reconversion, et pour toutes celles à venir. Ta patience, ta compréhension et ton aide ont été un moteur certain dans notre réussite.

Résumé

Le château Angélus est un des vignobles les plus réputés de l'appellation Saint Emilion qui, dans l'optique d'une amélioration continue de sa qualité, mène régulièrement des essais. Ces essais, à la vigne comme au chai, ont pour but de s'adapter aux défis de demain. Le défi majeur que doit relever la filière vin est le changement climatique, dont les effets peuvent déjà se faire sentir. Les aléas climatiques plus nombreux et les saisonnalités perturbées modifient les cycles de la vigne, avec pour conséquences des vins moins acides, plus riches en alcool et des déséquilibres gustatifs. Pour tenter de répondre à ces enjeux, l'utilisation d'une levure non-saccharomyces (*Lachancea thermotolerans*) de bio acidification a été testée sur ce millésime 2024. Cette levure, par son métabolisme particulier, produit de l'acide lactique pendant la phase préfermentaire. Si l'utilisation de cette levure est relativement bien connue de la recherche, l'objectif de cette étude a été d'adapter son utilisation dans un processus de vinification utilisant la macération préfermentaire à froid. Ainsi différentes modalités, lors de micro-vinification, ont tenté de comparer différents moyens de bio-protection pendant cette macération pré-fermentaire à froid pour favoriser l'implantation de *Lachancea thermotolerans*. L'absence d'acidification par la levure, probablement due à une problématique de température, rend les résultats non concluants.

Abstract

Château Angélus is one of the most renowned vineyards in the Saint Emilion appellation which, with a view to continually improving its quality, regularly conducts trials. These trials, in the vineyard as well as in the cellar, aim to adapt to the challenges of tomorrow. The major challenge facing the wine industry is climate change, the effects of which can already be felt. More numerous climatic hazards and disrupted seasonalities modify the cycles of the vines, resulting in less acidic wines, richer in alcohol and taste imbalances.

In an attempt to address these issues, the use of a non-saccharomyces yeast (*Lachancea thermotolerans*) for bio-acidification was tested on this 2024 vintage. This yeast, through its particular metabolism, produces lactic acid during the pre-fermentation phase. While the use of this yeast is relatively well known in research, the objective of this study was to adapt its use in a winemaking process using cold pre-fermentation maceration. Thus, different methods, during micro-vinification, attempted to compare different means of bio-protection during this cold pre-fermentation maceration to promote the establishment of *Lachancea thermotolerans*. The absence of acidification by the yeast, probably due to a temperature problem, makes the results inconclusive.

Liste des abréviations

ADH : Alcool DésHydrogénase

AOC : Appellation d'origine contrôlée

AT : Acidité totale

AV : Acidité volatile

CMR : Substances cancérogènes, mutagènes et reprotoxique

FA : Fermentation alcoolique

FML : Fermentation malolactique

hL/ L/ mL: Hectolitre (s)/ litre (s)/ millilitre (s)

Kg/ g/ mg : Kilogramme (s)/ gramme (s)/ milligramme (s)

LDH : Lactate DésHydrogénase

LSA : Levure Sèche Active

OAD : Outil d'Aide à la Décision

TAV : Titre alcoométrique volumique

TAVP : Titre alcoométrique volumique potentiel

UFC : Unité Formant Colonie

Table des matières

Introduction.....	1
1. Viticulture.....	2
1.1 Contexte.....	2
1.1.1 Appellation Saint-Emilion, Castillon et situation géographique du château.....	2
1.1.2 Les terroirs.....	3
1.1.2.1 Les sols.....	3
1.1.2.2 Le climat et le changement climatique.....	3
1.2 Matériel végétal.....	4
1.2.1 Encépagement.....	4
1.2.2 Porte greffe.....	5
1.2.3 Implantation du vignoble.....	5
1.3 Itinéraire technique viticole.....	5
1.3.1 Travaux hivernaux.....	6
1.3.2 Travail du sol.....	7
1.3.3 Travaux en vert.....	7
1.3.3.1 Epamprage.....	7
1.3.3.2 Levage.....	8
1.3.3.3 Écimage, rognage.....	8
1.3.3.4 Échardage, effeuillage.....	8
1.3.3.5 Vendanges en vert.....	8
1.4 Lutte contre les aléas climatiques.....	9
1.5 Millésime 2024.....	10
1.5.1 Conditions climatiques.....	10
1.5.1.1 Pluviométrie.....	11
1.5.1.2 Grands stades physiologiques et impacts de la météorologie.....	11
1.5.2 Traitements phytosanitaire.....	12
1.6 Conclusion.....	14
1.6.1 Analyse critique du millésime.....	14
2. Œnologie.....	15
2.1 Contrôles maturités.....	16
2.2 Vendanges, réception et encuvage.....	17
2.3 Opérations pré-fermentaire.....	18
2.4 Fermentation alcoolique.....	18
2.5 Opérations post-fermentaire.....	19
2.5.1 Macération post-fermentaire à chaud.....	19
2.5.2 Écoulage et pressurage.....	19
2.5.3 Fermentation malo-lactique.....	20
2.6 Élevage.....	20
2.7 Assemblage final.....	21
2.8 Conclusion.....	21

2.8.1 Analyse critique du millésime.....	21
3. Expérimentation.....	23
3.1 Bibliographie.....	24
3.1.1 De l'importance de l'acidité.....	24
3.1.2 La bio-acidification vs acidification classique.....	25
3.1.3 Lachancea thermotolerans.....	26
3.1.4 EXCELLENCE® X-FRESH.....	29
3.2 Matériels et méthodes.....	30
3.2.1 Parcelle de l'expérimentation.....	30
3.2.2 Protocole d'expérimentation.....	31
3.2.3 Analyses.....	34
3.3 Résultats.....	36
3.3.1 Analyse d'encuvage.....	36
3.3.2 Suivi de fermentation.....	37
3.3.3 Suivi de l'acide lactique.....	37
3.3.4 Contrôle d'implantation.....	38
3.3.5 Analyse fin de FA.....	39
3.3.6 Suivi de la fermentation malolactique.....	39
3.4 Discussion.....	39
3.5 Comparaison économique.....	41
3.6 Perspectives.....	42
4. Conclusion.....	43

Introduction

Le château Angélys est reconnu par les professionnels du vin comme produisant des vins de grandes qualités, prestigieux et de renommée mondiale. Au fil des millésimes, il s'est hissé parmi les plus grands domaines de l'AOC Saint-Emilion Grand Cru en atteignant le classement de 1er Grand Cru Classé A au renouvellement du classement de 2012 avant de faire le choix d'en sortir au renouvellement du classement de 2022.

Cette propriété possède également une riche histoire ancrée dans les terres de la rive droite Bordelaise puisqu'elle appartient à la famille de Boüard de Laforest depuis 1782.

Aujourd'hui c'est à la 8ème génération, représentée par Stéphanie de Boüard-Rivoal et épaulée par son père Hubert de Boüard de Laforest, qu'il incombe de poursuivre cette histoire d'excellence.

Cette renommée vient bien évidemment des vins, portés par de grands terroirs. L'encépagement relativement particulier pour la rive droite, mettant à l'honneur de grands Cabernets Francs, y est évidemment pour beaucoup. A cela s'ajoutent des sols variés et propices à la production de vins de garde, ainsi qu'une équipe technique passionnée et dévouée à laisser s'exprimer le meilleur du matériel végétal.

Enfin la situation géographique et topographique du château Angélys lui offre un climat avantageux faisant la renommée des vins de Bordeaux et participant à leurs typicités.

Mais depuis maintenant plusieurs décennies, nous sommes les témoins privilégiés du changement climatique et de ses impacts sur la vigne et le vin. Une des conséquences est la dégradation favorisée des acides organiques du raisin pendant la maturation des baies, se traduisant par une baisse de l'acidité dans les vins. Pour tenter de remédier à cette problématique, nous avons choisis de tester une levure non-saccharomyces de bio-acidification.

L'enjeu de cette expérimentation réside dans l'utilisation de cette levure dans le cadre d'une vinification faisant la part belle à la technique de macération pré-fermentaire à froid.

Ainsi ce document représente mon rapport de stage pour l'obtention du Diplôme National d'Oenologue. D'un point de vue personnel, il représente également la conclusion de quatre années, quatre millésimes, et quatre vinifications au sein de ce domaine et parmi les équipes qui le composent, et qui marquent mes premiers pas dans le monde de la vigne et du vin.

Il présentera succinctement le château Angélys et son contexte, les appareils de production viticole et vinicole, puis l'expérimentation menée sur une levure de bio-acidification et l'adaptation de son utilisation aux procédés de vinification qui existent au chai.

1. Viticulture

1.1 Contexte

1.1.1 Appellation Saint-Emilion, Castillon et situation géographique du château

Les vignes du château Angélys sont réparties sur les AOC Saint-Emilion, Saint-Emilion Grand Cru et Castillon Côtes de Bordeaux. Elles sont situées sur ce qui est communément appelé la rive droite du vignoble Bordelais, car situées sur la rive droite de la rivière Garonne.

Les AOC Saint-Emilion et Saint-Emilion Grand Cru sont structurées suivant un classement renouvelé tous les dix ans. Ce classement est composé comme suit : Grand Cru Classé, 1er Grand Cru Classé B et 1er Grand Cru Classé A. Plusieurs paramètres sont pris en compte pour l'obtention de ce classement comme la qualité des vins mais aussi des composantes œnotouristiques. La diversité de ces critères engendre régulièrement des déboires judiciaires pouvant entacher la crédibilité du classement.

Ce vignoble Saint-Emilionnais s'étend sur 5500 ha répartis sur 8 communes, faisant ainsi de l'AOC la plus grande appellation communale de France.

Le vignoble de Castillon Côtes de Bordeaux s'étend quant à lui sur 1800 ha. Il est implanté sur le même plateau calcaire et dans le prolongement de celui de Saint-Emilion.

Ces deux vignobles possèdent des sols relativement similaires. Le sous-sol y est formé de molasses du Fronsadais (roches sédimentaires de l'ère tertiaire). Elles sont recouvertes par de l'argile et du calcaire. Ainsi les sols sont argileux, limono-argileux, sablo-argileux ou graveleux suivant la situation géographique. Sur les côteaux et le haut du plateau, les sols sont rapidement calcaires avec une fine couche d'argile. Enfin sur la plaine s'étendant des bas de côteaux jusqu'à la rivière Dordogne, les sols sont très sableux avec une petite proportion de graves, formant des alluvions de l'ère quaternaire charriés par la rivière.

Ces appellations n'autorisent que la production de vins rouges tranquilles. En conséquence les cépages autorisés sont : le Cabernet Sauvignon, le Cabernet franc, le Cot, le Merlot noir, le Carmenère, et le Petit Verdot. Dans le vignoble de Saint-Emilion le Petit Verdot est autorisé en tant que cépage accessoire. Dans celui du Castillonais, le Carmenère et le Petit Verdot sont aussi autorisés en tant que cépages accessoires.

1.1.2 Les terroirs

1.1.2.1 Les sols

Le château Angélu produit trois types de vins rouges tranquilles : le premier vin (château Angélu) un vin rouge très qualitatif destiné à une longue garde, le second et troisième vin (Carillon d'Angélu et N°3 d'Angélu) des vins rouges là encore d'une grande qualité et toujours en AOC Saint-Emilion, et un quatrième vin (Tempo d'Angélu) faisant l'objet de la même attention que les autres vins de la gamme mais proposé à des tarifs plus accessibles, en AOC Bordeaux.

Le château Angélu produit également un vin blanc tranquille.

Ces trois catégories de vins rouges peuvent ainsi être séparées en trois typicités de sols.

Le vignoble destiné à la production du grand vin est composé des 30 ha historiques situés autour du château. Il est séparé en trois parties : les hauts de côtes sont argilo-calcaires assez pauvres en matière organique, le milieu de côtes sont plus argileux avec une teneur en matière organique plus importante, et le bas de côtes sont toujours argileux mais avec une proportion de sables plus importante.

Les vignes produisant les second et troisième vins, représentent un total de 25 ha et sont toujours sur l'air d'appellation Saint-Emilion avec des vignes sur la commune de Saint-Christophe des Bardes présentant des sols limono-sableux, et des vignes sur les secteurs dit Figeac, Fonrazade et Roc, avec une proportion de sables beaucoup plus importante.

Enfin, les vignes produisant le Tempo d'Angélu sont situées sur les communes de Castillon-la-Bataille, Sainte-Colombe et sur le secteur de Francs pour un total de 56 ha. Ce sont sur ces deux premières communes où sont également plantés les blancs sur une surface de 1.5 ha.

Des sols sablo-limoneux y sont retrouvés avec une quantité importante de matière organique, et des sols argilo-limoneux avec une quantité plus faible de matière organique.

1.1.2.2 Le climat et le changement climatique

Saint Emilion est en zone de climat de type océanique-altéré d'après la classification établie par Météo-France. C'est une zone de transition entre le climat océanique, le climat de montagne et le climat semi-continentale. Bien que relativement reculé dans les terres, les influences de l'océan Atlantique transmises jusqu'au vignoble par les rivières Garonne et Dordogne sont impactantes. Ce climat océanique-altéré est teinté d'influence semi-continentale apportée par le proche Limousin.

Ainsi, depuis 1991, la moyenne des précipitations annuelles dépasse les 400mm/an, offrant une bonne nutrition hydrique.

Le Libournais offre des hivers doux et des étés chauds avec une température moyenne annuelle de 13.6°C, et un ensoleillement suffisant avec plus de 1200h durant la période végétative.

Le changement climatique touche évidemment les vignobles du Libournais avec une augmentation des températures moyennes importante et régulière. [1]

Ce changement a des conséquences sur la vigne et sur le vin en découlant, et de nombreux enjeux vont être à relever pour les générations futures.

1.2 Matériel végétal

1.2.1 Encépagement

Comme la majorité des domaines Bordelais, le château Angéus produit des vins d'assemblages. Les cépages qui composent le vignoble sont à dominante de Merlot noir et de Cabernet franc complétés par une très faible proportion de Petit verdot.

Le Merlot Noir, cépage emblématique de la rive droite du vignoble Bordelais, est présent à 54% sur les parcelles de Saint-Emilion.

Sur celles de Castillon-la-Bataille et Sainte-Colombe, il représente 83% du parcellaire.

Mais la notoriété du château Angéus lui vient de sa grande proportion de Cabernet franc. Il représente ainsi 46% de l'encépagement des parcelles en Saint-Emilion, et 17% de celles de Sainte-Colombe et Castillon-la-Bataille. Ce fort pourcentage, atypique pour l'appellation et qui a su donner ses lettres de noblesse au château Angéus, vient de l'envie de Maurice de Bouïard de Laforest de rendre hommage à sa femme Elisabeth Bouchet. L'autre nom du Cabernet franc étant le Bouchet, il a décidé de planter une grande quantité de ce cépage. En souvenir de cette histoire, le château Angéus produit lors des millésimes exceptionnels, une cuvée 100% Cabernet franc nommée « Hommage à Elisabeth Bouchet ».

Enfin, le Petit Verdot présent en très faible proportion (quelques rangs représentant 0.28ha) vient compléter cet assemblage.

Quant aux cépages blancs, ils livrent un assemblage atypique sur la scène des vins blancs Bordelais. Les classiques Sauvignon blanc et Sémillon sont accompagnés par du Chardonnay et du Chenin. La

surface offerte à ces cépages blancs est de 1.5 ha, située sur des coteaux calcaires sur la commune de Castillon-la-Bataille.

La proportion de chacun de ces cépages blancs reste encore pleinement à définir. Si les Sauvignon blanc, Sémillon et Chardonnay semblent avoir trouvés leurs équilibres sur ces terroirs, le Chenin n'offre pas encore totale satisfaction aux équipes techniques. Une petite proportion a donc été surgreffée au profit du Chardonnay.

1.2.2 Porte greffe

Différents porte-greffes sont utilisés sur le vignoble. La variété de porte-greffes utilisés est utile pour s'adapter aux différents sols présents sur la propriété, et pour moduler la vigueur conférée aux cépages. Ainsi 6 porte-greffes sont utilisés : le Fercal, le Gravesac, le 420 A, le 101.14 MGt, le 161-49 Couderc, le 110R, le SO4 et le 5-BB.

L'un des enjeux de ces porte-greffes est de répondre aux différences de sol de la propriété, et en particulier aux risques de chlorose ferrique en lien avec certaines parcelles riches en calcaire actif.

1.2.3 Implantation du vignoble

La densité de plantation est extrêmement variable sur l'ensemble du vignoble. En effet, pour des raisons historiques (différence historique de densité marquée entre les différentes appellations), et d'adaptation au produit final voulu, les densités de plantation ne sont pas les mêmes d'une parcelle à l'autre.

Le vignoble de Saint-Emilion est produit entre 7000 et 11000 pieds/ha. Celui de Castillon-la-Bataille oscille entre 3300 et 7700 pieds/ha. Enfin celui de Saint-Christophe-des-Bardes a été replanté plus récemment à 7000 pieds/ha.

1.3 Itinéraire technique viticole

A la vigne l'équipe technique est dirigée par un chef de culture, suppléé par un responsable d'équipe tractoriste, et un responsable d'équipe manuelle. Deux coordinatrices techniques sont également présentes pour épauler le chef de culture sur tous les aspects techniques, administratifs et réglementaires, et absorber une partie de la charge de travail lors des pics d'activités, notamment la période des traitements phytosanitaires.

Les travaux mécaniques sont assurés par une dizaine de tractoristes répartis sur l'ensemble du parcellaire.

Les travaux manuels étaient historiquement confiés à des prestataires de services viticoles. Depuis peu (millésime 2022), une équipe manuelle a été créée dans le but de réduire les coûts liés aux prestataires, et pour pouvoir s'adapter plus finement aux besoins. Cette équipe est composée de trois chefs d'équipes (répartis sur le vignoble), d'une dizaine de salariés, et est régulièrement complétée par des personnes en CDD.

Pendant la période des vendanges, la très grande majorité des vendangeurs sont des prestataires de services viticoles.

1.3.1 Travaux hivernaux

Une fois les vendanges terminées, les équipes mécanique et manuelle travaillent de concert pour le racottage. Ainsi, avant l'hiver, les pieds morts, en fin de vie ou présentant des signes de maladies trop avancées, sont arrachés manuellement et à l'aide d'une tarière. Dans le même temps, un marquant, destiné à protéger le futur jeune pied, est planté et de l'engrais est ajouté. Une fois les racottages terminés, les équipes parcourent une nouvelle fois le vignoble pour complanter chaque parcelle. Ainsi, un jeune pied est planté en lieu et place du précédent.

Chaque année, 100% du vignoble est racotté puis complanté.

Une fois cette opération réalisée, et lorsque l'hiver est bien installé (que l'entièreté du feuillage des vignes est tombé), vient le moment de la taille.

La taille est réalisée à 100% en interne par l'équipe de tractoristes, et une partie de l'équipe manuelle ayant été formée pour.

Les vignes du château Angélus sont taillées selon un modèle de taille douce, respectueuse des flux de sève, principalement enseignée par Simonit et Sirch depuis 2017.

Ainsi l'architecture du cep est composée de deux bras de chaque côté sur lesquels sont laissés une aste. De temps à autre, un courson à deux bourgeons peut être laissé sur un ou deux bras, mais celui-ci doit être bien positionné (dans l'aisselle du bras) et avec des bourgeons bien orientés (le premier vers le bas ou vers l'intérieure et le second vers le haut ou vers l'extérieur du pied). Ce courson sera utilisé comme le départ de la nouvelle aste dans l'année N+1 afin de permettre le raccourcissement du bras.

Au total, huit bourgeons sont laissés sur le pied, répartis entre les astes et les éventuels coursions. Ce nombre n'est pas une règle absolue, et doit être modulé en fonction de la vigueur du pied (traduite par son expression végétative l'année N). Sur l'aste, des "fenêtres" sont effectuées, se traduisant par

l'ébourgeonnage d'un bourgeon sur deux. Cela permet d'étaler les futurs bois et donc la future récolte, et d'éviter les entassements de végétation, rendant la pulvérisation plus efficace tout en diminuant l'humidité présente dans la zone fructifère.

Consécutivement à la taille, les bois sont tirés et broyés à même la parcelle. Dans le même temps, les opérations de carassonnage sont réalisées durant lesquelles les piquets, fils et leveuses sont contrôlés et remplacés le cas échéant.

1.3.2 Travail du sol

Après les vendanges en automne, les tractoristes commencent les premiers travaux du sol. Les griffes sont passées pour aérer le sol en prévision de l'implantation des semis. Ces semis sont composés de plusieurs espèces comme la luzerne, la féverole ou l'orge. Ils sont utilisés pour aérer le sol, apporter de la matière organique (carbonée et azotée) et favoriser la portance pour le passage des machines pendant la saison.

Durant le reste de la saison, les tractoristes travaillent suivant le principe des quatre façons. Ainsi pendant l'hiver, le chassage des pieds est réalisé. Ils seront déchaussés au printemps suivant. Ces techniques sont utilisées pour maîtriser les adventices présentes sous le pied.

Ces opérations sont réalisées par des outils intercepts permettant de travailler au plus proche du pied. Parmi ces outils, sont utilisés la charrue ou les disques crénelés.

L'inter-rang enherbé est géré par une tonte régulière. L'inter-rang non-enherbé est maîtrisé par différents outils comme les lames bineuses.

1.3.3 Travaux en vert

Aujourd'hui, la très grande majorité des travaux en vert sont réalisés en interne par notre équipe du pôle manuel. De temps à autre, des prestataires externes peuvent être appelés en renfort, en particulier lors de millésimes imposant des conditions météorologiques compliquées et n'offrant que des marges de manœuvre restreintes pour conjuguer travaux manuels et travaux mécaniques.

A l'exception du rognage et de l'écimage, l'ensemble des travaux en vert sont réalisés manuellement.

1.3.3.1 Epamprage

C'est une opération essentielle à laquelle est apportée beaucoup de soin par les équipes du château Angelus. Suivant les millésimes, deux à quatre épamprages peuvent être réalisés.

En supprimant les rameaux non fructifères, l'ensemble de la vigueur du pied peut être distribuée sur les bois portant de la vendange. De plus, cela permet une meilleure aération du pied, et un travail facilité pour les tailleurs lors de la saison de taille.

Le premier épamprage débute assez rapidement après le débourrement (stade pointe verte), et est régulièrement renouvelé jusqu'aux vendanges.

1.3.3.2 Levage

Cette étape est nécessaire pour faciliter le passage des engins, éviter la casse des rameaux et favoriser la pénétration des produits phytosanitaires appliqués à la vigne. Un minimum de quatre passages est réalisé pendant la période de croissance végétative.

1.3.3.3 Écimage, rognage

De la même manière que l'étape précédente, ces étapes sont nécessaires pour un bon contrôle des parties aériennes de la vigne, et éviter un encombrement trop important de l'inter-rang. Elles sont réalisées à l'aide d'écimeuses et de rogneuses mécaniques.

1.3.3.4 Échardage, effeuillage

Conséquemment à l'écimage et au rognage, la vigne produit des entre-cœurs qui doivent être maîtrisés. Ainsi l'opération d'échardage permet d'éviter l'entassement de végétation et d'améliorer la ventilation naturelle.

De la même manière pour la gestion du feuillage au niveau des grappes, les équipes effectuent des effeuillages tout au long de la saison. Ces effeuillages sont réalisés du côté du soleil levant. Cela permet une exposition douce au soleil de la matinée, sans forcer une exposition au soleil de l'après-midi pouvant entraîner de l'échaudage. Il est réalisé avec des consignes strictes permettant de libérer complètement la zone des grappes sans monter trop haut sur le rameau afin de laisser une protection ombragée.

1.3.3.5 Vendanges en vert

Opération systématiquement réalisée à Angélus, elle permet de supprimer certaines grappes du pied. Au moment de la véraison, les grappes présentant un retard de maturité et celles abîmées ou touchées par la maladie sont éliminées. De plus, lors d'entassement de grappes trop important et ne pouvant pas être délicatement déplacées, une grappe peut être éliminée afin de libérer de l'espace pour les autres grappes. Enfin, la troisième grappe d'un rameau ainsi que les grappillons sont systématiquement éliminés.

Ces mesures permettent une maturation homogène des grappes restantes et une lutte favorisée contre les maladies cryptogamiques.

1.4 Lutte contre les aléas climatiques

Comme pour la plupart des vignobles de France, le vignoble de Saint-Emilion est, du fait du changement climatique, de plus en plus sensible aux gelées printanières.

Sur le millésime 2024, la lutte contre le gel s'est étendue du 18 au 24 avril, avec des gelées extrêmement tardives.

Angelus est particulièrement bien équipé pour lutter contre le gel. Ainsi, les équipes du château sont mobilisées sous forme d'astreinte pouvant être appelé pendant la nuit pour poser des bougies (à une densité de 250 bougies/ha) dans les parcelles les plus sensibles. En parallèle, une dizaine de tours anti-gels sont déployées pour offrir une protection maximale.

Enfin, une taille longue et tardive dite "en fiançaille" est réalisée sur les parcelles sensibles mais trop éloignées du château pour être protégées efficacement. Cette méthode consiste à tailler la vigne en deux fois : la première fois la vigne est taillée classiquement mais l'extrémité des rameaux n'est pas supprimée (ni les bourgeons terminaux) et une fois les gelées passées, la vigne est taillée une seconde fois pour supprimer ces extrémités de rameaux. Par des phénomènes d'acrotonies, ces bourgeons extrêmes vont débourrer en premier, retardant le débourrement des bourgeons fructifères qui nous intéressent. Ainsi, ils seront moins sensibles au gel. Si cette technique semble efficace, elle représente pour la plante un coup énergétique non négligeable puisqu'elle puise dans ses réserves pour faire pousser des bourgeons qui ne seront pas exploités et qui ne restitueront pas l'énergie mise à contribution sous forme de photosynthèse.

Le second aléa climatique prédominant est la grêle. Sur l'AOC Saint-Emilion, les différents domaines ont mis leurs efforts en commun pour former et assurer l'utilisation d'un réseau de ballon anti-grêle. Par l'utilisation d'un OAD (Skydetect™), les châteaux sont prévenus des risques d'orages de grêle et peuvent recourir à l'utilisation de ces ballons. Ces derniers sont gonflés à l'hélium et amènent des torches chargées de sels hygroscopiques permettant d'absorber l'humidité des nuages et de prévenir la formation des grêlons.

Bien que coûteuse, cette technologie permet de prévenir tout dommage lié à la grêle sur la totalité de l'appellation.

1.5 Millésime 2024

Le parcellaire étant géographiquement éclaté, l'équipe technique dispose de plusieurs stations météo autonomes permettant de recueillir des données fiables sur les conditions climatiques propres à chaque groupement de parcelles. Ces données nous permettent d'avoir un recul critique sur les actions mises en place lors des campagnes de traitement, de suivre l'efficacité des traitements administrés, et d'avoir une base comparative d'un millésime à l'autre.

Ce sont ces données qui seront utilisées pour discuter des points suivants.

1.5.1 Conditions climatiques

Le millésime 2024 s'est révélé particulièrement compliqué à gérer pour l'équipe technique. La pluviométrie, en particulier, a représenté un élément très contraignant et a engendré une très forte pression parasitaire tout au long du cycle de la vigne. Cette pression s'est également poursuivie le long de la phase de maturation des baies engendrant un risque accru pendant la période pré-vendange.

En parallèle de cette pluviométrie importante, une température relativement basse a entraîné des retards de maturité et un ralentissement du cycle végétatif de la vigne.

En conséquence de cette météorologie particulièrement désavantageuse, le rythme et le nombre des traitements phytosanitaires ont été plus importants que sur le millésime 2023. Ce dernier point, en plus de représenter une contrainte de gestion et organisationnelle pour l'équipe technique, ajoute un poids moral supplémentaire à l'ensemble du pôle production.

1.5.1.1 Pluviométrie

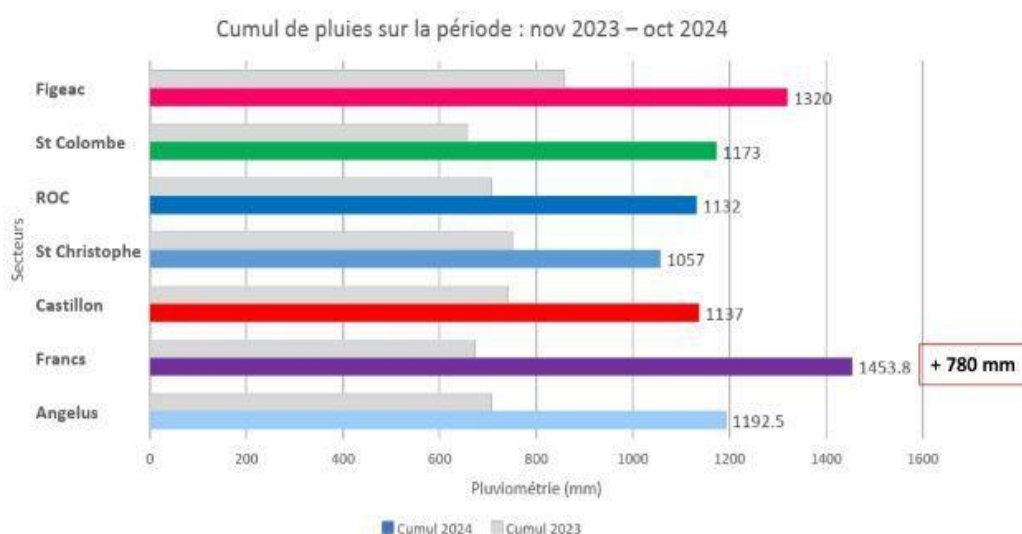


Figure 1 : comparatif du cumul des pluies sur les différents secteurs entre 2023 et 2024

La figure 1 permet de comparer le cumul des pluies sur les différents secteurs que composent le parcellaire d'Angélus sur les millésimes 2023 et 2024, sur une période allant de novembre à octobre. On peut remarquer que le cumul des pluies sur le millésime 2024 est nettement plus important que celui sur le millésime 2023. C'est particulièrement vrai sur le secteur "Francs" qui accuse une différence positive de 780 mm sur la période 2024. En moyenne et tous secteurs confondus, on mesure + 480 mm de pluie sur le millésime 2024 par rapport au millésime 2023.

Sur une période resserrée entre le 25 mars (date correspondant au début du débourrement en 2024) et le 6 octobre (date marquant la fin des vendanges en 2024), une comparaison des deux millésimes nous montre un cumul de 322 mm sur le millésime 2023 et 509 mm sur le millésime 2024.

Cette différence est très importante, et d'autant plus marquante que le millésime 2023 a été jugé particulièrement humide par les professionnels de la filière (avec une précipitation total de 1186,4mm sur 2023, et une moyenne annuelle de 924,9 mm entre 1991 et 2020, sur la station météo de Mérignac).

1.5.1.2 Grands stades physiologiques et impacts de la météorologie

L'hiver 2023-2024 s'est montré relativement clément avec des températures plus douces qu'à l'accoutumée, mais des précipitations plus importantes (en particulier sur les mois de novembre et mars avec des pluies excédentaires).

Les températures du début du printemps ont permis un débourrement précoce fin mars, et un stade 2-3 feuilles étalées au 4 avril. Comme vu ci-avant, il n'y a pas eu de vague de gel significative, mais une vague de froid s'étendant du 18 au 24 avril a déclenché une lutte contre le gel.

Consécutivement à un mois de mai frais, la floraison a débuté début juin de manière lente et hétérogène avec une coulure marquée due aux précipitations importantes.

La période estivale a été plus sèche et fraîche avec une moyenne de 21,8°C sur les mois de juillet et août, sans pic de chaleur marqué. La fermeture des grappes a eu lieu début août, suivie d'une véraison lente consécutive aux faibles températures.

En lien avec ce déroulé, les vendanges ont été tardives. Celles des blancs ont débuté le 11 septembre pour finir le 19 septembre, et celles des rouges ont débuté le 20 septembre pour finir le 5 octobre. Des vendanges tardives et étalées, marquées par une forte humidité engendrant une maturité phénolique plus difficile à obtenir sur beaucoup de terroirs et une pression Botrytis menaçante ayant guidé certains choix de date de récolte.

1.5.2 Traitements phytosanitaire

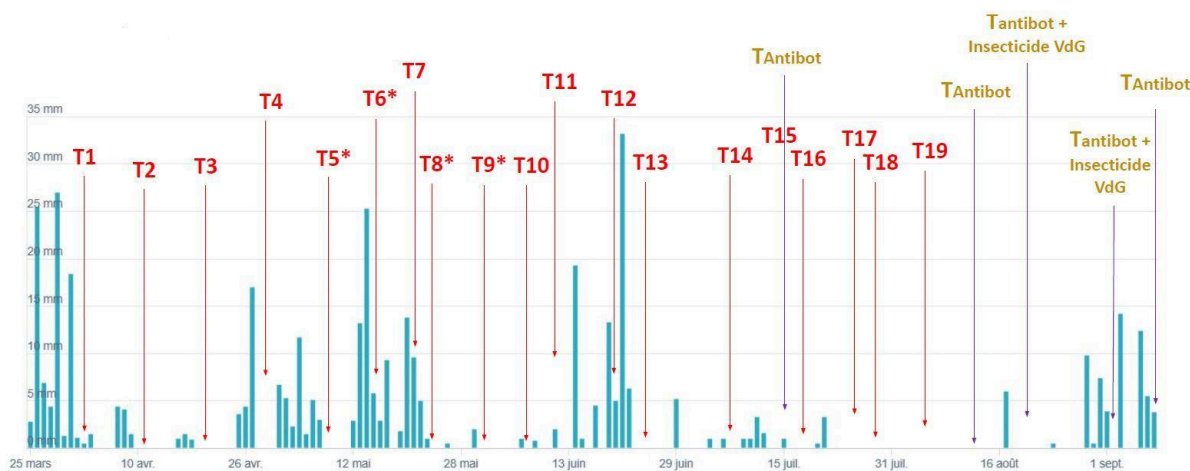


Figure 2 : mise en parallèle de la pluviométrie et des différents traitements phytosanitaires réalisés sur le millésime 2024

Comme vu ci-avant, le millésime 2024 a été particulièrement pluvieux, offrant des conditions idéales pour le développement de maladie cryptogamique et en particulier le mildiou (*Plasmopara viticola*) et le botrytis (*Botrytis cinerea*).

Ainsi on peut résumer la campagne de traitement phytosanitaire comme suit : 19 traitements anti-mildiou s'étalant du 4 avril au 13 août ; 5 traitements de bio-contrôle anti-botrytis ; 3 traitements insecticides obligatoires anti-cicadelle de la flavescence dorée (*Scaphoideus titanus*) ; et 2 traitements insecticides anti-ver de grappe (*Eupoecilia ambiguella*).

En comparaison, la campagne de traitement 2023 a prodigué 15 traitements anti-mildiou ; 3 traitements de bio-contrôle anti-botrytis ; et 1 traitement insecticide.

On remarque ainsi deux choses, premièrement la météo s'est vraiment fait ressentir en termes de pression maladie, avec +4 traitements contre le mildiou et +2 traitements contre le botrytis en comparaison de 2023. Deuxièmement, cette météo a visiblement favorisé le développement de ravageurs, d'habitude plus facilement maîtrisés, avec 4 traitements insecticides supplémentaires en comparaison de 2023.

La pression ver de la grappe en particulier s'est révélée inédite puisque c'est la première fois qu'un insecticide est utilisé sur le secteur de Castillon depuis le rachat de ces vignes. Habituellement, les ravageurs de types Eudémis et Cochylys sont maîtrisés via une stratégie de confusion sexuelle avec des produits de biocontrôle RAK (à une densité de 600 Rak par hectare). Ce produit diffusant des phéromones sexuelles femelles va, par un système de maillage équitablement réparti sur la parcelle, désorienter les mâles et empêcher la reproduction.

Cette gestion est d'autant plus critique que le développement de ces insectes va engendrer, par les perforations qu'ils réalisent sur les baies, un terrain favorable au développement de *Botrytis cinerea*.

Grâce à des comptages réalisés par l'équipe et des prestataires spécialisés, l'équipe technique s'est rapidement rendu compte que le système biocontrôle n'a pas été suffisant pour endiguer ces ravageurs sur certains secteurs. Ces comptages effectués de manière régulière pendant la campagne de traitement s'intéressent au nombre d'œufs, de larves et de perforations rencontrés sur les parcelles surveillées.

La mise en œuvre de ce protocole a permis une bonne réactivité et une adaptation du programme de traitement aux conditions et au cycle de vie des différents ravageurs de la vigne et ainsi éviter un débordement aussi bien des vers de grappe que des contaminations de *Botrytis cinerea* en découlant.

Les différents traitements sont pilotés après observations des conditions météorologiques, du stade phénologique de la vigne et des symptômes de maladie observés sur le terrain. Mais le critère principalement pris en compte dans la prise de décision reste les conditions météorologiques, en particulier les prévisions de pluviométrie annoncées. Ce dernier point est un enjeu critique pour les vignobles. En effet, les équipes décisionnaires ne disposent que de peu de ressources fiables pour prévoir les futures précipitations. Or c'est bien ce critère qui guide la reconduite des traitements au fil des semaines ainsi que la quantité et le type de produit à appliquer.

Château Angélu s a fait un essai de conduite de vignoble en agriculture biologique. Cet essai est survenu sur le millésime 2021, météorologiquement très compliqué, et c'est conduit par une perte de rendement importante et par un arrêt progressif de la conduite en agriculture biologique.

Aujourd'hui le vignoble est tenu en agriculture conventionnelle, se limitant si possible à l'utilisation de produits biologiques et sans utilisation de CMR, mais tout en se réservant le droit de sortir de ce cadre si les conditions météorologiques l'imposent.

Les équipes techniques peuvent compter sur un nombre de tracteurs équipés de pulvérisateurs importants et sur un nombre de tractoristes suffisant. Il est donc possible d'être très réactif et de traiter l'ensemble de la propriété en un jour, ce qui a été déterminant pour profiter des faibles fenêtres de traitement laissées disponibles par la météo sur cette campagne 2024.

Le garage viticole a récemment été remis à neuf avec un poste de préparation des produits phytosanitaires performant et permettant de travailler en sécurité pour les manipulateurs et de manière efficace dans un souci d'optimisation de temps.

1.6 Conclusion

Le château Angélu s dispose de moyens conséquents, tant du point de vue humain que matériel. L'implication sans faille des différents acteurs intervenant au sein de tout ce processus de production viticole permet un travail de précision, de qualité et une réactivité d'autant plus primordiale que le millésime est complexe comme ce fut le cas en 2024.

Au cours des quatre millésimes que j'ai pu passer au château Angélu s, j'ai eu la chance d'intervenir sur la quasi-totalité de ces opérations, d'avoir une vision globale et complète de la tenue d'un vignoble de la stature d'Angélu s. Si les producteurs de la filière ne disposent pas tous des mêmes moyens, il est toujours très formateur d'avoir accès à une vision d'excellence et de voir cet aspect particulier du monde viticole.

1.6.1 Analyse critique du millésime

Comme expliqué plus largement dans cette partie, les conditions climatiques particulièrement désavantageuses ont présenté une menace constante tout au long de la campagne, et même pendant les vendanges. La pression maladie a été sans discontinuer dès le débourrement et s'est prolongé avec un risque accru de *Botrytis cinerea* au moment des vendanges.

Cette pression maladie s'est fait ressentir sur la vigne mais également sur les équipes opérationnelles. Ces dernières ont ainsi vécu une saison particulièrement éprouvante, aussi bien du côté des tractoristes avec des journées de traitement régulières, que du pôle manuel qui a dû jongler

entre leur travail dans les vignes et les parcelles à traiter, et a bien souvent travaillé dans des conditions humides et fraîches.

Les maturités phénoliques habituellement recherchées ont donc été compliquées à attendre et certains choix de date de récolte ont été réalisés par défaut au risque d'une perte de rendement trop importante.

Fort heureusement, grâce à une équipe viticole dévouée à la réalisation d'un travail de qualité et à une campagne de traitement intense mais efficace, la plupart des parcelles ont pu exprimer un potentiel certain. Le pôle manuel, en grande partie internalisé, a grandement contribué à l'adaptation des pratiques. En effet, un effeuillage plus strict a été pratiqué dans le but d'une aération maximale du feuillage et pour exposer les grappes au soleil dans le but d'accélérer la maturité. De la même manière, une seconde session de vendange en vert a été réalisée. Plus tardive qu'à l'accoutumée, l'objectif a été de supprimer les grappes touchées ou présentant un retard de maturité, et surtout de légèrement diminuer la charge par pied pour là encore faciliter la maturité.

De plus, l'outil de production vinicole présenté ci-après a fait preuve d'une efficacité remarquable et a permis de transformer une récolte satisfaisante en un vin à la hauteur de sa renommée.

2. Œnologie

L'unité de production est divisée en deux chais. Le premier sur le site historique du Château Angélus est utilisé uniquement pour la vinification du premier vin. Historiquement le cuvier était composé de cuves avec trois matériaux classiquement utilisés que sont le bois, l'inox et le béton. Cette année, et depuis 2022, le cuvier de vinification est en travaux pour rénovation complète de l'appareil de production. Un cuvier temporaire a été installé à un autre endroit du château en utilisant certaines cuves de l'ancien cuvier. Ce cuvier temporaire est constitué en majorité de cuves inox thermo-régulées de 85hL et des cuves bois de 77hL. Ces travaux devraient se terminer courant 2025 pour accueillir les vendanges de ce futur millésime et offrira un outil de production moderne axés autour d'un cuvier suspendu permettant un travail gravitaire.

La partie élevage ne fait pas partie des rénovations. Elle est segmentée en deux chais à barrique. Le premier accueille les vins d'un an et le second les vins de deux ans. C'est dans le premier chai que se trouvent également quatre foudres en chêne français de 30hL, ainsi que deux autres de 12hL, utilisés pour l'élevage de certains lots de cabernet franc.

Ces chais offrent toutes la technologie moderne nécessaire à l'élevage des vins et en particulier un contrôle de la température et de l'humidité.

Le second chai, nommé Chai Carillon, fut construit récemment et est effectif depuis les vendanges 2019. Il est composé de cuves inox de différents volumes, segmenté en trois parties, et avec comme partie centrale 21 cuves inox tronconiques inversées et suspendues de 76hL. C'est dans cette partie qu'est vinifiée la majorité du second vin Carillon d'Angélus. Les autres vins produits dans ce chai sont également vinifiés en cuves inox. Ces dernières sont plus classiques, de volumes différents (allant jusqu'à 300hL pour les plus volumineuses), certaines étant équipées de systèmes de remontage automatique.

Toutes ces cuves sont thermo-régulées, et peuvent facilement faire l'objet d'un inertage à l'azote.

La partie élevage est composée d'un chai à barrique pour les vins rouges et d'un chai différent pour les vins blancs qui sont entonnés directement après pressurage.

Un troisième chai est également utilisé. Ce chai de taille beaucoup plus modeste sert principalement à accueillir la vendange des parcelles un peu moins qualitatives. Ainsi les cuviers d'Angélus et de Carillon sont délestés d'une partie de leur vendange, permettant un travail plus précis sur ces cuviers et une charge de travail plus confortable pour les équipes d'Angélus (ce qui n'est pas négligeable considérant les travaux y prenant place). Ce cuvier est composé de cinq cuves inox (entre 100 et 120hL pour un total de 540hL) et de plusieurs cuves bétons (qui ne sont pas utilisées pour les vinifications mais seulement pour l'élevage et/ou pour les mouvements de vin). De la place est disponible pour entreposer jusqu'à 40 barriques pour réaliser un élevage sur place.

Enfin la réception peut s'adapter à de la vendange manuelle au besoin (avec un érafloir linéaire à haute fréquence et un système de tri par lame d'air) ou à de la vendange machine (et une réception qui se fait directement par pompe à marc).

2.1 Contrôles maturités

Le choix de la date de vendange (étape primordiale et dont dépend grandement la qualité du futur vin) est effectué par des contrôles de maturités réguliers, et la dégustation des baies par l'équipe technique.

Ces contrôles de maturités sont réalisés sur l'ensemble du parcellaire. La première étape est le prélèvement de 200 baies de manière aléatoire et homogène sur la parcelle. Ce prélèvement est ensuite analysé par le laboratoire Œno-Lab. Sont analysés, les sucres réducteurs, le TAVp, l'acidité totale, l'acide malique et l'azote assimilable.

En complément de ces analyses, la dégustation des baies permet d'apprécier la composante fruitée des baies, la diminution des notes végétales, l'absence d'amertume et la composante tannique des pépins.

Ces deux outils de décisions sont mis en parallèle de l'état sanitaire de la parcelle et des prévisions météorologiques qui peuvent avoir un impact considérable sur le choix final de la date de récolte.

2.2 Vendanges, réception et encuvage

Suivant les parcelles, et en lien avec le type de vin produit, des vendanges manuelles et mécaniques sont réalisées.

Les vendanges manuelles sont réalisées grâce à une équipe d'intérimaires de prestataire de service pouvant compter jusqu'à 80 personnes réparties en équipe de quatre coupeurs et un porteur sur deux rangs. Les grappes sont ensuite réparties et transportées en cagettes de 50L permettant d'éviter tassement et trituration des baies. Ces cagettes sont transportées par plateau remorque jusqu'au chai.

Pour la réception d'Angélus, les cagettes sont déversées sur un tapis convoyeur à bande inclinée permettant d'amener les grappes jusqu'à un érafloir pendulaire. Les baies sont ensuite amenées via une table vibrante jusqu'à un bain densimétrique. Cet outil sélectionne les baies en les faisant passer dans un bain d'eau et de sucre dont le mélange présente une densité égale à la densité voulue. Les baies ainsi sélectionnées sont ensuite transportées jusqu'à des cuvons roulant grâce à une table vibrante ajourée. Ces cuvons amènent la vendange jusqu'à un nouveau tapis convoyeur à bande inclinée qui la transporte en haut des cuves où elle est foulée.

Pour la réception de la vendange manuelle au chai Carillon, elle est sensiblement équivalente à celle d'Angélus, mis à part le bain densimétrique qui est remplacé par une table de tri optique.

Le chai Carillon possède une seconde réception de vendange spécifique à la vendange machine. Les grappes sont préalablement éraflées sur la machine à vendanger et les baies sont triées au chai par une table de tri à rouleaux. Elles sont ensuite encuvées par une pompe à marc.

Que ce soit sur le chai Angélus ou Carillon, l'encuvage et les vinifications sont réalisés en fonction du parcellaire. Chaque cuve représente une parcelle ou un ensemble de petites parcelles présentant des caractéristiques similaires.

2.3 Opérations pré-fermentaire

La vinification à Angélus débute par une étape clef, une macération pré-fermentaire à froid. Les raisins sont donc encuvés avec un ajout régulier de dioxyde de carbone solide. Cet ajout permet un inertage et un refroidissement de la cuve. Les jus sont également refroidis à l'aide d'un échangeur tubulaire avec un groupe froid externe à la cuve permettant d'atteindre des températures très basses comprises entre 0° et 5°C.

Cette macération préfermentaire à froid est utilisée pour une extraction des anthocyanes et des précurseurs d'arômes. Elle permet ainsi une extraction de ces composés d'intérêts de manière contrôlée et étalée.

Aucun ajout de SO₂ n'est réalisé pendant cette étape. En revanche, un pré-ensemencement est réalisé avec une levure Actiflore F33 de Laffort, une *Saccharomyces cerevisiae*, à une dose de 5 g/hL. Elle a pour rôle une bioprotection en occupant le milieu.

La durée de la macération est dépendante du profil aromatique de la cuve et du potentiel départ en fermentation.

En parallèle de cette étape, un remontage d'homogénéisation est réalisé et un échantillon de jus est pris puis envoyé au laboratoire d'analyse. Cette analyse s'intéresse au TAVp, la quantité de sucre réducteur, pH, AT, azote assimilable et acide malique. Ces analyses nous permettent d'anticiper les futures corrections à apporter.

2.4 Fermentation alcoolique

Lorsque le départ en fermentation est décidé par l'équipe technique, les cuves sont réchauffées aux alentours de 22°C. Un deuxième ensemencement de la même levure est réalisé à 15 g/hL, permettant un bon départ en fermentation.

Au cours de la fermentation, l'extraction des composés d'intérêts se fait uniquement par délestages et remontages. Le nombre de délestage, ainsi que le nombre et la durée des remontages sont décidés de manière quotidienne par l'équipe technique. Cette décision est guidée par la dégustation de chaque cuve, ainsi que l'évolution de la densité, qui sont les deux moyens de suivre l'évolution de la fermentation.

Une adjonction d'azote assimilable (sous forme de Thiazote) peut être réalisée dans les moûts carencés (soit inférieur à 140 mg/L) pour atteindre une valeur proche de 150 mg/L d'azote assimilable. Cet ajout est réalisé à mi-fermentation, aux alentours d'une densité de 1060. De plus,

pour une bonne multiplication cellulaire et obtenir une population de levures viables pour mener à bien la fermentation alcoolique, de l'oxygène est apporté au moût à la même densité. Cet apport se fait sous la forme d'un remontage aéré.

En fin de fermentation, la température est augmentée à 26°C et des mouillages sont réalisés pour garder le marc humide et éviter des montées de volatiles. Du dioxyde de carbone solide est également régulièrement ajouté pour garder une atmosphère inerte dans le ciel de cuve. Des échantillons sont également envoyés au laboratoire pour des analyses de fin de fermentation. Ces analyses nous permettent de confirmer que la totalité des sucres réducteurs ont été consommés (soit une concentration en glucose/fructose inférieure à 0,2 g/L), ainsi que sur la concentration en acide acétique (permettant de contrôler une future piqûre) et en acide malique pour un contrôle de la fermentation malolactique à venir.

2.5 Opérations post-fermentaire

2.5.1 Macération post-fermentaire à chaud

Une fois la fermentation réalisée, une macération post-fermentaire à chaud est réalisée. Elle a pour but une extraction des composés polyphénoliques et en particulier une extraction et une polymérisation des tanins. Cette macération est réalisée à 26°C et la durée dépend de la dégustation. La dégustation recherche une diminution de l'astringence et une augmentation du volume en bouche. Dans tous les cas, on cherche à éviter une apparition d'arômes de marc.

D'un point de vue pratique, et au-delà de l'aspect oenologique, cette macération permet également d'étaler le travail au chai (que sont les écoupages, décuvages et entonnages).

2.5.2 Écoulage et pressurage

Lorsque la durée est jugée suffisante, la cuve est écoulée. Le vin de goutte est définitivement séparé du vin de presse et l'origine parcellaire des cuves est préservée (l'assemblage étant réalisé à la toute fin de l'élevage).

Le marc est décuvé manuellement, puis pressé dans un pressoir horizontal pneumatique inerté à l'azote. Le programme de pressurage est relativement court, avec une pression démarrant à 400mb puis progressant par paliers pour atteindre 1600 mb.

Les jus de presses sont assemblés (en gardant séparé les merlots et les cabernets francs), sont collés à la PVPP (20g/hL), puis filtrés sur filtre tangentiel.

2.5.3 Fermentation malo-lactique

L'équipe technique cherche à privilégier la réalisation de la fermentation malo-lactique en barrique. Ainsi après écoulage les vins sont entonnés en barriques bordelaises neuves de 225L. Ces barriques sont positionnées dans le chai de première année permettant de maintenir une température de 20°C. Des analyses sont régulièrement effectuées pour vérifier l'avancement de la FML. Cette dernière est considérée terminée lorsque la concentration en acide malique est inférieure à 0,2 g/L.

2.6 Élevage

Une fois la FML terminée pour l'ensemble des lots, la température du chai est fixée à 12°C pour le reste de l'élevage. Des contrôles mensuels sont réalisés afin de surveiller l'évolution de l'acidité volatile, la concentration en phénols volatils, la population microbienne présente (en particulier *Brettanomyces bruxellensis*) et la concentration en SO₂ libre. Ces contrôles permettent de s'assurer que le produit final ne présente pas de caractères oxydatifs ou de déviations.

Si un ou plusieurs lots présente un début de déviation, des mesures peuvent être mises en place. Cela concerne en particulier la présence de *B. bruxellensis*, qui peut déclencher au choix un soutirage, un ajout de chitosan, et/ou une filtration stérile.

Pour éviter cela, et en lien avec ces analyses, un ouillage régulier est réalisé (pour garder les barriques à un volume maximum et contrer l'évaporation naturelle à travers le bois). Un ajustement en SO₂ est également effectué pour garder une concentration en SO₂ libre entre 30 et 35 mg/L.

Des dégustations régulières sont organisées pour suivre l'évolution du profil aromatique des lots. Suivant le résultat de ces dégustations, des soutirages peuvent être réalisés pour séparer le vin des lies. Au cours de ces soutirages, les barriques sont lavées à l'eau claire, désinfectées à la vapeur et méchées au soufre.

L'élevage dure 22 mois à Angélu et 18 mois pour Carillon.

Une étape importante de l'élevage est la période des primeurs. En effet, cette période spécifique du vignoble Bordelais désigne la vente des vins encore en élevage. Les vins sont donc présentés en avant-première aux journalistes, négociants et acheteurs du monde entier. Comme tous les vignobles qui y participent, Angélu prêche un soin particulier à ce moment. Ainsi de nombreuses dégustations de tous les lots sont réalisées, et différents essais d'assemblages sont réalisés. En effet, tous les lots ne sont pas ajoutés à l'échantillon final, certains étant plus avancés que d'autres dans leur phase d'élevage. Le but final de ces dégustations étant de proposer un échantillon primeur représentatif du millésime et fidèle à ce que sera le futur vin une fois embouteillé.

2.7 Assemblage final

Les différents lots jugés aptes à produire du château Angélu sont assemblés, la dose de SO₂ libre finale est ajustée puis une filtration tangentielle est opérée. Cette dernière opération confère une stabilisation microbiologique optimale et une turbidité finale proche de 2 NTU permettant d'obtenir un produit correspondant aux attentes des consommateurs.

Enfin le vin est mis en bouteille par un prestataire externe, sous atmosphère inerte grâce à de l'azote.

Les opérations sont les mêmes pour les vins du chai Carillon.

2.8 Conclusion

Comme explicité sur la partie viticole, ces quatre millésimes réalisés au château Angélu m'ont donné l'opportunité de participer à l'ensemble des opérations oenologiques qui y sont pratiquées. J'ai énormément appris d'un point de vue théorique et surtout pratique sur la période des vendanges, des vinifications et sur la conduite d'un chai. La gestion quasi-autonome de ce troisième chai pendant ces deux derniers millésimes m'a permis de vraiment gagner en autonomie et en ingéniosité sur des volets à la fois complexes mais aussi basiques de la vie dans un cuvier et un chai.

Cette expérience m'a ainsi transmis mon amour profond pour le travail en cave, que ce soit au quotidien mais aussi sur les aspects théoriques inhérents, et m'a donné envie d'en apprendre et d'en voir encore plus lors de mes expériences futures.

2.8.1 Analyse critique du millésime

Comme vu précédemment, le millésime 2024 fut particulièrement compliqué. L'étape clef de ce millésime, et qui sera l'élément déterminant permettant de départager la qualité des vins produits par les différentes propriétés de l'appellation, est le choix de la date des vendanges. Si ce point est bien évidemment déterminant pour chaque millésime, il l'est d'autant plus lors de millésime particulièrement complexe comme ce fut le cas pour 2024.

Les pluies incessantes de ce millésime, y compris pendant la période des vendanges, ont obligé l'équipe technique à prendre des choix par défauts plutôt que guidés par des considérations oenologiques, et ce pour éviter la diminution significative de la quantité de récolte par *Botrytis cinerea*.

Sur le chai Angélu (où j'étais positionné pour ces vendanges et vinifications), les vendanges ont débuté le 20 septembre avec les premiers merlots. Elles ont continué de manière quasiment ininterrompue jusqu'au 28 septembre avec les derniers cabernets francs.

Une attention particulière a également été portée sur la réception de la vendange, et en particulier le tri. Le bain densimétrique représente la voûte centrale de ce tri. Avec un réglage autour de 1080 pendant toute la durée des vendanges, le bain densimétrique a permis un tri de qualité.

Au chai, la macération pré-fermentaire à froid a été abandonnée sur la quasi-totalité des cuves. En effet la qualité des raisins (malgré un tri strict) et la possible présence de vendange altérée par *Botrytis cinerea* a enclin l'équipe technique à démarrer directement les fermentations par un levurage direct de la cuve à 20 g/hL.

En parallèle des tests de l'activité laccase ont été réalisés sur chaque cuve. La laccase, produite en particulier par *Botrytis cinerea*, est une enzyme oxydasique responsable de l'oxydation rapide des composés d'intérêts du moût et du vin (polyphénols et composés aromatiques). Ce test laccase nous renseignant sur la concentration de cette enzyme dans le moût a permis à l'équipe technique d'ajuster la quantité de SO₂ ajouté à la cuve. Sur des millésimes plus classiques, il n'y a pas de SO₂ ajouté au moût, mais ici, en fonction du résultat du test, une dose de 3 à 5 g/hL a pu être ajoutée. Cependant grâce au tri strict et un choix de date de vendange permettant de minimiser l'altération des raisins, les tests laccases se sont révélés négatifs dans la majorité des cas.

J'ai pu, pour le deuxième millésime consécutif, m'occuper du troisième chai de vinification. J'ai pu lors du millésime 2023 remettre complètement ce chai en état de fonctionnement (car non utilisé depuis des années) et y réaliser les vinifications 2023 et m'occuper de la réception de la vendange et des vinifications du millésime 2024. Cela sous les ordres et la supervision du responsable vinicole.

Dans ce chai, nous avons pu expérimenter plusieurs techniques afin de pallier la faible qualité de la vendange.

Des copeaux de chêne ont été ajoutés aux cuves à une dose de 10 g/hL. Ces copeaux sont utilisés non pas pour l'aspect aromatique qu'ils représentent mais pour l'ajout de tanins. En effet, la maturité polyphénolique étant globalement plus faible sur ce millésime, ces copeaux sont utilisés pour contrer ce problème.

Les ellagitanins apportés par ces copeaux permettent d'augmenter la concentration totale en tanin du moût et donc de favoriser la stabilisation de la couleur en formant des pigments polymérisés. Une solution alternative aurait pu être d'utiliser des tanins oenologiques. En effet, ces tanins sont spécialement conçus pour enrichir le goût de ces polyphénols. Après réflexion, l'équipe décisionnaire a préféré l'utilisation des copeaux.

De plus, les premières analyses de ce troisième chai montrent des pH bas (entre 3 et 3,5) et des TAVp faibles (entre 11 et 12%). Ces données ne sont plus en phase avec les attentes des consommateurs

concernant un grand cru classé du Bordelais. Si cela n'a pas été une problématique sur le chai Angélu qui a trouvé une maturité suffisante pour se passer de chaptalisation, nous avons dû sur ce troisième chai opérer un enrichissement en sucre sur plusieurs cuves.

Enfin, le dernier point d'adaptation au millésime concerne l'élevage. La totalité du vin sera élevé en barrique, mais une faible proportion de barriques d'un vin sera ajoutée au parc de barrique qui est normalement composé de 100% de barriques neuves. Ainsi une petite partie des merlots ont été entonnés dans une 20aine de barriques d'un vin du millésime précédent. L'équipe technique, après les premières dégustations, a jugé que la matrice du vin n'a pas besoin d'une trame tannique apportée par 100% de barriques neuves. Ainsi, l'impact aromatique du bois sera moindre et le vin profitera tout de même de la micro-oxygénation qu'apporte ce contenant.

3. Expérimentation

Sujet : Acidification biologique d'un moût de merlot par une levure non-saccharomyces *Lachancea thermotolerans* dans un contexte de vinification utilisant la macération préfermentaire à froid.

L'acidité est un paramètre essentiel dans l'équilibre organoleptique des vins, jouant un rôle majeur dans la perception de la fraîcheur, de la structure et de la longueur en bouche. Parmi les principaux acides présents naturellement dans le vin, l'acide tartrique, l'acide malique et l'acide lactique contribuent à des sensations distinctes de vivacité et de rondeur. Cependant, le changement climatique, en favorisant des maturations plus rapides et plus complètes, entraîne une diminution des niveaux d'acidité naturelle et une augmentation du degré alcoolique. Ce déséquilibre peut altérer la perception d'harmonie dans les vins, les rendant parfois lourds et moins attrayants pour le consommateur.

Face à cette évolution, les vinificateurs se tournent souvent vers des techniques de correction de l'acidité lors de millésimes plus solaires comme ce fut le cas en 2022 par exemple.

La principale technique de correction est l'ajout d'acide tartrique. Cet ajout peut se faire à différentes étapes de la vinification ou de l'élevage des vins mais peut présenter plusieurs contraintes.

Face à ces contraintes, la bio-acidification grâce à des levures sélectionnées (saccharomyces ou non) est une innovation prometteuse qui mérite d'être explorée.

Si la mécanique d'utilisation de ces levures est relativement bien connue par le monde de la recherche, elle doit encore être pleinement maîtrisée par la production. C'est particulièrement vrai lors de méthodes de vinifications "atypiques" comme peut l'être l'utilisation d'une macération préfermentaire à froid, créant un milieu stressant pour les populations microbiennes d'intérêt.

Le but de cette expérimentation est donc la réalisation d'une étude expérimentale à petite échelle nous permettant d'appréhender ces différents paramètres afin de mettre au point un protocole d'utilisation optimisé de ces levures acidifiantes s'adaptant au processus de vinification mis en place au château Angélus.

3.1 Bibliographie

3.1.1 De l'importance de l'acidité

L'acidité est une notion prépondérante de l'activité du vinificateur. Elle joue un rôle fondamental dans l'équilibre et la fraîcheur du vin, influençant directement la perception gustative en apportant vivacité et structure.

Dans les vins rouges, elle participe à la stabilisation de la couleur, favorisant la fixation des anthocyanes. Dans un milieu acide, les anthocyanes forment des liaisons plus stables avec les tanins, ce qui renforce la couleur et lui permet de mieux se maintenir dans le temps. En outre, cette stabilisation favorisée par l'acidité contribue à une couleur plus vive et plus intense, recherchée pour l'aspect visuel du vin [2], [31].

L'acidité agit également comme un facteur protecteur contre les micro-organismes. Un milieu à la fois acide et riche en alcool représente des conditions extrêmes limitant la prolifération de la plupart des micro-organismes (et de tous les micro-organismes pathogènes pour l'homme).

De plus, les pH bas favorisent l'efficacité du SO₂. En effet, la proportion de SO₂ actif est fortement dépendante du pH : plus le pH est bas, plus la fraction de SO₂ actif augmente. À un pH élevé, la proportion de SO₂ actif diminue, ce qui oblige à ajouter davantage de SO₂ pour obtenir le même niveau de protection. Ainsi, une bonne acidité dans le vin permet de limiter les doses de SO₂ nécessaires, tout en renforçant l'effet antimicrobien naturel de l'acidité, offrant une double barrière de protection pour la stabilité du vin.

Elle est également un critère déterminant dans le choix de la date des vendanges, car un bon équilibre entre sucre et acidité est essentiel pour obtenir des vins harmonieux. L'acide malique en particulier est observé au travers des analyses pré-récoltes car il est un indicateur de l'activité biologique mis en place lors de la maturation des raisins.

En résumé, un vin peut manquer de tanins ou de certaines molécules aromatiques, mais l'acidité, en raison de la forte proportion d'acides organiques présents dans le raisin, joue un rôle essentiel dans sa composition.

3.1.2 La bio-acidification vs acidification classique

Comme discuté précédemment, le changement climatique a déjà un impact majeur sur le profil aromatique des vins et sur les méthodes de viticulture. Malgré des politiques nationales et internationales visant à limiter ou arrêter ce changement, il est fort à parier que ses effets vont s'accroître dans les millésimes à venir [3]. Il est donc important de réfléchir dès maintenant à des moyens permettant de pallier ces problématiques.

Ainsi on observe une acidité des vins ayant tendance à diminuer au fil des années. Jusqu'ici, la méthode la plus courante pour augmenter l'acidité d'un vin est l'ajout d'acide tartrique.

L'acide tartrique est l'acide principal du raisin et donc du vin. Cet ajout est strictement encadré par la réglementation de l'UE. Bien qu'ils soient beaucoup moins utilisés, d'autres acides organiques sont utilisables pour l'acidification et en particulier les acides malique, citrique ou lactique. Ces acides lorsqu'ils sont utilisés à des fins d'acidification constituent donc des intrants œnologiques. Or les consommateurs d'aujourd'hui et les modes de consommations actuels sont particulièrement sensibles à la diminution d'intrants dans les produits alimentaires. C'est vrai pour beaucoup de produits et en particulier pour le vin qui connaît une modification profonde des habitudes et modes de consommation [4]. Ainsi l'utilisation de méthodes pouvant être jugées plus naturelles peut être une alternative intéressante, en particulier pour l'acidification.

De plus l'acide lactique possède les avantages d'être relativement stable vis à vis des activités microbiennes, de ne pas précipiter sous forme de sels insolubles et de conférer une acidité douce, sans aucune note lactées, et bien intégrée au vin.

Un deuxième avantage que nous pourrions trouver à l'acidification biologique est la simplicité de sa mise en œuvre. Après avoir discuté avec une partie de l'équipe de production (et en particulier les travailleurs de chai), certains préféreraient l'acidification par levure que par ajout d'un acide quelconque. En effet, selon ces mêmes personnes, un simple levurage en début de fermentation demanderait moins de temps que l'ajout d'acide pendant ou post-FA. Bien que ces considérations ne soient pas centrales lors des prises de décisions, il est important que les demandes de la direction ne soient pas perçues comme un frein par l'équipe technique [5], [6].

3.1.3 *Lachancea thermotolerans*

Lachancea thermotolerans est une levure appartenant à la famille des Saccharomycetaceae. Elle est souvent présente sur la peau des raisins, mais aussi dans divers environnements naturels comme le sol, les fruits en décomposition et d'autres substrats végétaux.

La levure a été initialement décrite sous le nom de *Kluyveromyces thermotolerans* et ce n'est qu'à la fin des années 1990 qu'elle a été reclassée dans le genre *Lachancea* [33]. Ce changement de nom a suivi des études génétiques approfondies montrant que ses caractéristiques taxonomiques la différencient des autres levures du genre *Kluyveromyces* [33]. La levure doit son nom de genre à Marc-André Lachance, un microbiologiste et spécialiste des levures.

Cette levure est thermotolérante, capable de survivre et d'agir à des températures relativement élevées (d'où son nom). Elle se développe bien en conditions anaérobies ou semi-aérobiques, ce qui en fait un micro-organisme adapté aux milieux de fermentation, bien que son rôle en œnologie n'ait été exploré que récemment avec le développement des méthodes de vinification basées sur les levures non-Saccharomyces.

Morphologiquement, elle se présente sous forme de cellules ovales à ellipsoïdes, mesurant généralement de 3 à 6 micromètres de longueur [9]. Ces cellules peuvent se développer en groupes ou en chaînes courtes lorsqu'elles prolifèrent dans des milieux riches en substrats [9].

Cette levure se reproduit majoritairement par bourgeonnement, mais elle est également capable de former des ascospores lors de la reproduction sexuée en conditions favorables. On peut reconnaître *Lachancea thermotolerans* en laboratoire par ses colonies blanchâtres et lisses, souvent similaires à celles de *Saccharomyces cerevisiae*, bien que des tests biochimiques et des analyses génétiques soient nécessaires pour une identification précise [21].

Elle est capable de métaboliser le glucose et d'autres sucres fermentescibles en produisant de l'acide lactique comme métabolite principal, en plus de quantités modérées d'éthanol et de CO₂ [9], [11], [35]. Ce métabolisme lactique distinct repose sur l'activité enzymatique de la lactate déshydrogénase, une enzyme peu commune chez les levures fermentaires, qui transforme les sucres en acide lactique dans des conditions de fermentation [11], [35].

Elle est dite thermotolérante car elle supporte des températures plus élevées que celles tolérées par de nombreuses autres levures, pouvant se développer efficacement entre 15 °C et 42 °C [9], [22], [34]. Cette tolérance thermique est due en partie à sa membrane cellulaire, composée de lipides spécifiques qui assurent une meilleure stabilité à des températures élevées [22], [34]. Cela lui confère un avantage écologique dans les environnements fluctuants, où les conditions de température peuvent être moins favorables aux autres levures. En plus de la tolérance à la chaleur, elle supporte des conditions de faible acidité, ce qui lui permet de coloniser divers substrats naturels et de résister dans des écosystèmes parfois stressants. Ces caractéristiques font de *Lachancea*

thermotolerans une levure versatile sur le plan écologique et métabolique, capable de s'adapter à une variété de conditions environnementales [32].

Lachancea thermotolerans possède une activité métabolique unique parmi les levures fermentaires, notamment par sa capacité à produire de l'acide lactique en plus de l'éthanol lors de la fermentation des sucres. Son métabolisme repose principalement sur la fermentation des hexoses, comme le glucose et le fructose, qui sont utilisés comme substrats. Contrairement à la plupart des levures œnologiques qui convertissent presque exclusivement les sucres en éthanol et en dioxyde de carbone, *Lachancea thermotolerans* utilise une voie métabolique partiellement fermentaire, dans laquelle une fraction des sucres est transformée en acide lactique, ce qui lui confère une spécificité biologique intéressante [9], [10], [11], [35].

Pendant la fermentation, le glucose et le fructose sont métabolisés via la glycolyse, produisant du pyruvate comme intermédiaire central. Ce pyruvate peut être utilisé de deux manières principales :

Conversion en acide lactique : Une enzyme clé, la lactate déshydrogénase (LDH), catalyse la conversion directe du pyruvate en acide lactique. Cette enzyme est peu courante chez les levures fermentaires, mais elle permet à *Lachancea thermotolerans* de produire de l'acide lactique, un acide organique qui diminue le pH du milieu. Ce métabolisme lactique est partiellement anaérobie et favorisé en conditions de fermentation [9], [35].

Conversion en éthanol : Simultanément, une partie du pyruvate suit la voie de la fermentation alcoolique typique, convertie en éthanol via la décarboxylation du pyruvate en acétaldéhyde par la pyruvate décarboxylase, puis en éthanol par l'alcool déshydrogénase (ADH). Cette voie libère du CO₂ et est également anaérobie [9], [35].

Ainsi, le métabolisme de *Lachancea thermotolerans* produit de l'acide lactique, de l'éthanol, du CO₂ et en plus faibles quantités, des métabolites secondaires comme le glycérol et des acides organiques mineurs. Le ratio entre éthanol et acide lactique peut varier en fonction des conditions environnementales, telles que la température et la disponibilité en oxygène, car ces facteurs influencent l'expression de la LDH et de l'ADH [9], [10], [11].

En effet, *Lachancea thermotolerans* est thermotolérante, ce qui signifie qu'elle peut se développer dans une large gamme de températures, avec une capacité à bien fonctionner même à des températures élevées (jusqu'à environ 42 °C) [22], [34]. À des températures modérées (autour de 20-30 °C), la production d'acide lactique est généralement favorisée, car ces conditions sont optimales pour l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH), enzyme clé de la conversion du

pyruvate en acide lactique [22]. En revanche, à des températures plus basses ou plus élevées, on observe un ralentissement de la voie lactique, avec une augmentation relative de la production d'éthanol par l'alcool déshydrogénase (ADH), car la levure adapte son métabolisme pour optimiser sa survie et son efficacité énergétique.

La production d'acide lactique confère un avantage écologique à *Lachancea thermotolerans* dans des environnements compétitifs. En acidifiant son environnement, cette levure inhibe la croissance de certaines bactéries et levures concurrentes sensibles à une forte acidité. Cette adaptation permet à *Lachancea thermotolerans* de survivre dans des niches où d'autres levures fermentaires pourraient être désavantagées par le pH [32].

D'un point de vue oenologique, *Lachancea thermotolerans* possède différentes caractéristiques qui seront décrites ci-après.

Sa capacité fermentaire est faible/moyenne. Il a été montré qu'elle est capable de fermenter jusqu'à 8/10% d'alcool. Elle n'est donc pas capable d'effectuer une fermentation alcoolique entière dans les vins produits à Bordeaux. Il faut donc absolument l'associer à une levure *Saccharomyces* pour éviter les sucres résiduels. Cela peut se faire au moyen d'une co-inoculation ou bien d'une inoculation séquentielle [7].

La production d'acide lactique est dépendante des conditions de fermentations et de la souche considérée. Cette production varie de 1 à 16.8 g/L, entraînant une diminution de pH de 0.5 point voir plus. L'acide lactique est produit rapidement, pendant les premières heures de la fermentation. En parallèle, du sucre étant utilisé comme substrat pour la production d'acide lactique, une légère diminution du degré alcoolique final peut être observée (allant jusqu'à 0.7%) [8].

Cette levure montre une certaine tolérance au SO₂ bien que sa résistance soit inférieure à celle de *Saccharomyces cerevisiae*. Certaines souches sont capables de résister à des doses de 10 à 20 mg/L de SO₂ libres, et jusqu'à 100 mg/L de SO₂ total [9].

L'activité métabolique et fermentaire a montré une faible production d'acidité volatile, entre 0.3 et 0.5 g/L [9].

La production d'H₂S est moyenne à élevée. Cette production dépend des souches considérées et de la concentration en azote du milieu initial [9].

Enfin, *Lachancea thermotolerans* est également intéressante pour la modification de la fraction aromatique des vins. Elle produit des esters floraux tels que l'acétate de 2-phényléthyle et libère des thiols comme le 4-méthyl-4-mercaptopentan-2-one et le 3-mercaptohexan-1-ol [10], [11], [12].

Lachancea thermotolerans montre malgré tout une faible résistance aux conditions du vin. En effet, son effet est rapidement inhibé par la colonisation du milieu par *Saccharomyces cerevisiae*, et la production d'alcool en résultant. C'est donc particulièrement intéressant pour moduler son activité lors d'inoculation séquentielle ou de co-inoculation. Nous pouvons ainsi facilement profiter des effets bénéfiques de l'acidification biologique, tout en maîtrisant la quantité d'acide lactique produite. Il est cependant primordial de suivre de près le timing des inoculations (en particulier lors d'inoculations séquentielles) pour éviter une surproduction non désirée d'acide lactique, pouvant nuire à l'équilibre du vin.

3.1.4 EXCELLENCE® X-FRESH

Pour cette expérimentation, nous avons choisi d'utiliser la souche EXCELLENCE® X-FRESH produite et commercialisée par Lamothe-Abiet. Ce produit a été choisi pour deux raisons principales. La première est que c'est un produit qui correspond parfaitement aux attentes et objectifs de cette expérimentation. La seconde raison est qu'après discussion avec notre fournisseur habituel de produits œnologiques, il nous a confirmé pouvoir nous fournir ce produit facilement.

L'utilisation de cette levure est semblable à l'utilisation de LSA classiques, avec des phases de réhydratation, d'activation par ajout de moût et d'acclimatation au milieu. Ce point est important pour une utilisation future à plus grande échelle car elle assure une facilité d'utilisation pour les équipes et une minimisation des erreurs pouvant en découler.

D'après la fiche technique du produit, les effets attendus sont les suivants :

- suivant la technique employée, elle peut produire de 1 à 20 g/L d'acide lactique, entraînant une augmentation de l'acidité totale, et une diminution du pH
- une légère diminution de degré alcoolique (par la consommation de sucre fermentescible pour la production d'acide lactique), pouvant aller jusqu'à 0.5% vol. suivant la technique employée

Les deux techniques préconisées par le fabricant sont deux approches de l'acidification assez différentes. La première consiste à acidifier cuve par cuve en apportant une dose d'acide lactique relativement faible et contrôlée par la co-inoculation (ou l'inoculation séquentielle très rapprochée) de levure *S. cerevisiae*. Cette technique limiterait l'apport d'acide lactique entre 1 à 5 g/L (suivant le moment d'ajout de *S. cerevisiae* et la dose/hL de *L. thermotolerans* apportée). Cette technique permet d'adapter l'acidification souhaitée au profil de chaque cuve pour coller au mieux aux caractéristiques organoleptiques recherchées. Elle demande en revanche une attention particulière à porter aux moments d'inoculation et aux doses employés de chaque cuve.

La deuxième technique consiste en une acidification forte voir très forte d'une seule cuve sur l'ensemble du cuvier par une inoculation de *L. thermotolerans* avec une inoculation séquentielle tardive de *S. cerevisiae*. Ainsi la levure de bio acidification pourra révéler son plein potentiel d'acidification sans être arrêté par *S. cerevisiae*. Cette cuve (qui en l'état ne saurait pas coller aux standards de dégustation acceptables pour un consommateur) pourra ensuite être utilisée en assemblage pour venir acidifier d'autres cuves manquant d'acidité. Cette technique est donc particulièrement intéressante car elle permet de minimiser les sources d'erreurs possibles pendant les vinifications en lien avec le moment d'ajout de *S. cerevisiae*. Elle permet également de travailler assez précisément sur l'acidification des autres cuves par des essais d'assemblages (ce qui est propice pour Bordeaux, qui produit des vins d'assemblage). En revanche, elle nécessite de "sacrifier" une cuve qui perdra complètement son attrait seule, ses caractéristiques organoleptiques propres et sa notion de terroir. Pour un château comme Angélu, respectant une vinification parcellaire, il paraît compliqué de voir une de ses parcelles perdre de son intérêt au profit d'une telle levure.

Pour cette raison, et pour avoir une compréhension plus fine du comportement de *L. thermotolerans* en vinification, nous avons choisi d'opter pour la première technique préconisée par le fabricant.

3.2 Matériels et méthodes

3.2.1 Parcelle de l'expérimentation

Il s'agit d'une parcelle de merlot nommé « Figeac » d'une surface de 4,30 hectares.

C'est une parcelle à dominante sableuse, avec quelques graves légères en surface. La parcelle est d'un seul tenant et homogène d'un point de vue de la vigueur, des manquants et des maladies.

Cette parcelle n'a pas été choisie pour une raison agronomique particulière. En effet, mon expérimentation a été réalisée sur le lieu du chai Carillon (car n'étant pas en travaux, il est plus propice à la réalisation d'expérimentations). Or je faisais partie de l'équipe de vendange et de vinification du chai Angélu, et je me suis également occupé des vendanges et vinification du chai Roc en complément. L'utilisation de cette parcelle plutôt qu'une autre a ainsi répondu à des contraintes organisationnelles de temps et d'espace.

3.2.2 Protocole d'expérimentation

Les raisins sont vendangés, acheminés, triés et encuvés suivant le même schéma que pour toutes les cuves du chai Carillon vendangées à la main. Ainsi, des vendanges manuelles sont réalisées en caquettes de 50L qui sont ensuite acheminées par tracteur jusqu'au chai Carillon. Ces caquettes sont déversées manuellement sur un tapis convoyeur amenant les grappes jusqu'à un érafloir pendulaire.

Les raisins en résultant sont ensuite acheminés jusqu'à un système de tri optique permettant de conserver les baies les plus saines et mûres. Il sera directement foulé en suivant par un fouloir à rouleaux crénelés. Enfin le produit final de ces opérations est amené par cuvons jusqu'au-dessus des trappes des cuves, où le raisin sera déversé par gravité dans la cuve.

Une fois ces opérations réalisées, nous avons pu directement prélever 160L de jus depuis la cuve. Nous avons en effet choisi de réaliser cette expérimentation en milieu liquide seul, plutôt qu'en milieu liquide et solide. En effet, s'agissant d'une micro-vinification, il nous a paru plus judicieux de nous affranchir des parties solides pour une simplification des manipulations. Cette étude étant une étude préliminaire sur l'utilisation de cette levure, l'absence des parties solides n'entache en rien les potentiels futurs résultats obtenus concernant l'acidification.

Ces 160L sont ainsi prélevés dans un garde vin de 3hL. Ils représentent donc une masse homogène de jus qui sera ensuite divisé dans les micro-fermenteurs de l'expérimentation. Les analyses de départ sont donc réalisées à partir de ces 160L.

Ce jus est ensuite placé dans des micro-fermenteurs d'une capacité de 32L en polypropylène de qualité alimentaire possédant un robinet de dégustation facilitant prise d'échantillon et un couvercle hermétique avec barboteur intégré pour la gestion du CO₂ produit pendant la fermentation. Ils sont remplis à 20L.

Lors de ces expérimentations, quatre modalités ont été mises en place. Deux modalités témoins, et deux modalités expérimentales. Ces modalités sont définies comme suit :

1- Témoin contrôle positif - **absence de macération préfermentaire à froid** : inoculation de *Lachancea thermotolerans* à une dose de 15 g/hL puis 8/9h plus tard, inoculation de *Saccharomyces cerevisiae* (souche F33) à une dose de 20 g/hL. Noté **T+** dans les résultats ci-après

2- Témoin contrôle négatif - **absence de *Lachancea thermotolerans* / vinification classique Angélus** : macération préfermentaire à froid (entre 0 et 5°C) pendant 5 jours avec *Saccharomyces cerevisiae* (souche F33) en bioprotection (5g/hL) puis début de FA (augmentation de la T°C à 20°C) avec inoculation de *Saccharomyces cerevisiae* (souche F33) à 15g/hL. Noté **T-** dans les résultats ci-après.

3- Modalité 1 - ***Saccharomyces cerevisiae* (souche F33) en bioprotection** : macération préfermentaire à froid (entre 0 et 5°C) pendant 5 jours avec F33 en bioprotection (dose : 5g/hL) puis début de FA (augmentation de la T°C à 20°C) avec inoculation de *Lachancea thermotolerans* à une dose de 15g/hL puis 8/9h plus tard inoculation de *Saccharomyces cerevisiae* (souche F33) à une dose de 15g/hL. Noté **M1** dans les résultats ci-après.

4 - Modalité 2 - ***Metschnikowia pulcherrima* en bioprotection** : macération préfermentaire à froid (entre 0 et 5°C) pendant 5 jours avec *Metschnikowia pulcherrima* en bioprotection (dose : 5g/hL) puis début de FA (augmentation de la T°C à 20°C) avec inoculation de *Lachancea thermotolerans* à une dose de 15g/hL puis 8/9h plus tard inoculation de *Saccharomyces cerevisiae* (souche F33) à une dose de 20g/hL. Noté **M2** dans les résultats ci-après.

Chaque modalité est doublée pour offrir plus de robustesse aux analyses statistiques effectuées. Ainsi 8 micro-fermenteurs sont remplis à 20L (soit 160L).

Les préfermentaires à froid sont réalisées par ajout de glace carbonique directement dans le micro-fermenteur. On considère que 120g de glace carbonique refroidissent un volume de 20L de 1°C. Ainsi une dose de glace carbonique calculée suivant ce principe sera ajoutée en fonction de la température de départ pour atteindre à minima 5°C et un ajustement quotidien sera fait pour maintenir cette température pendant toute la durée de la macération préfermentaire à froid. Les micro-fermenteurs seront également placés dans une chambre réfrigérée à 10°C pour faciliter le maintien de cette température.

Les doses de 5g/hL en *Saccharomyces cerevisiae* en bioprotection, puis 15g/hL pour lancer la fermentation (avec donc un total de 20g/hL) sont les doses classiquement utilisées par Angélus, avec de bons résultats.

La dose de 15g/hL de *Lachancea thermotolerans* est la dose préconisée par le fabricant pour une acidification modérée (entre 2 et 4 g/L d'acide lactique produit).

La dose de 5 g/hL de *Metschnikowia pulcherrima* est celle préconisée par le fabricant pour une bonne bioprotection dans le cas de faible température. Notre choix s'est porté sur la souche ZYMAFLORE® KHIO produite par Laffort, pour une facilité d'approvisionnement de la part de notre fournisseur de produits oenologiques.

Pourquoi avoir choisi *Metschnikowia pulcherrima* comme levure de bioprotection : l'enjeu de cette expérimentation consiste à la maîtrise de l'outil d'acidification *Lachancea thermotolerans* dans le cadre d'une vinification utilisant la technique de macération préfermentaire à froid. Par définition cette technique se déroule dans un état d'absence de fermentation. Cette absence de fermentation représente un vide microbiologique pouvant amener des levures ou bactéries d'altération (ou de faible intérêt fermentaire) à coloniser le milieu de manière non maîtrisée et non choisie.

Habituellement à Angélus, ce vide est maîtrisé par l'inoculation d'une faible dose de levure *Saccharomyces cerevisiae* à une dose de 5g/hL. L'équipe technique considère que cette dose est suffisamment faible pour ne pas démarrer de fermentation trop précocement et suffisamment

élevée pour occuper l'espace microbiologique de la cuve en évitant l'installation d'autres populations non-voulues. Si cette technique a fait ses preuves pour poursuivre la vinification sur une fermentation classique, elle pose question lorsque l'étape suivante est l'utilisation d'une levure non-saccharomyces. Il a donc été décidé de mener une modalité avec une levure non-saccharomyces en bioprotection, pour contrôler le milieu et peut-être favoriser l'implantation suivante de *Lachancea thermotolerans*.

Les deux levures commercialisées pour leurs rôles de bioprotection sont *Metschnikowia pulcherrima* et *Torulaspora delbrueckii*. Après une étude bibliographique, le choix de *Metschnikowia pulcherrima* nous a paru plus judicieux. En effet, nous avons tâché de comprendre par quels mécanismes ces deux levures jouent leur rôle de bioprotection.

Ces deux levures ne possèdent pas de facteurs killer [14], [15], [16].

Il semblerait ainsi que la capacité de bioprotection de *Metschnikowia pulcherrima* soit due à sa capacité à priver le milieu en fer, ne laissant pas cet élément disponible pour le développement d'autres micro-organismes. D'un autre côté, les mécanismes de bioprotection de *Torulaspora delbrueckii* sont mal définis et sont probablement dû à une accapuration rapide des principaux nutriments du milieu. En revanche, cette dernière levure est également connue dans le milieu oenologique pour sa bonne capacité fermentaire [17], [18], capacité qui nous intéresse moins dans le cadre d'une bioprotection.

Si on s'en tient à une définition d'une bonne levure de bioprotection comme d'une levure limitant le développement des micro-organismes avec un effet neutre/limité sur le vin, il nous a apparu que *Metschnikowia pulcherrima* présente le meilleur choix comme outil de bioprotection de par sa mécanique de déplétion du milieu en fer et de sa faible capacité fermentaire [13].

De par une expérimentation menée directement sur jus, les étapes de vinification sont affranchies de toutes opérations d'extraction et sont réduites à la surveillance du bon déroulé de la fermentation. On peut noter cependant qu'un ajustement en azote assimilable pourra être réalisé suivant les analyses d'encuvage pour éviter une éventuelle carence. Considérant les besoins en azote plus importants qu'une vinification classique due à l'utilisation d'une levure non-saccharomyces, on visera 200 mg/L d'azote assimilable.

Un apport d'oxygène sera réalisé lorsque la densité de 1060 sera atteinte pour favoriser une fermentation complète par les levures. Cet apport sera fait de manière contrôlée par bullage d'air ambiant directement dans le micro-fermenteur.

En considérant un besoin de 15 mg/L d'oxygène dissous, et une saturation en oxygène du moût autour de 8 mg/L, on apportera la quantité nécessaire en 2 fois.

Elle sera faite par l'intermédiaire d'une pipette de 60mg/L. On considère la quantité d'oxygène à dissoudre de 20L multiplié par 8mg/L soit 160 mg d'oxygène.

Une pipette de 60mL d'air ambiant contient 21% d'oxygène soit 12.6mL.

A température ambiante, 1mL d'oxygène gazeux correspond à 1,43 mg d'O₂, donc une pipette fournit 1.43mg multiplié par 12.6 mL soit 18 mg/L d'oxygène.

En supposant que 30% de l'oxygène apporté est effectivement dissous dans le jus, une pipette apporte 5.4 mg d'oxygène.

Ainsi 160 mg que divise 5.4 mg par pipette nous donne un volume de 30 pipettes.

Quand la densité de 1060 sera atteinte, 30 pipettes d'air seront injectées par micro-fermenteurs, puis 30 pipettes le lendemain pour atteindre 16mg/L d'oxygène dissous et utilisable par les levures.

Après fermentation, le suivi du départ de la fermentation malolactique sera réalisé, ainsi que la comparaison du déroulement de cette seconde fermentation. En effet, la production d'acide lactique peut représenter une inhibition pour les bactéries lactiques qui mérite d'être observé [19], [20]. En effet, si la bio acidification montre des résultats intéressants mais qu'ils sont contrebalancés par une difficulté anormale à réaliser la fermentation malolactique, il faut pouvoir l'anticiper et potentiellement le prendre en compte lors de décisions à impacts économiques (utilisation de bactéries lactiques commerciales pouvant entraîner un surcoût par exemple).

3.2.3 Analyses

L'analyse d'encuvage est réalisée par le laboratoire oenologique chez qui sont habituellement réalisées ce type d'analyses. Seront mesurés les paramètres classiques, à savoir pH, acidité totale, acide malique et acide lactique, azote assimilable, TAVP et sucres réducteurs.

Le suivi de la fermentation sera effectué par une mesure quotidienne de la densité et de la température à l'aide d'un mustimètre.

Le suivi de l'acide lactique sera réalisé par une mesure de l'acide lactique à t₀ lors de l'analyse d'encuvage, puis une nouvelle fois à J+2 après inoculation de *Lachancea thermotolerans*, puis à mi-fermentation (densité de 1040) et à la fin de la fermentation. Ces analyses seront réalisées par le même laboratoire. La quantité maximale d'acide lactique produite est normalement atteinte pendant les premières heures d'activité de *Lachancea thermotolerans*, le contrôle J+2 devrait ainsi nous révéler la quantité maximale d'acide lactique produite dans ces conditions. Les deux autres analyses nous permettront de confirmer la fin de l'activité microbiologique de *Lachancea thermotolerans*.

Afin de confirmer la bonne implantation des différentes levures dans le milieu, il est nécessaire de réaliser des contrôles d'implantations. Plusieurs solutions ont été envisagées pour ces analyses. Il a été choisi d'effectuer ces contrôles d'implantation par une culture sur boîtes de Pétri et par une analyse phénotypique des colonies obtenues. Une recherche bibliographique a été nécessaire pour affiner les caractéristiques phénotypiques sélectionnées.

Nous avons choisi de concentrer les contrôles d'implantations uniquement sur les différentes levures non-saccharomyces utilisées. En effet, les levures *Saccharomyces cerevisiae* souche F33 sont très bien connues par l'équipe technique, aussi bien sur le plan de l'utilisation que sur celui du comportement fermentaire et de la bonne implantation en vinification. En revanche, c'est surtout sur les levures non-saccharomyces que les contrôles sont une nécessité.

Ainsi les milieux de culture utilisés sont des milieux non-saccharomyces (inhibant de fait les populations saccharomyces). Ce sont des milieux à base de YEPD (Yeast Extract Peptone Dextrose Agar) auquel est ajouté du chloramphénicol (inhibant la croissance des bactéries), du biphenyle (inhibe la croissance des moisissures) et de la cycloheximide (inhibe la croissance des levures du genre saccharomyces).

La caractéristique phénotypique choisie pour *Metschnikowia pulcherrima* est sa couleur. En effet, plusieurs études montrent que la culture de cette levure sur milieu de culture donne des colonies de couleur rougeâtres facilement identifiables [21]. En revanche, aucune spécificité phénotypique propre à *Lachancea thermotolerans* permet de la démarquer d'autres populations non-saccharomyces. Il a donc fallu trouver un autre moyen d'identification.

Nous avons donc décidé d'utiliser la thermotolérance intrinsèque de cette levure à notre avantage. En effet, peu de levures indigènes sont tolérantes aux températures extrêmes comme l'est *Lachancea thermotolerans*, qui peut supporter des températures atteignant 40°C [22]. Cependant nous savons que cette capacité est très "souche-dépendante". Nous avons donc discuté avec Lamothe abiet, qui a pu nous confirmer que la souche utilisée est cultivable à une température de 32°C. Nous utiliserons donc ce trait spécifique pour contrôler l'implantation de la levure. Nous utiliserons une chambre de culture horticole avec chauffage intégré nous permettant d'avoir un volume restreint avec une température facilement maîtrisable.

Ainsi des contrôles d'implantation seront réalisés à t0, à la fin de la macération préfermentaire à froid et à J+2 après inoculation des *Lachancea thermotolerans* et *Saccharomyces cerevisiae*. Le contrôle effectué à t0 nous donnera une photographie initiale de la population indigène en présence. Celui à la fin de la macération préfermentaire à froid nous permettra de contrôler la bonne

implantation et la bonne efficacité de *Metschnikowia pulcherrima* dans son rôle de bioprotection. Enfin, le contrôle à J+2 nous permettra de nous assurer de la bonne implantation de *Lachancea thermotolerans* dans le milieu.

Une analyse de fin de fermentation sera réalisée par le même laboratoire qu'à l'accoutumée. Elle regardera les paramètres suivants : TAV, AV, pH, AT, acide malique et acide lactique.

Enfin, le suivi de la fermentation malolactique sera effectué par la diminution de l'acide malique jusqu'à la fin de la fermentation malolactique (avec une concentration d'acide malique inférieure à 0.2 g/L). Ce suivi sera effectué 2 fois par semaine.

3.3 Résultats

3.3.1 Analyse d'encuvage

L'analyse d'encuvage avant inoculation de levures nous donne le résultat suivant :

Analyse d'encuvage	
Paramètres	Résultats
Sucres réducteurs (g/L)	199
TAP 17,50g (%v/v)	11,37
AT (g/L H2SO4)	3,62
pH	3,33
Malique (g/L)	1,62
Azote assimilable (mg/L)	107
Lactique (g/L)	<0,10

Figure 3 : Analyse d'encuvage

On peut noter une carence en azote assimilable qui conduira à un redressement de cette valeur par l'ajout d'azote sous forme de Thiazote®. On cherche à apporter environ 100 mg/L d'azote assimilable, et en considérant que 10 g/hL de Thiazote® apporte 21 mg/L d'azote assimilable (recommandation du fabricant), on viendra donc apporter 50 g/hL aux alentours d'une densité de 1060.

L'influence des autres valeurs sera évoquée dans la partie discussion ci-après.

3.3.2 Suivi de fermentation

La prise quotidienne des densités et de la température nous donne les résultats suivant :

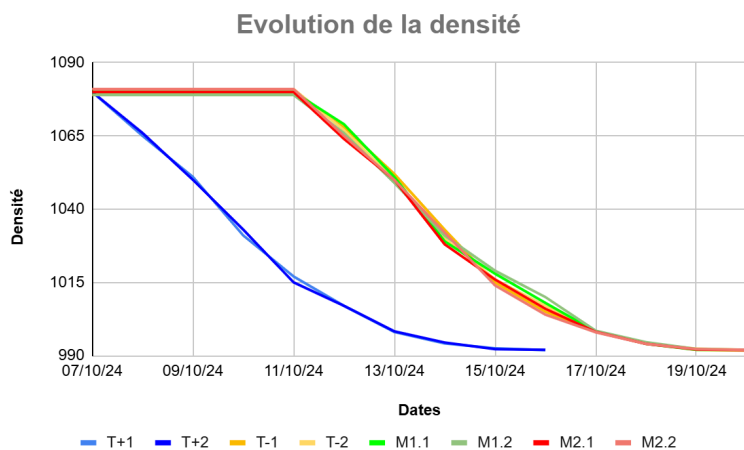


Figure 4 : Courbes d'évolution de la densité des différentes modalités au cours du temps

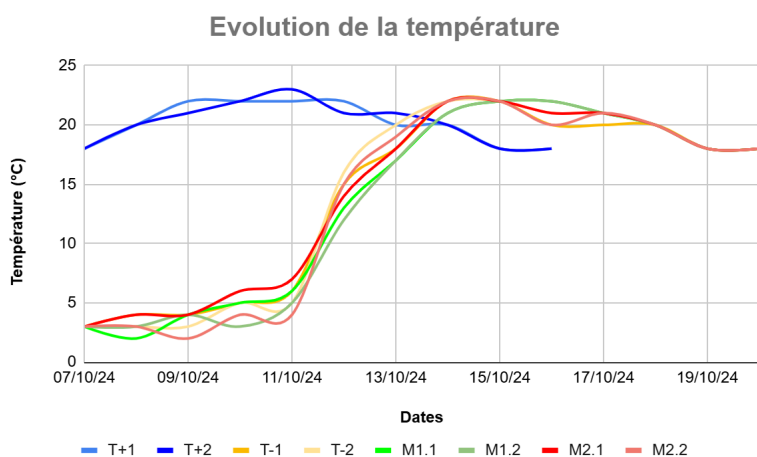
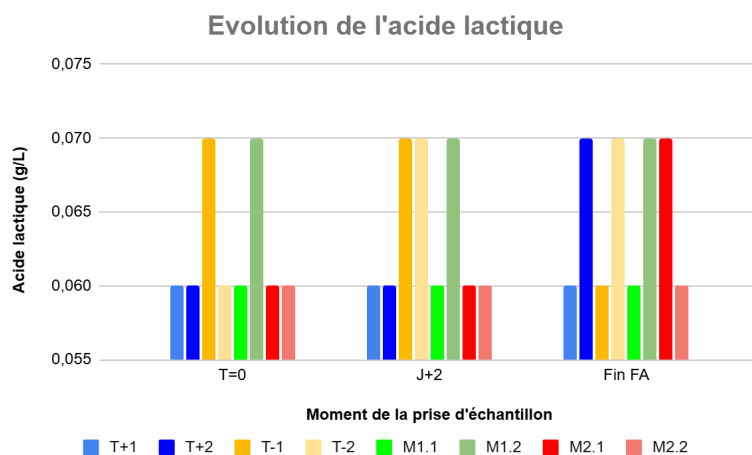


Figure 5 : Courbes d'évolution de la température des différentes modalités au cours du temps

3.3.3 Suivi de l'acide lactique

Les mesures de l'acide lactique aux trois moments prévus donnent les résultats suivants :

Figure 6 : Diagramme représentant l'évolution de la concentration de l'acide lactique au cours du temps des différentes modalités



3.3.4 Contrôle d'implantation

La réalisation des contrôles d'implantation par simple observation et dénombrement de population sur boîte de Pétri n'a pas été une tâche aisée.

	Température (°C)	Population de levures (UFC/mL)			
		T+	T-	M1	M2
T=0	Ambiante	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
	32°C	0	0	0	0
T= fin macération préfermentaire à froid	Ambiante	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵
	32°C	0	0	0	0
T=J+2	Ambiante	10 ⁶	10 ³	10 ⁶	10 ⁶
	32°C	10 ⁶	0	10 ⁶	10 ⁶

Figure 7 : Tableau récapitulatif des contrôles d'implantations réalisés

Le contrôle effectué à T=0 ne donne pas de résultats exploitables. En effet, le résultat des cultures effectuées pour cet échantillon montre la présence de population non-saccharomyces (10⁴ UFC/mL) mais en l'absence d'analyses plus poussées, il nous est impossible de conclure sur les espèces en présence. Ces résultats sont obtenus pour les boîtes de Pétri placées à température ambiante. Les boîtes placées à 32°C montrent une absence de populations capables de se développer à cette température.

Le contrôle effectué à la fin de la macération préfermentaire à froid montre des résultats similaires. Les boîtes placées à 32°C montrent une absence de populations capables de se développer à cette température. Les boîtes placées à température ambiante montrent toutes une population de levure non-saccharomyces à 10⁴ UFC/mL, excepté pour la modalité **M2** qui montre une population de 10⁵ UFC/mL.

Pour le contrôle effectué à J+2 après inoculation de *Lachancea thermotolerans* et *Saccharomyces cerevisiae*, les boîtes de Pétri placées à 32°C nous montrent la présence de populations non-saccharomyces à 10⁶ UFC/mL sur l'ensemble des modalités, excepté sur la modalité **T-** qui n'as pas présenté de développement de population à ces températures. Hormis leurs capacités à se développer à 32°C, ces populations ne présentent pas de caractéristiques phénotypiques particulières.

Les boîtes de Pétri placées à température ambiante montre la présence de populations non-saccharomyces à 10⁶ UFC/mL sur toutes les modalités, excepté sur la modalité **T-** dont les résultats montrent la présence de population non-saccharomyces à 10³ UFC/mL.

Les populations développées sur les boîtes montrent toutes des caractéristiques phénotypiques similaires, à savoir des colonies de couleurs blanchâtres et brillantes. Aucune colonies ne présentent de caractéristiques phénotypiques permettant de les différencier les unes des autres.

3.3.5 Analyse fin de FA

Considérant les résultats précédents ne montrant pas de différence entre les échantillons, nous avons choisi de réaliser les analyses de fin de FA sur un échantillon unique que nous considérons représentatif des différentes modalités. Ces analyses donnent les résultats suivants :

Analyse fin de FA	
Paramètres	Résultats
Sucres réducteurs (g/L)	<0,2
TAV (%v/v)	11,29
AT (g/L H ₂ SO ₄)	3,58
pH	3,3
Malique (g/L)	1,61
Acide acétique (g/L H ₂ SO ₄)	0,24
Lactique (g/L)	<0,10

Figure 8 : Analyse de fin de fermentation alcoolique

3.3.6 Suivi de la fermentation malolactique

Considérant les résultats précédents ne montrant pas de différence entre les échantillons, nous avons jugé peu pertinent de suivre la FML. Les différentes modalités ont été assemblées, marquant ainsi la fin de cette expérimentation.

3.4 Discussion

Les résultats des analyses effectuées nous présentent une absence de différence significative entre les modalités étudiées.

En effet, en dépit des différentes inoculations réalisées, les courbes de densité ne montrent pas de différences statistiques d'une modalité à une autre.

De la même manière, le suivi de l'acide lactique montre qu'il n'y en a pas eu production au cours de l'expérimentation. Ainsi il n'y a pas d'effet de l'inoculation de *Lachancea thermotolerans* sur l'acidité totale ou sur le pH.

En conséquence de ces premières constatations, le suivi de la fermentation malolactique n'a pas été réalisé, mais on aurait facilement pu prédire une absence de différence sur ce paramètre également.

Les contrôles d'implantations sont difficilement interprétables. L'inoculation de *Metschnikowia pulcherrima* ne peut pas être confirmée puisqu'aucune population de couleur rougeâtre n'a été observée. En revanche, sur les contrôles réalisés à 32°C, des populations ont pu être comptées sur toutes les modalités, exceptées celle où *Lachancea thermotolerans* n'a pas été inoculé. On peut en déduire que l'implantation de *Lachancea thermotolerans* s'est correctement réalisée, même si une analyse plus poussée de type PCR aurait pu nous le confirmer. On pourrait donc en conclure que l'implantation a correctement été réalisée mais que les levures n'ont pas produit leur effet de bio-acidification. On peut également conclure que la présence de *Lachancea thermotolerans* n'empêche en rien la fermentation alcoolique réalisée par *Saccharomyces cerevisiae* puisque nous n'observons pas de différence entre les modalités avec et sans inoculation de *L. thermotolerans*.

Quelles raisons peuvent expliquer ce constat ?

Premièrement, les caractéristiques du millésime ne sont probablement pas propices à l'utilisation d'une levure d'acidification. En effet, il est évident que ce type de levure ne serait jamais utilisé en condition classique de production de vin puisque les analyses d'encuvage montrent un pH déjà très bas qui ne mérite pas de baisser davantage. Cela ne nous a pas paru problématique dans le cas d'une étude préliminaire en petit volume comme c'est le cas ici. Cependant un pH déjà très acide a très certainement une incidence sur le métabolisme levurien de *Lachancea thermotolerans* et sa capacité à acidifier le milieu. En effet, certaines études montrent que l'acidification progressive du milieu a tendance à diminuer la production d'acide lactique, ainsi un pH bas (entre 3 et 3.2) peut inhiber son activité d'acidification [23], [24].

Une deuxième raison probable est l'effet de la température. En effet, après avoir discuté avec un fournisseur de ce type de levure et d'après la bibliographie, une température basse peut avoir un effet sur l'activité métabolique. Il semblerait que des températures inférieures à 15-20°C pourraient inhiber la production d'acide lactique sans empêcher l'implantation de la levure dans le milieu [25], [26].

Bien que ce point nous était connu avant la mise en place de l'expérimentation, il a été sous-estimé, en particulier vis à vis de la vinification en petit contenant. En effet, l'augmentation de la température n'a pas été réalisée de manière optimale dû à l'absence d'échangeurs internes aux micro-fermenteurs. De plus, les refroidissements à la glace carbonique durant la macération préfermentaire à froid ont probablement contribué à créer un environnement stressant pour les futures implantations.

Ainsi la température d'implantation non-optimale et le milieu de base présentant un pH déjà faible a probablement engendré une régulation de l'activité métabolique de la levure permettant son implantation mais sans acidification du milieu.

Cette discussion est à nuancer puisque les contrôles d'implantation manquent d'une analyse plus poussée nous permettant de confirmer la bonne implantation de *Lachancea thermotolerans*.

3.5 Comparaison économique

Il est également important de réfléchir aux décisions prises sous l'angle économique. En effet, toute décision, aussi bonne soit-elle, doit pouvoir s'inscrire dans un modèle économique viable. Même si cette question se pose moins dans un château de l'envergure de celui d'Angélus, cet aspect reste important. Nous avons rapporté dans le tableau ci-après trois moyens d'acidification avec les prix au kg correspondant. Ces prix nous ont été fournis par notre fournisseur de produits oenologiques. Nous nous intéressons à la levure qui fait l'objet de ce rapport, à l'acide tartrique (puisque c'est le produit actuellement utilisé lorsque l'acidification est nécessaire) et à l'acide lactique (puisque c'est un produit autorisé pour l'acidification, et que c'est l'acide organique produit par *Lachancea thermotolerans*).

Produit	Prix HT (€/kg)	Prix HT(€/80hL)
Levure <i>Lachancea thermotolerans</i> <i>Excellence X Fresh Lamothe Abiet</i>	186,84	74,7
Acide Tartrique	15,60	124,80
Acide Lactique	7,45	99,6

Figure 9 : Comparaison du prix au kg et du prix pour 80hL, des différentes solutions d'acidification étudiés

A première vue, le prix au kg de la levure est bien plus important que celui des deux autres produits. Il faut cependant regarder la quantité ajoutée en condition réelle.

On peut considérer que 1 g/L d'acide tartrique augmente l'acidité totale de 0.65 g/L H₂SO₄. De la même manière, l'ajout d'1 g/L d'acide lactique augmente l'acidité totale de 0.8 g/L H₂SO₄.

En considérant qu'une inoculation de levure acidifiante à 5g/hL (soit 0.05 g/L) produit environ 1 g/L d'acide lactique, on voit bien que les doses à ajouter de levure sont moindre que les doses à ajouter d'acide pour des effets comparables.

Prenons l'exemple de 80 hL (volume de la majorité des cuves à Angelus) à acidifier, nous obtenons les prix de la colonne de droite.

Ces chiffres sont seulement théoriques puisqu'ils sont dépendant de notre fournisseur, que les prix au kg diminuent avec des achats de produits en quantité importante et que l'acidification de moût ou

de vin par ces différents produits dépend de nombreux paramètres (comme le pH initial ou la capacité tampon du milieu). Mais il est intéressant de noter que l'utilisation de cette levure de bio-acidification peut être économiquement viable.

3.6 Perspectives

Nous restons persuadés de l'intérêt technologique des levures de bio acidification. De nouvelles expérimentations pourraient être menées en modifiant les paramètres d'expérimentation. Il serait plus opportun de mener une nouvelle expérimentation lors d'un millésime propice à la bio acidification. Cela n'empêche pas de retenter une expérimentation en petit volume, mais les conditions basales seront plus facilement transposables à des conditions réelles.

Il faudra également veiller à un meilleur contrôle de la température et en particulier pendant la transition entre la période pré fermentaire à froid et le début de la fermentation. Ce point en particulier est critique puisqu'il faudra trouver un moyen d'augmenter la température du milieu autour de 20°C sans que *Saccharomyces cerevisiae* ne prenne le dessus et démarre la fermentation avant l'implantation de *Lachancea thermotolerans*. Nous pensons que ce point en particulier serait plus facile à gérer dans des cuves classiques avec échangeurs internes qu'en micro-vinification.

Pour répondre à cette problématique, il pourrait être intéressant de tester d'autres types de levures pouvant plus facilement s'adapter à l'itinéraire de vinification effectué au château Angélus. En effet, des recherches sont menées et des souches de levure *Saccharomyces* montreraient de bons résultats pour l'acidification, de même que pour la désacidification [27], [28], [29].

Utiliser une levure *Saccharomyces* serait une bonne solution pour pallier ces problématiques.

Dans le cas où une nouvelle expérimentation serait menée, un budget devra être alloué aux contrôles d'implantation afin de comprendre plus finement les mécaniques prenant place et de pouvoir conclure plus précisément sur les résultats obtenus.

Une fois les premières études préliminaires réalisées, il serait intéressant de mener ces essais sur un moût classique (partie solide et liquide) afin de pouvoir mener des dégustations pertinentes sur l'impact de l'acidification sur le profil organoleptique, mais également sur l'impact de la présence de levure non-Saccharomyces sur les potentielles différences de marqueurs aromatiques.

Enfin, il serait également très intéressant de comparer la bio acidification aux autres techniques d'acidification que sont l'ajout d'acide (tartrique, lactique et citrique) et l'acidification par résines échangeuses d'ions. Ces différents essais permettraient d'avoir une vue d'ensemble sur l'intérêt de la bio acidification, aussi bien sur des aspects organoleptiques, pratiques et économiques.

4. Conclusion

Ce millésime 2024 marque mes quatrièmes vinifications, toutes au sein du château Angélu. Parmi ces 4 millésimes, 2024 est peut-être le plus complexe et intéressant pour l'étudiant que je suis. Les enjeux économiques et climatiques sont tous décuplés sur ces millésimes n'offrant ni répit, ni facilité aux vigneron et équipes dirigeantes.

Durant ma maigre expérience constituée sur ces 4 dernières années, j'ai déjà pu m'apercevoir des effets du changement climatique. Les années 2021 et 2024, aux conditions très humides, ont exercé une pression maladie constante sur le vignoble. De même pour 2023, avec un début de saison humide qui a rapidement éprouvé les équipes à la vigne avec, heureusement, une fin de saison plus clémente. L'année 2022, au contraire, a été un millésime très solaire, de grande qualité mais demandant là aussi un travail considérable pour éviter des blocages de maturité précoces dû à la sécheresse.

En dehors de la campagne phytosanitaire, ces millésimes ont tous été marqués par des événements climatiques comme le gel ou la grêle dont château Angélu a su éviter les dommages grâce à des investissements finement choisis et une équipe technique pleinement investie.

Si ces conditions prises une à une ne sont pas exceptionnelles, le caractère récurrent, année après année, nous montre bien la nécessité d'adaptation des vignobles.

En ce sens, Angélu investit chaque année dans la recherche et le développement. Que ce soit par des partenariats avec des laboratoires de recherche ou l'utilisation de nouvelles techniques et nouveaux outils à la vigne comme au chai.

À mes yeux, la cohésion de l'équipe constitue l'un des piliers fondamentaux du succès du domaine. Face à des conditions climatiques de plus en plus extrêmes, l'anticipation des interventions au vignoble et la maîtrise technique au chai permettent de garantir, chaque année, des vins d'une grande qualité. J'ai eu l'opportunité, au cours de ces 4 ans, de m'impliquer dans toutes les étapes de la production, tant au vignoble qu'au chai, ce qui m'a permis de développer de nombreuses compétences et d'enrichir considérablement mes connaissances de la meilleure des manières. Pour cela, je ne remerciais jamais assez le château Angélu, et surtout la totalité de l'équipe technique.

Références bibliographiques

- [1] Dobrijevic, Michel, et Morgane Lendrin. « L'évolution du climat à Bordeaux entre 1921 et 2018 », 2019. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26135.11683>.
- [2] Davaux, François, et Philippe Cottureau. « Comparaison de pratiques d'acidification en vinification en rouge : impacts sur l'acidité, les caractéristiques chromatiques et organoleptiques des vins ». Édité par P. Roca. *BIO Web of Conferences* 56 (2023): 02014. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235602014>.
- [3] Intergovernmental Panel On Climate Change (Ippc). *Climate Change 2021 – The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. 1^{re} éd. Cambridge University Press, 2023. <https://doi.org/10.1017/9781009157896>.
- [4] Ohana-Levi, Noa, et Yishai Netzer. « Long-Term Trends of Global Wine Market ». *Agriculture* 13, n° 1 (16 janvier 2023): 224. <https://doi.org/10.3390/agriculture13010224>.
- [5] Javed, Basharat, Iqra Abdullah, Muhmmad Adeel Zaffar, Adnan Ul Haque, et Ume Rubab. « Inclusive Leadership and Innovative Work Behavior: The Role of Psychological Empowerment ». *Journal of Management & Organization* 25, n° 04 (juillet 2019): 554-71. <https://doi.org/10.1017/jmo.2018.50>.
- [6] Plückelmann, Clara, Marie Gustafsson Sendén, Claudia Bernhard-Oettel, Constanze Leineweber, et Sabine Sczesny. « Women's and men's experiences with participative decision-making at workplace and organizational levels ». *Frontiers in Psychology* 14 (1 février 2024): 1240117. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2023.1240117>.
- [7] Gobbi, Mirko, Francesca Comitini, Paola Domizio, Cristina Romani, Livio Lencioni, Ilaria Mannazzu, et Maurizio Ciani. « Lachancea Thermotolerans and Saccharomyces Cerevisiae in Simultaneous and Sequential Co-Fermentation: A Strategy to Enhance Acidity and Improve the Overall Quality of Wine ». *Food Microbiology* 33, n° 2 (avril 2013): 271-81. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.10.004>.
- [8] Ciani, Maurizio, Pilar Morales, Francesca Comitini, Jordi Tronchoni, Laura Canonico, José A. Curiel, Lucia Oro, Alda J. Rodrigues, et Ramon Gonzalez. « Non-conventional Yeast Species for Lowering Ethanol Content of Wines ». *Frontiers in Microbiology* 7 (4 mai 2016). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00642>.

- [9] Morata, Antonio, Iris Loira, Wendu Tesfaye, María Antonia Bañuelos, Carmen González, et José Antonio Suárez Lepe. « Lachancea Thermotolerans Applications in Wine Technology ». *Fermentation* 4, n° 3 (11 juillet 2018): 53. <https://doi.org/10.3390/fermentation4030053>.
- [10] Comitini, Francesca, Mirko Gobbi, Paola Domizio, Cristina Romani, Livio Lencioni, Ilaria Mannazzu, et Maurizio Ciani. « Selected Non-Saccharomyces Wine Yeasts in Controlled Multistarter Fermentations with Saccharomyces Cerevisiae ». *Food Microbiology* 28, n° 5 (août 2011): 873-82. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.12.001>.
- [11] Morata, Antonio, M^a Antonia Bañuelos, Cristian Vaquero, Iris Loira, Rafael Cuerda, Felipe Palomero, Carmen González, et al. « Lachancea Thermotolerans as a Tool to Improve pH in Red Wines from Warm Regions ». *European Food Research and Technology* 245, n° 4 (avril 2019): 885-94. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03229-9>.
- [12] Zott, Katharina, Cécile Thibon, Marina Bely, Aline Lonvaud-Funel, Denis Dubourdieu, et Isabelle Masneuf-Pomarede. « The Grape Must Non-Saccharomyces Microbial Community: Impact on Volatile Thiol Release ». *International Journal of Food Microbiology* 151, n° 2 (décembre 2011): 210-15. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.026>.
- [13] Sipiczki, Matthias. « *Metschnikowia* Strains Isolated from Botrytized Grapes Antagonize Fungal and Bacterial Growth by Iron Depletion ». *Applied and Environmental Microbiology* 72, n° 10 (octobre 2006): 6716-24. <https://doi.org/10.1128/AEM.01275-06>.
- [14] Oro, L., M. Ciani, et F. Comitini. « Antimicrobial Activity of *Metschnikowia Pulcherrima* on Wine Yeasts ». *Journal of Applied Microbiology* 116, n° 5 (mai 2014): 1209-17. <https://doi.org/10.1111/jam.12446>.
- [15] Belda, Ignacio, Eva Navascués, Domingo Marquina, Antonio Santos, Fernando Calderon, et Santiago Benito. « Dynamic Analysis of Physiological Properties of *Torulaspota Delbrueckii* in Wine Fermentations and Its Incidence on Wine Quality ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 99, n° 4 (février 2015): 1911-22. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6197-2>.
- [16] Simonin, Scott, Hervé Alexandre, Maria Nikolantonaki, Christian Coelho, et Raphaëlle Tourdot-Maréchal. « Inoculation of *Torulaspota Delbrueckii* as a Bio-Protection Agent in Winemaking ». *Food Research International* 107 (mai 2018): 451-61. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.034>.
- [17] Ramírez, Manuel, et Rocío Velázquez. « The Yeast *Torulaspota Delbrueckii*: An Interesting But Difficult-To-Use Tool for Winemaking ». *Fermentation* 4, n° 4 (12 novembre 2018): 94. <https://doi.org/10.3390/fermentation4040094>.

- [18] Li, Jing, Mengnan Hong, et Baiyu Qi. « Impact of *Torulaspora delbrueckii* During Fermentation on Aromatic Profile of Vidal Blanc Icewine ». *Frontiers in Microbiology* 13 (7 juin 2022): 860128. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.860128>.
- [19] Viridis, Carla, Krista Sumbly, Eveline Bartowsky, et Vladimir Jiraneck. « Lactic Acid Bacteria in Wine: Technological Advances and Evaluation of Their Functional Role ». *Frontiers in Microbiology* 11 (15 janvier 2021): 612118. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.612118>.
- [20] Mendes Ferreira, Ana, et Arlete Mendes-Faia. « The Role of Yeasts and Lactic Acid Bacteria on the Metabolism of Organic Acids during Winemaking ». *Foods* 9, n° 9 (3 septembre 2020): 1231. <https://doi.org/10.3390/foods9091231>.
- [21] Sidari, Rossana, Katarína Ženišová, Blanka Tobolková, Elena Belajová, Tereza Cabicarová, Mária Bučková, Andrea Puškárová, Matej Planý, Tomáš Kuchta, et Domenico Pangallo. « Wine Yeasts Selection: Laboratory Characterization and Protocol Review ». *Microorganisms* 9, n° 11 (26 octobre 2021): 2223. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112223>.
- [22] Zhou, Nerve, Olena P Ishchuk, Wolfgang Knecht, Concetta Compagno, et Jure Piškur. « Improvement of Thermotolerance in *Lachancea Thermotolerans* Using a Bacterial Selection Pressure ». *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 46, n° 2 (1 février 2019): 133-45. <https://doi.org/10.1007/s10295-018-2107-4>.
- [23] Vicente, Javier, Eva Navascués, Fernando Calderón, Antonio Santos, Domingo Marquina, et Santiago Benito. « An Integrative View of the Role of *Lachancea Thermotolerans* in Wine Technology ». *Foods* 10, n° 11 (21 novembre 2021): 2878. <https://doi.org/10.3390/foods10112878>.
- [24] Vaquero, Cristian, Pedro Miguel Izquierdo-Cañas, Adela Mena-Morales, L. Marchante-Cuevas, José María Heras, et Antonio Morata. « Use of *Lachancea Thermotolerans* for Biological vs. Chemical Acidification at Pilot-Scale in White Wines from Warm Areas ». *Fermentation* 7, n° 3 (15 septembre 2021): 193. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030193>.
- [25] Morata, Antonio, Iris Loira, Wendu Tesfaye, María Antonia Bañuelos, Carmen González, et José Antonio Suárez Lepe. « *Lachancea Thermotolerans* Applications in Wine Technology ». *Fermentation* 4, n° 3 (11 juillet 2018): 53. <https://doi.org/10.3390/fermentation4030053>.
- [26] Sgouros, Georgios, Athanasios Mallouchos, Maria-Evangelia Filippousi, Georgios Banilas, et Aspasia Nisiotou. « Molecular Characterization and Enological Potential of A High Lactic Acid-Producing *Lachancea Thermotolerans* Vineyard Strain ». *Foods* 9, n° 5 (7 mai 2020): 595. <https://doi.org/10.3390/foods9050595>.

- [27] Vion, Charlotte. « Etude de la modulation de l'acidité des vins par *Saccharomyces cerevisiae* par des approches génétiques et métabolomiques. Rôle de la consommation et de la production de l'acide malique au cours de la fermentation alcoolique. », s. d.
- [28] Vion, Charlotte, Maitena Muro, Margaux Bernard, Bruce Richard, Fautre Valentine, Nadine Yeramian, Isabelle Masneuf-Pomarède, Sophie Tempère, et Philippe Marullo. « New Malic Acid Producer Strains of *Saccharomyces Cerevisiae* for Preserving Wine Acidity during Alcoholic Fermentation ». *Food Microbiology* 112 (juin 2023): 104209.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104209>.
- [29] Vion, Charlotte, Nadine Yeramian, Ana Hranilovic, Isabelle Masneuf-Pomarède, et Philippe Marullo. « Influence of yeasts on wine acidity: new insights into *Saccharomyces cerevisiae* ». *OENO One* 58, n° 4 (18 octobre 2024).
<https://doi.org/10.20870/oenone.2024.58.4.7877>.
- [31] Moreno-Arribas, M. Victoria, et M. Carmen Polo, éd. *Wine Chemistry and Biochemistry*. New York, NY: Springer New York, 2009. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-74118-5>.
- [32] Ganter, P.F. Yeast and invertebrate associations. In *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*; Rosa, C.A., Gabor, P., Eds.; Springer: Berlin, Germany, 2006; pp. 303–370.
- [33] Kurtzman, C. « Phylogenetic Circumscription of , and Other Members of the Saccharomycetaceae, and the Proposal of the New Genera , , And ». *FEMS Yeast Research* 4, n° 3 (décembre 2003): 233-45. [https://doi.org/10.1016/S1567-1356\(03\)00175-2](https://doi.org/10.1016/S1567-1356(03)00175-2).
- [34] Matsushita, Kazunobu, Yoshinao Azuma, Tomoyuki Kosaka, Toshiharu Yakushi, Hisashi Hoshida, Rinji Akada, et Mamoru Yamada. « Genomic Analyses of Thermotolerant Microorganisms Used for High-Temperature Fermentations ». *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 80, n° 4 (2 avril 2016): 655-68.
<https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1104235>.
- [35] Schnierda, T., F. F. Bauer, B. Divol, E. Van Rensburg, et J. F. Görgens. « Optimization of Carbon and Nitrogen Medium Components for Biomass Production Using Non-*Saccharomyces* Wine Yeasts ». *Letters in Applied Microbiology* 58, n° 5 (mai 2014): 478-85.
<https://doi.org/10.1111/lam.12217>.

Sujet :
Acidification biologique d'un moût de merlot par une levure non-saccharomyces *Lachancea thermotolerans* dans un contexte de vinification utilisant la macération préfermentaire à froid

Contexte :
- Alternance de 2 ans au château Angelus
- Changement climatique entraînant une augmentation du degré alcoolique et une diminution de l'acidité des moûts
- Recherche d'un maintien de la qualité des vins au regard de ce changement climatique, tout en facilitant les manipulations des équipes du chai

Objectifs :
- Diminution du pH et augmentation de l'AT en fin de vinification
- Comparaison de deux méthodes de protection du moût lors d'une macération préfermentaire à froid
- Appréhension et compréhension de l'utilisation d'une levure non-saccharomyces (*coût, comportement dans le moût, limite,...*)
- Définir un protocole d'utilisation de cette levure lors de futures utilisations en contexte réel de vinification

Ressources :
- recherche bibliographique : *Mikaël Marrot*
- prospection et achat de matériels : *Mikaël Marrot + château Angelus*
- analyses encuvage : *laboratoire externe*
- suivi FA : *Mikaël Marrot*
- contrôle d'implantation : *Mikaël Marrot*
- mesure acide lactique : *laboratoire externe*
- analyses fin FA : *laboratoire externe*
- suivi acide malique : *laboratoire externe*
- analyses fin FML : *laboratoire externe*
- étude des résultats et analyses statistiques : *Mikaël Marrot*

Protocole :

