

Prévention des arrêts de fermentation en vinification



Jean-Pierre Frick

***Rapport d'essais
Septembre-Novembre 2009***

Pedro FERRANDIZ
Michel DUHAMEL

14 janvier 2010

Sommaire

1. PRESENTATION	3
2. CONTEXTE DE CETTE ETUDE	4
2.1. De la vendange à la vinification au « Domaine Pierre Frick »	4
2.2. Le procédé génodique.....	5
2.3. Essais antérieurs	6
3. EXPERIMENTATIONS REALISEES	7
3.1. Matériels et méthodes.....	7
3.1.1. Choix des cuvées	7
3.1.2. Méthodes de suivi.....	7
3.1.3. Système de diffusions et protéodies.....	7
3.2. Caractérisation des expérimentations menées.....	8
3.2.1. ESSAI N° 1 : Comparatif « lot témoin », « lot avec protéodies »	8
3.2.2. ESSAI N° 2 : Comparatif « lot témoin », « lot avec protéodies »	8
3.2.3. ESSAI N° 3 : Relance de la fermentation en arrêt	9
3.2.4. ESSAI N° 4 : Lot seul « avec protéodies ».....	10
4. RESULTATS ET COMMENTAIRES	11
4.1. Résultats ESSAI 1	11
4.2. Résultats ESSAI 2	12
4.3. Résultats ESSAI 3	13
4.4. Résultats ESSAI 4	14
5. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	16
5.1. Application de protéodies à la prévention des arrêts	16
5.2. Perspectives.....	17
6. REFERENCES.....	18

Étude comparative de l'application du procédé génodique à la prévention des arrêts de fermentation au « Domaine Pierre Frick », en Alsace.

1. Présentation

Monsieur et Madame Frick sont vignerons récoltants, en culture biodynamique. Après avoir appliqué, depuis 2003, le Procédé Génodique sur leurs vignes pour la prévention de l'ESCA, une maladie cryptogamique, ils ont souhaité maintenant tester ce procédé en vinification pour la prévention des arrêts de fermentation, et pour apprécier l'impact organoleptique du procédé sur les vins qui en résulteront.

L'objectif de cette application du procédé est de prévenir les arrêts de fermentation en stimulant les levures naturelles pendant la fermentation, sans utilisation d'intrants additionnels quels qu'ils soient.

Genodics développe et commercialise les applications du Procédé génodique, qui résulte de l'invention de M. Joël STERNHEIMER relative à la « régulation épigénétique de la biosynthèse des protéines par résonance d'échelle » (brevet européen EP0648275B1), dont Genodics a la licence exclusive d'exploitation. Genodics dispose de savoir-faire importants concernant l'application de ce procédé, notamment dans le domaine de l'agriculture. Ce procédé, éprouvé sur vigne et sur culture de tomates entre autres, ne nécessite pas d'intrants de type phytosanitaire. Par exemple, en inhibant spécifiquement la synthèse de protéines d'un virus ou d'un champignon responsable d'une maladie donnée, et en stimulant des facteurs de résistance naturelle de la plante ainsi que son métabolisme, ce procédé permet à la plante et à son hôte de cohabiter en rétablissant entre eux un « dialogue ».

Les tests ont eu lieu de septembre à novembre, dans les chais du Domaine « Pierre Frick » à Pfaffenheim, en Alsace.

L'Agence Régionale de l'Innovation d'Alsace a participé au montage d'un financement du projet avec la mise en place d'une subvention PTR « Prestation Technologique Réseau » financée par OSEO.

2. Contexte de cette étude

2.1. De la vendange à la vinification au « Domaine Pierre Frick »

Il ne s'agit pas ici de décrire avec précision les étapes conduisant à la vinification de raisins au Domaine. Nous n'en sommes tout simplement pas capables, tant l'expérience du vigneron, les relations qu'il entretient avec ses vignes et dans ses chais, et la maîtrise des procédés qu'il met en œuvre sont importantes dans la subtile élaboration de ses vins.

Nous citerons simplement les principales étapes, avec leurs caractéristiques importantes, en particulier pour les essais que nous avons entrepris.

Les dates des « vendanges » sont définies par le vigneron en fonction de la maturité souhaitée pour les raisins ; elles vont dépendre bien sûr de l'état de développement des grappes, ainsi que des conditions climatiques du moment. Le processus de vinification commence au moment où les raisins sont cueillis. Une indication du « potentiel » d'alcool du futur vin est ici relevée par réfractométrie, (taux de sucre contenu dans le raisin).

Les raisins sont pressés entiers, sans foulage. Vient ensuite le « débourbage », propre aux vinifications de vins blancs et de vins rosés : il s'agit ici de « clarifier les moûts », afin d'éliminer les particules végétales encore présentes en suspension. Cette étape se fait par décantation. Le jus est soutiré, en laissant au fond de la cuve les résidus qui ont sédimenté. Sa durée est variable et est décidée par le vigneron. Une décantation trop longue peut conduire à des problèmes de fermentation.

Suit la fermentation proprement dite. La première étape consiste à multiplier les levures. Cette multiplication se fait en aérobiose : elle sera donc favorisée par une oxygénation des jus après débourbage, soit par brassage du moût ou par microbulleage (« injection » d'air dans le moût) par exemple. Une fois l'oxygène du milieu consommé, les levures, en anaérobiose maintenant, se mettent à transformer le sucre contenu dans le jus en alcool et en gaz carbonique. La durée théorique de fermentation est de trois semaines, dans des conditions optimales.

Les arrêts de fermentation en cours de vinification sont plus fréquents sur certains cépages, l'Auxerrois ou Pinot Blanc cultivés en Alsace par exemple, et en fonction des années. L'expérience du vigneron lui permet d'identifier les cuvées « à risques », en fonction du cépage et des caractéristiques des raisins aux vendanges : ceux qui présentent un potentiel d'alcool supérieur à 12° ou 13° présentent un risque d'arrêt de fermentation alcoolique.

Les arrêts de fermentation conduisent à des vins dont le taux de sucre reste important (ce qui est un problème pour certains types de vins, dont les secs), avec un taux d'alcool insuffisant.

Le « levurage » ou re-levurage, ajout de levure additionnelle, ainsi que l'utilisation de différents intrants (sucres, stimulateurs de fermentation, levures sèches, vitamines, azote ammoniacal...) sont les techniques communément utilisées pour palier à ce problème, en préventif et en curatif, sans cependant que le résultat soit entièrement garanti. Elles consistent à rajouter des substances exogènes à la vigne, susceptibles d'entraîner des modifications d'ordre organoleptique et une dénaturation de la typicité du vin. La maîtrise de la température des cuves par chauffage peut être également être utilisée en prévention, mais elle est par contre très consommatrice d'énergie.

Les cuves en arrêt de fermentation peuvent être aussi laissées telles quelles ; en général, au printemps, avec l'augmentation de la température du chai, la fermentation peut repartir spontanément et se finir tranquillement. L'inconvénient majeur est l'immobilisation des cuves dans le chai, qui peut s'avérer problématique à l'approche de la nouvelle saison de vendange.

Au cours de la fermentation, des bactéries présentes dans les jus peuvent entrer en compétition avec les levures, se développer et prendre le pas sur ces dernières avec le risque d'« altérer » la qualité organoleptique du vin et de faire apparaître des arômes « volatils » non désirés. Le « sulfitage » des moûts est une technique employée pour éviter ce développement mais il oblige à employer par la suite des levures exogènes, et cela d'autant plus que la dose ajoutée est élevée. En effet, le sulfitage ayant un rôle antibactérien, antioxydant et antifongique, il inhibe aussi les levures présentent naturellement dans le moût. En fin de fermentation des levures, une fermentation de type malolactique peut se produire, par le développement de bactéries transformant l'acide malique présent dans le jus. Pour certains cépages, en fonction des régions, certains vignerons recherchent aussi cette fermentation, afin de conférer au vin des caractéristiques particulières. Chez d'autres vignerons, au contraire, elle n'est pas souhaitée et, de nouveau, le sulfitage en fin de fermentation des levures est alors utilisé, avec des doses plus ou moins fortes. Le sulfitage, comme méthode de contrôle de la fermentation, présente l'inconvénient de laisser des résidus de souffre plus ou moins importants dans le vin, causant d'une part des phénomène d'allergie chez certains, mais conduisant aussi à une perte dans l'expression pleine des saveurs du terroirs.

Au « Domaine Pierre Frick », aucun intrant exogène n'est utilisé pour la prévention des arrêts de fermentation. Les cuvées en arrêt sont gardées en cuve d'une année sur l'autre, le temps que la fermentation s'achève.

2.2. *Le procédé génodique*

Le procédé appliqué par Genodics est issu du brevet de Joël Sternheimer (référence 1) relatif à la régulation épigénétique de la biosynthèse des protéines. Il consiste à diffuser, au voisinage du sujet d'expérience, des suites de fréquences sonores d'une durée de quelques minutes, ressemblant à des musiques et que nous appelons 'protéodies'.

Ces protéodies sont susceptibles d'agir sur les êtres vivants de manière plus précise, et par là plus puissante, que les musiques habituelles. Elles correspondent en effet à des informations biologiques très spécifiques : il s'agit de la transposition en sons audibles de phénomènes vibratoires qui se produisent naturellement dans les cellules, lorsque celles-ci fabriquent les composants qui permettent leur croissance et leur équilibre (les protéines).

Du fait de cette correspondance, la diffusion d'une protéodie, spécifique de tel ou tel composant, va favoriser la production de ce composant par la cellule et, par conséquent, la fonction biologique associée à ce composant. Et inversement, la diffusion d'une autre protéodie peut inhiber la synthèse de ce composant. Il est ainsi possible de stimuler ou, au contraire, d'inhiber des activités particulières de la cellule : par exemple, augmenter l'activité de mécanismes de résistance naturelle de la cellule à différentes perturbations de son environnement, ou réduire l'activité des agents responsables de maladies, comme les virus. Ces phénomènes sont statistiquement plus efficaces s'ils sont en accord avec le « sujet », en l'occurrence ici le vin, ainsi qu'avec l'environnement qui l'entoure. Pour être pertinents, les mécanismes de « résonances » physiques sur lesquels ces phénomènes se fondent requièrent l'adhésion du sujet (référence 2). Ce point, fondamental dans cette approche du vivant, est à la fois une garantie pour son bon usage, et une difficulté pour le choix des séquences à diffuser.

Cette méthode est déjà appliquée sur différentes cultures, comme par exemple la vigne, pour la prévention de l'ESCA (maladie cryptogamique), ou pour l'augmentation du taux de sucre dans des tomates...

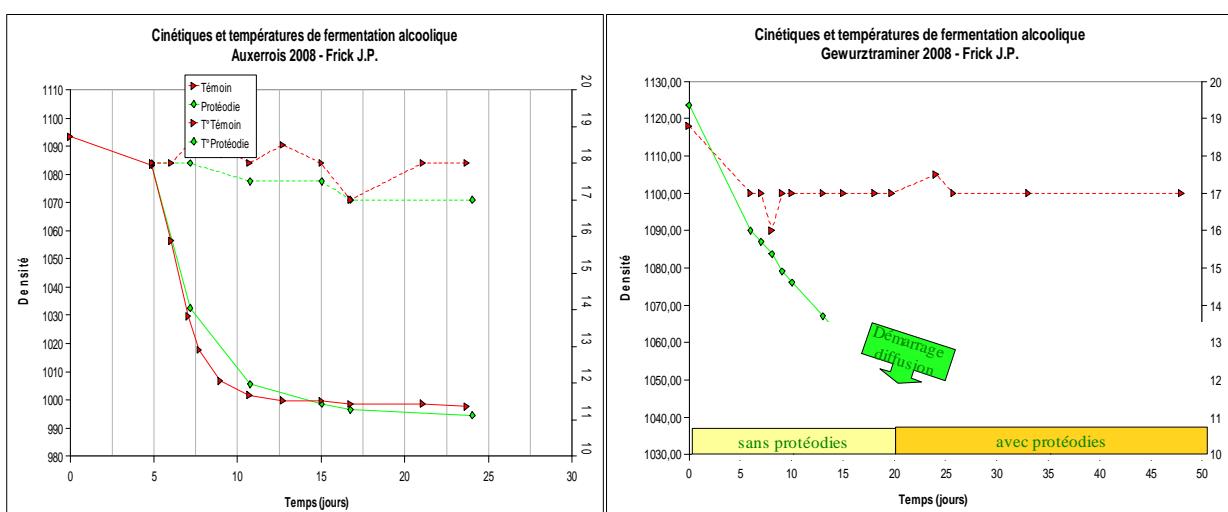
2.3. Essais antérieurs

La stimulation de la fermentation a déjà fait l'objet de d'expérimentations préalables, notamment en panification (référence 3).

En vinification, les deux premiers essais ont été réalisés chez Jean-Pierre Frick, en 2008, sur une cuvée d'Auxerrois et une de Gewurztraminer.

Sur l'Auxerrois, le procédé a été utilisé dès le début de la fermentation : deux lots avaient été isolés, l'un servant de témoin et le second recevant les protéodies. Le lot témoin a vu sa fermentation s'arrêter au bout de 20 jours, alors que le lot avec protéodies a terminé sa fermentation sans arrêt. Au 24^{ème} jour le lot témoin conservait 14,3 g/l de sucre, 13,5 g/l au 42^{ème} jour, alors que le lot avec protéodies n'avait plus que 2,7g/l le 24^{ème} jour, et 0 g/l le 42^{ème}.

Le second essai s'est fait sur une cuvée de Gewurztraminer qui semblait présenter des signes d'arrêt de fermentation au 19^{ème} jour. Des protéodies ont alors été diffusées et la fermentation s'est poursuivie : en un mois, le taux d'alcool est passé de 10,6° à 13,0°. Les deux graphiques ci-après présentent les cinétiques de ces deux fermentations.



Bien que ces premiers essais aient permis de constater des effets, ils n'ont pas permis de définir avec précision les fréquences et les conditions optimales pour les diffusions de protéodies. Chaque cuvée ayant sa typicité, chaque année apportant ses spécificités, le développement de cette application doit se faire par l'étude de différents cas de figures, chaque essai pouvant apporter des éléments nouveaux d'optimisation de la mise en œuvre du procédé Génodique.

Ces essais préalables ont également mis en évidence l'intérêt de développer un nouveau système de diffusion, capable d'être appliqué à une cuve en particulier, sans action sur ses voisines. En effet, dans un chai, d'une part toutes les cuvées ne présentent pas forcément de risque d'arrêt de fermentation, et d'autre part, pour certaines cuvées (par exemple des vins moelleux, des « vendanges tardives »...) il est au contraire souhaitable que la fermentation « n'assèche pas » complètement le vin (ne consomme pas tout le sucre), afin de garder un taux suffisant de sucre résiduel caractéristique de ce type de vins.

A cet effet, Jean Pierre Frick et son fils ont développé un cylindre étanche en inox, immergeable dans une cuve et qui peut contenir un système de diffusion.

3. Expérimentations réalisées

3.1. Matériels et méthodes

3.1.1. Choix des cuvées

Cette étude a été réalisée sur différents cépages et cuvées, choisis par Jean-Pierre Frick en fonction de leurs caractéristiques aux vendanges, fin septembre. Les raisins avec un potentiel d'alcool supérieur à 12°, mesuré à la vendange, s'avéreront présenter des risques d'arrêt de fermentation. Ils conduisent généralement à des vins avec un degré d'alcool de plus en fin de fermentation.

Différentes modalités d'application du procédé ont été également testées, avec notamment des variantes de traitements et de systèmes de diffusion. Pour certaines cuvées, des lots témoins ont été isolés pour comparaison ; sur d'autres cuvées, dont le volume était moindre, le procédé a été appliqué sans témoin.

De mi-septembre à décembre 2009, les quatre expérimentations présentées ci-après ont été menées.

3.1.2. Méthodes de suivi

Le suivi des fermentations a été réalisé par Jean-Pierre Frick, avec les indicateurs qu'il utilise dans ses chais. Il suit la cinétique de la fermentation en mesurant régulièrement la densité du jus et sa température.

La densité, mesurée à l'aide d'un densimètre, rend compte de l'évolution de la concentration en sucre. Aux vendanges, la densité des jus est généralement comprise entre 1,080 et 1,100 (par convention les notations 1080 et 1100 seront prises), soit supérieure à celle de l'eau (1,000), entre autre à cause du sucre contenu dans le jus. Au fur et à mesure de la transformation du sucre en alcool (de densité inférieure à celle de l'eau), la densité du jus va diminuer jusqu'à environ 0,995 en fin de fermentation. Pour donner une équivalence en alcool, la baisse de 0,001 point de densité correspond à la consommation de 2,5 g de sucre. Il faut par ailleurs consommer 17g de sucre pour augmenter de 1° d'alcool.

Les levures se développent sur une plage de températures optimales comprises entre 20 et 25° C. Des températures supérieures à 30°C sont létales pour les levures, alors qu'elles peuvent poursuivre leur fermentation à des températures avoisinant 10° C, mais de manière très ralentie.

3.1.3. Système de diffusions et protéodies

Pour ces expérimentations, les diffusions ont été lancées manuellement par Jean Pierre Frick à l'aide de lecteurs de CD. Les enregistrements ont été fournis sur CD. Pour certains essais, les diffusions se faisaient directement à partir d'un radio-CD avec haut-parleurs intégrés, sur des lots isolés dans une pièce réservée à cet effet.

Pour d'autres essais, Jean-Pierre a utilisé un lecteur CD, amplifié et diffusant sur un haut-parleur de contact fabriqué par la société japonaise FREY (Motoaki Suzukawa) : dans un cas, ce haut-parleur, introduit dans un cylindre étanche, était immergé dans la cuve allant recevoir des protéodies. Il faisait vibrer le cylindre et communiquait ainsi au jus les protéodies diffusées. Dans d'autres cas, ce haut-parleur de contact était posé sur un rebord de la cuve expérimentale (en inox dans ce cas), le transfert des vibrations se faisant directement par la cuve, dont toute la surface devenait alors source de diffusion. Dans les différents essais, le volume sonore a été réglé de sorte que la diffusion soit perceptible lorsque l'on posait une oreille sur la cuve.

Les séquences de protéodies diffusées ont été choisies pour stimuler la fermentation alcoolique de la levure. Il s'agit de la protéodie associée à l'enzyme alcool déshydrogénase (ADH) de *Saccharomyces cerevisiae*. Cette enzyme est l'une des principales de la chaîne métabolique de fermentation de cette levure. A chaque période de diffusion, la protéodie était passée en boucle pendant 20 minutes. La fréquence de diffusion était quotidienne.

3.2. Caractérisation des expérimentations menées

3.2.1. ESSAI N° 1 : Comparatif « lot témoin », « lot avec protéodies »



Cépage Auxerrois, Millésime 2009 Appellation Krottenfuesle

Vendange : le 14 septembre 2009

Débourbage : le 15 septembre 2009

Fermentation : à partir du 15 septembre

Particularités : à la vendange, cette cuvée avait un potentiel de 13,2° d'alcool. La séparation des lots « témoins » et « avec protéodies » a été réalisée le 19 septembre, après débourbage.

- **Caractéristiques du lot « témoin » :**

Contenant : foudre en bois, en place dans le chai.

Volume : 34 hectolitres

Microbullage réalisé après séparation.

- **Caractéristiques du lot « avec protéodies » :**

Contenant : cuve inox placée dans une pièce indépendante du chai

Volume : 2 hectolitres (cf photo ci-dessus)

Pas de microbullage.

Une diffusion de protéodies quotidienne, du 20 septembre au 3 novembre 2009, réalisée à l'aide du Radio-CD, diffusant dans une pièce indépendante du chai.

Les diffusions ont été démarrées 5 jours après le débourbage.

3.2.2. ESSAI N° 2 : Comparatif « lot témoin », « lot avec protéodies »

Cépage Pinot-Gris, Millésime 2009 Appellation Rot-Muvlé

Vendange : le 18 septembre 2009

Débourbage : le 19 septembre 2009

Fermentation : à partir du 23 septembre

Particularités : à la vendange, cette cuvée avait un potentiel de 13,2° d'alcool. La séparation des lots « témoins » et « avec protéodies » a été réalisée le 22 septembre, 3 jours après le débourbage.

- **Caractéristiques du lot « témoin » :**

Contenant : foudre en bois, en place dans le chai.

Volume : 46 hectolitres

- **Caractéristiques du lot « avec protéodies » :**

Contenant : cuve plastique isolée dans une pièce

Volume : 1 hectolitre

Une diffusion de protéodies quotidienne, du 23 septembre au 4 novembre 2009, réalisée à l'aide du Radio-CD, diffusant dans une pièce indépendante du chai.

Les diffusions ont été démarrées dès le début de la phase de fermentation alcoolique.

3.2.3. ESSAI N° 3 : Relance de la fermentation en arrêt



- **Cépage Pinot-Blanc, Millésime 2009**

Vendange : le 15 septembre 2009

Débourbage : le 16 septembre 2009

Fermentation : à partir du 17 septembre

Particularités : à la vendange, cette cuvée avait un potentiel de 13,0° d'alcool. Les protéodies ont commencé à être diffusées le 28 septembre, soit 12 jours après le début de la fermentation.

Contenant : foudre en bois, en place dans le chai.

Volume : 23 hectolitres

Une diffusion de protéodies quotidienne, du 28 septembre au 13 octobre 2009, réalisée à l'aide du haut-parleur de contact, diffusant à l'intérieur d'un cylindre étanche, placé à l'intérieur du foudre. Les protéodies ont été stoppées le 13 octobre, suite au démarrage de la fermentation malolactique. A la fin de la fermentation malolactique, la fermentation alcoolique a repris spontanément.

démarrage de la fermentation malolactique. A la fin de la fermentation malolactique, la fermentation alcoolique a repris spontanément.

- **Cépage Riesling Verkel, Millésime 2009**

Vendange : le 24 septembre 2009

Débourbage : le 25 septembre 2009

Fermentation : à partir du 27 septembre

Particularités : à la vendange, cette cuvée avait un potentiel de 13,0° d'alcool. Le 28 octobre, soit un mois après le début, la fermentation s'est arrêtée. La fermentation malolactique a eu lieu. C'est seulement ensuite que des protéodies ont été diffusées, du 4 au 12 novembre, à raison de 1 à 3 diffusions par jour, sans succès, la fermentation n'ayant pas repris. Les diffusions ont été réalisées avec un haut-parleur de contact, posé sur un rebord de la cuve inox.

Contenant : Cuve inox

3.2.4. ESSAI N° 4 : Lot seul « avec protéodies »



Cépage Riesling Saint Lehm, Millésime 2009

Vendange : le 23 septembre 2009

Débourbage : le 24 septembre 2009

Fermentation : à partir du 25 septembre

Particularités : à la vendange, cette cuvée avait un potentiel de 12,2° d'alcool. Les protéodies ont commencé à être diffusées le 27 septembre, soit 2 jours après le début de la fermentation.

Caractéristiques du lot « avec protéodies » :

Contenant : cuve inox, en place dans le chai.

Volume : 9 hectolitres

Une diffusion de protéodies quotidienne, à partir du 27 septembre, réalisée à l'aide du haut-parleur de contact, posé sur un rebord de la cuve inox. Les diffusions ont été stoppées le 26 octobre, au début de la fermentation malolactique.

4. Résultats et commentaires

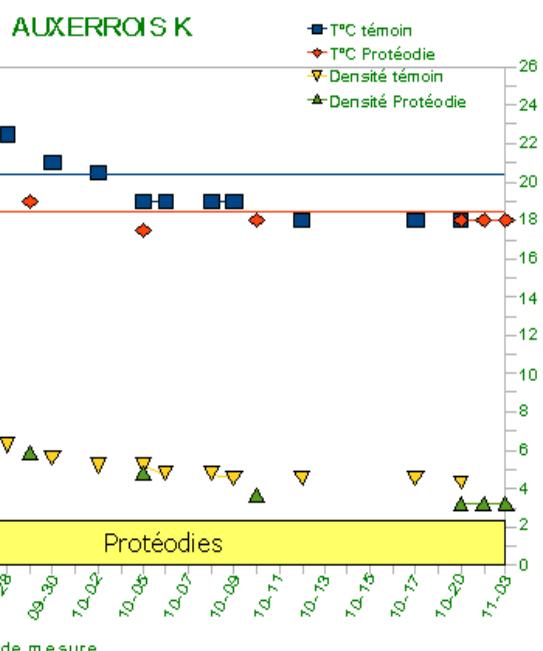
4.1. Résultats ESSAI 1

La courbe et le tableau ci-contre rendent compte de la cinétique de fermentation du lot témoin et du lot avec protéodies.

Le lot témoin a vu sa fermentation s'arrêter le 9 octobre, soit 24 jours après le débourbage. Entre le 9 octobre et le 20 octobre, la densité n'a pas bougé, confirmant l'arrêt.

Le 14 octobre, une analyse réalisée par un laboratoire d'oenologie donnait 21,8 g/l de sucres résiduels pour un taux d'alcool de 12,76 °, soit un potentiel de 14°. En outre, une fermentation malolactique s'était produite.

Le lot avec protéodies avait quasiment fini sa fermentation alcoolique vers le 10 octobre, avec 997 points de densité. Le 20 octobre, une mesure de son taux de sucre résiduel donnait 10 g/l pour une densité de 995. Le 10 novembre, le vin



a été déclaré complètement sec, par une analyse donnant 2,5 g/l de sucre résiduel. Il est à noter que le lot avec protéodies n'a pas fait de fermentation malolactique.

Date	T°C témoin	T°C Protéodie	Densité témoin	Densité Protéodie
09-16	19	19	1094	1094
09-17	19	19	1094	1094
09-19	19	19	1080	1080
09-20	22		1065	
09-20	23		1057	
09-21	23,5		1048	
09-21	23		1046	
09-22	23		1037	
09-22	23		1034	
09-23	24		1026	
09-25	24		1015	
09-27		19		1013
09-28	22,5		1009	
09-29		19		1007
09-30	21		1006	
10-02	20,5		1004	
10-04	19		1004	
10-04		17,5		1002
10-06	19		1002	
10-08	19		1002	
10-09	19		1001	
10-10		18		997
10-12	18		1001	
10-17	18		1001	
10-20	18		1000	
10-20		18		995
10-30		18		995
11-03		18		995

● Analyse et interprétations des résultats:

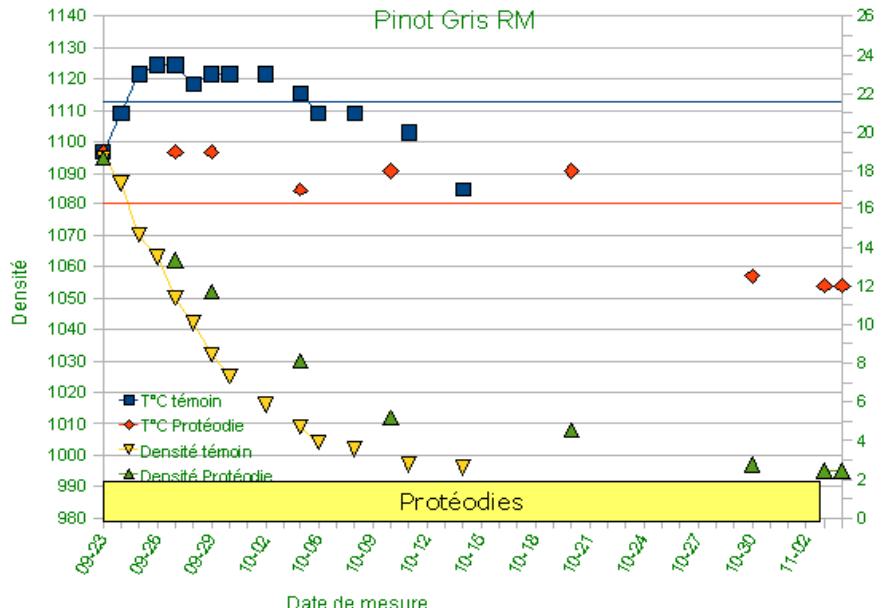
Sur le lot témoin, le microbullage effectué, son volume plus important et sa température moyenne supérieure de 3 degrés auraient du être plus favorable au bon déroulement de la fermentation par rapport au lot avec protéodies. Dans ce premier essai, les protéodies, appliquées dans des conditions plus défavorables à priori, semblent avoir favorisé la fermentation alcoolique. Cet essai corrobore aussi les observations réalisées en 2008, sur un même type de cuvée d'Auxerrois. En 2008, pour des diffusions également débutées après cinq jours de fermentation,

et dans des conditions semblables (séquences, fréquence, emplacement), le lot avec protéodies avait été au terme de la fermentation, alors que le témoin s'était arrêté. Par ailleurs, il est à souligner que le lot avec protéodies n'a pas fait de fermentation malolactique.

4.2. Résultats ESSAI 2

Sur le « Pinot Gris » du second essai, les deux lots sont allés au bout de la fermentation, le lot témoin a fini en trois semaines. Le lot avec protéodies a fini, quant à lui, deux semaines après. Tout le long de la courbe de cinétique, il présentait du retard par rapport au témoin. Dans cet essai, le lot témoin a fini à 2,5 g/l de sucre résiduel, en ayant fait sa fermentation malolactique. Là aussi, le lot avec protéodies n'a pas développé cette fermentation, et il a fini à 8 g/l de sucre résiduel.

Ce taux de sucre résiduel sur Pinot gris reste important ; néanmoins, vu le fort potentiel d'alcool de la cuvée, le résultat obtenu est compatible avec son soutirage, pour commercialisation, en satisfaisant aux exigences du domaine.



Dates	T°C témoin	T°C Protéodie	Densité témoin	Densité Protéodie
09-23	19	19	1095	1095
09-24	21		1087	
09-25	23		1070	
09-26	23,5		1063	
09-26	24,5		1057	
09-27	23,5		1050	
		19		1062
09-28	22,5		1042	
09-29	23		1032	
09-29		19		1052
09-30	23		1025	
10-01				
10-02	23		1016	
10-03				
10-04	22		1009	
10-04		17		1030
10-05				
10-06	21		1004	
10-07				
10-08	21		1002	
10-09				
10-10		18		1012
10-11	20		997	
10-12				
10-13				
10-14	17		996	
10-20		18		1008
		12,5		997
11-03		x		995
11-10		x		995

● Analyse et interprétations des résultats :

Comme pour l'essai 1, le lot témoin présentait des conditions plus favorables pour la fermentation que le lot avec protéodies, avec ici une température moyenne supérieure d'environ quatre degrés sur les 15 premiers jours. Néanmoins, dès le début de la fermentation, le lot avec protéodies a pris du retard. Une particularité à souligner est le fait que les protéodies ont été diffusées dès le début de la fermentation, c'est à dire pendant la phase aérobie, où la levure consomme l'oxygène dissout dans le jus pour se multiplier.

Une hypothèse à faire serait de vérifier si la stimulation de la fermentation alcoolique avec des protéodies, pendant la phase aérobie, conduit à une moindre multiplication des levures, à l'origine du retard constaté sur la fermentation. En

regardant le nombre de points de densité perdus par le jus, au bout de 10 jours et

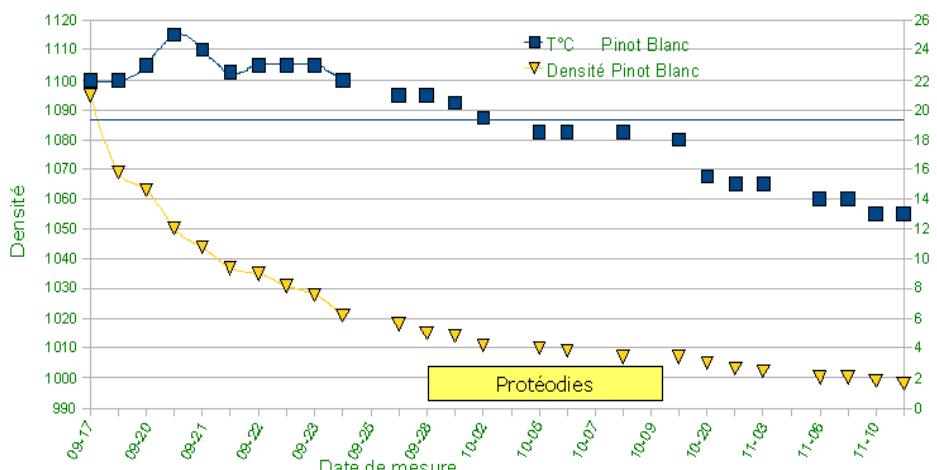
de 15 jours de fermentation (voir « tableau de synthèse » au chapitre 5), on remarque que le lot avec protéodies de l'essai 2 semble se comporter différemment des deux lots de l'essai 1 et du témoin de l'essai 2. Pour ces trois derniers, la densité a baissé sensiblement de la même manière au 10^{ème} et au 15^{ème} jours de fermentation, soit +/- 80 points et +/- 90 points respectivement. La baisse pour le lot avec protéodies de l'essai 2 n'est que de +/- 65 points au 10^{ème} jour, ceci semblant accréditer l'hypothèse précédente. Il est ici encore à noter que seul le témoin a fait sa fermentation malolactique.

Une question reste ouverte concernant l'efficacité de la diffusion du son à travers les différents contenants : la diffusion semble bien se faire à travers une cuve inox, peut être qu'elle est de moindre efficience sur une cuve en plastique.

4.3. Résultats ESSAI 3

● Sur le Pinot blanc

Les protéodies ont été diffusées 12 jours après le début de la fermentation, sur une cuvée qui montrait alors des signes de ralentissement de la fermentation. La diffusion s'est déroulée pendant



9 jours. Comme la cuvée partait en fermentation malolactique, la diffusion des protéodies a été arrêtée. Une fois la fermentation malolactique achevée, la fermentation alcoolique a repris spontanément, pour conduire à un vin avec une densité de 998 le 12 novembre, et un taux de sucre résiduel de 5 g/l mesuré en décembre.

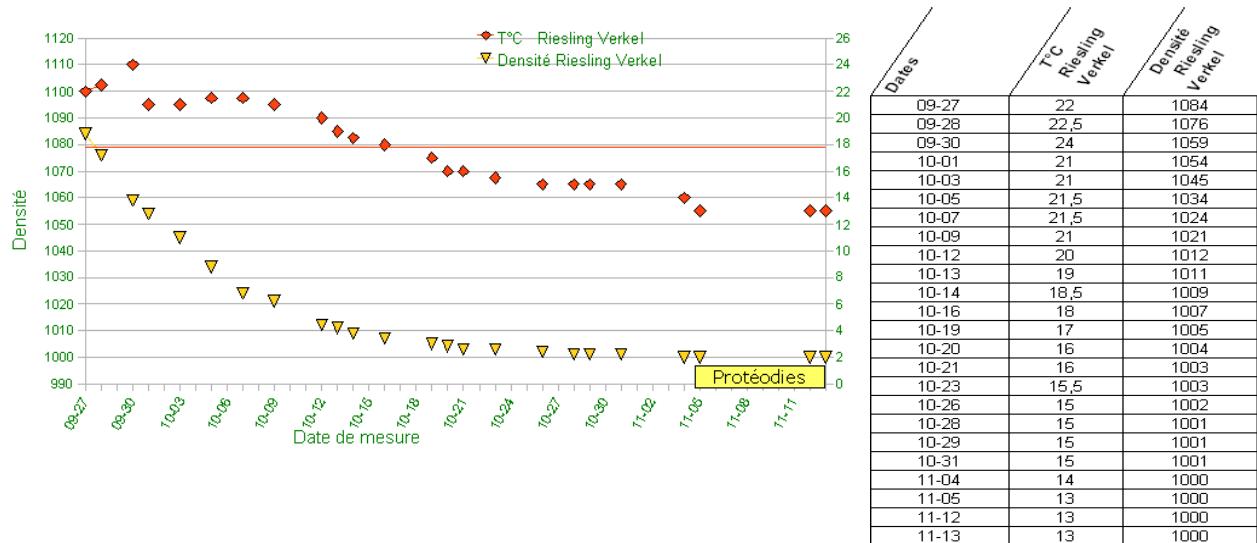
Dates	T°C Pinot Blanc	Densité Pinot Blanc
09-17	22	1095
09-20	22	1069
09-20	23	1063
09-21	25	1050
09-21	24	1044
09-22	22,5	1037
09-22	23	1035
09-23	23	1031
09-23	23	1028
09-25	22	1021
09-25		1018
09-27	21	1018
09-28	21	1015
09-30	20,5	1014
10-02	19,5	1011
10-03		1011
10-05	18,5	1010
10-07	18,5	1009
10-07		1007
10-12	18,5	1007
10-09		1007
10-09	18	1007
10-20	15,5	1005
10-30	15	1003
11-03	15	1002
11-04		1002
11-06	14	1000
11-09	14	1000
11-10	13	999
11-12	13	998

Analyse et interprétations des résultats :

Les conditions de cet essai, notamment en début de fermentation, semblent identiques à ceux observés sur les témoins des deux premiers essais. A 10 jours de fermentation, la densité avait baissé de 77 points. Les protéodies, avec cette fois-ci une diffusion par haut parleur de contact immergé à partir du 12^{ème} jour seulement, ont été utilisée avec l'idée de relancer une fermentation qui semblait ralentir. Après 15 jours de diffusion, les protéodies ont été arrêtées du fait du démarrage de la malolactique, puis la fermentation alcoolique a repris spontanément, pour s'achever un mois plus tard. Sans témoin dans ce cas, il est difficile de tirer des conclusions. Néanmoins, on constate que la fermentation s'est achevée. La reprise spontanée de la fermentation alcoolique après la malolactique est assez exceptionnelle, mais cette année une autre cuvée de Pinot (sans protéodies) a également eu ce type de comportement.

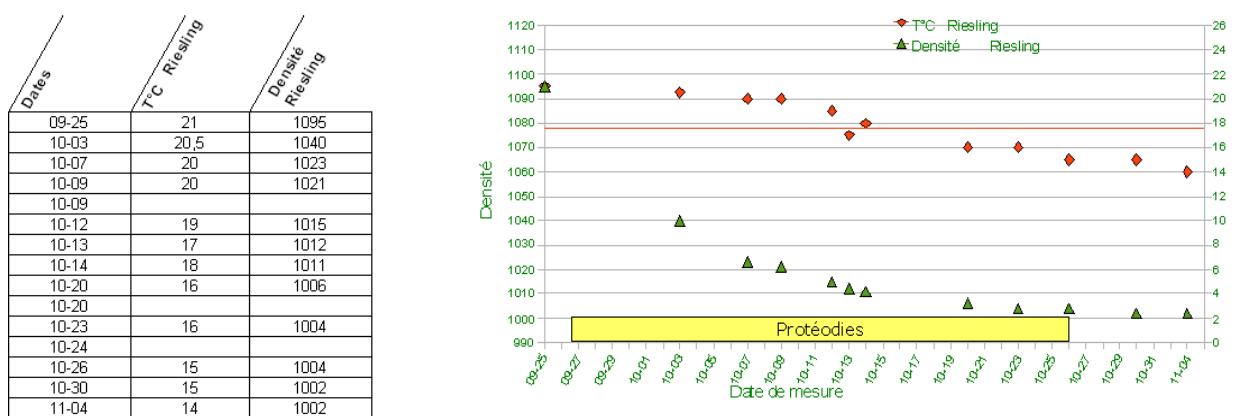
● Sur le Riesling Verkel

Ici, les protéodies ont été diffusées après l'arrêt total de la fermentation. Pendant 15 jours, la densité du jus n'a plus bougé et c'est alors qu'ont débuté les diffusions. Le résultat n'est pas concluant dans ce cas. Pour une application curative, après arrêt de fermentation, les modalités de diffusion des protéodies appliquées ici n'apportent pas de bénéfice.



La courbe de cinétique de ce Riesling est intéressante à analyser. Elle donne un modèle d'arrêt de fermentation différent de celui que nous avons observé sur le témoin de l'essai 1. En effet, ici, au bout de 10 jours de fermentation, la densité n'a baissé que de 60 points. Serait-ce là un critère pouvant annoncer un risque important d'arrêt de fermentation. Autrement dit, si la densité d'une cuvée ne baisse, sur ses 10 premiers jours, que d'environ 60 points au lieu de 80, cela pourrait indiquer que cette cuvée ne finira pas sa fermentation. Par contre, le fait qu'une cuvée démarre bien sa fermentation (comme le témoin de l'essai 1), ne garantit pas l'absence de risque d'arrêt de fermentation.

4.4. Résultats ESSAI 4



Pour ce dernier essai, l'usage de protéodies n'a pas eu de résultat. La cuvée s'est arrêtée de fermenter.

Il semblerait que nous soyons dans un cas similaire à l'essai 2, avec des diffusions de protéodies trop précoces, pendant la phase de multiplication des

levures. Après 10 jours de fermentation, la cuvée n'a d'ailleurs perdu que 65 points de densité. La courbe de température ne comporte pas d'augmentation en début de fermentation, comme dans les autres cinétiques de fermentation observées. Par rapport à l'essai 2, qui a été au bout de sa fermentation, ici, la stimulation de l'ADH en début de fermentation n'aurait pas permis un développement suffisant des levures, conduisant à l'arrêt. La fermentation malolactique s'est aussi faite ici, vers le 26 octobre.

Une particularité de cet essai, par rapport aux autres, est l'utilisation du haut parleur de contact, placé sur la cuve. Contrairement au pinot blanc de l'essai 3 (où le son traversait bien le jus puisque nous l'entendions de l'extérieur), dans ce cas nous n'avons pas pu vérifier la diffusion du son dans la cuve. Nous entendions bien le son sur l'ensemble de la cuve, mais nous n'avons pas pu contrôler son niveau de diffusion dans le jus. Ce point sera à vérifier.

5. Conclusions et perspectives

5.1. Application de protéodies à la prévention des arrêts

Sur les 3 essais de prévention des arrêts de fermentation (essais 1, 2 et 4), deux sur trois ont été concluants dans la mesure où la fermentation a été jusqu'à son terme avec l'utilisation de protéodies, ceci d'autant plus que pour les deux essais dont les fermentations alcooliques ont été jusqu'à leur terme avec des protéodies (essais 1 et 2), l'un des témoins sans protéodies s'est arrêté (voir tableau de synthèse ci-dessous)

<i>Lots Témoin</i>		Essai 1	Essai 2	Essai 3 Riesling Verkel	Essai 4
Baisse de densité	En 10 jours	+/-80 pts	+/-80 pts	+/-60 pts	
	En 15 jours	+/-90 pts	+/-90 pts	+/-70 pts	
Arrêt de Fermentation		OUI	NON	OUI	

<i>Lots avec protéodies</i>		Essai 1	Essai 2	Essai 3 Blanc	Pinot	Essai 4
Baisse de densité	En 10 jours	+/-80 pts	+/-65 pts	+/-75 pts	+/-65 pts	
	En 15 jours	+/-90 pts	+/-75 pts	+/-85 pts	+/-75 pts	
Arrêt de Fermentation		NON	NON	NON	OUI	
Plage de jours de diffusion		du 5ème au 44ème jour	du 1er au 42ème jour	du 12ème au 27ème jour	du 2ème au 31ème jour	

Il semble cependant que le fait de démarrer les diffusions en tout début de fermentation soit contre-indiqué. Ceci pourrait expliquer le retard pris dans l'essai 2 et l'échec constaté dans l'essai 4.

En 2008, dans le test sur l'Auxerrois, les diffusions avaient débuté le 5^{ème} jour après le début de fermentation, et avaient abouti à un résultat similaire à celui de l'essai 1. Le témoin s'était arrêté de fermenter, alors que le lot avec protéodies avait été jusqu'au bout. Une diffusion de l'ADH, après le 5^{ème} jour de fermentation, semble être donc pouvoir être préconisée pour prévenir les arrêts de fermentation sur des cuvées à risques. Cet aspect des modalités de diffusion doit être pris en compte et vérifié lors de prochains essais.

Sur les 2 essais de relance de fermentation (sur Riesling Verkel et Pinot Blanc dans l'essai 3), un sur les deux a repris et terminé sa fermentation. On peut supposer que les diffusions ont été lancées trop tard sur le Riesling. Au regard de sa faible baisse de densité en début de fermentation, les levures de cette cuvée ne se seraient pas assez multipliées pour assurer toute la fermentation.

Une baisse de densité de l'ordre de 60 points sur les 10 premiers jours de fermentation pourrait s'avérer être un bon indicateur de risque d'arrêt de fermentation. Sur les trois cas où nous avons observé cette baisse faible de densité sur les 10 premiers jours, les fermentations ont eu des difficultés : deux d'entre elles se sont arrêtées, et la troisième a pris du retard.

Il serait intéressant, dans de prochains tests, de repérer ce type de cas et de lancer les diffusions de protéodies à partir de ce moment (vers le 11^e ou 12^e jour par exemple, comme sur le Pinot Blanc de l'Essai 3), comme autre méthode de prévention.

Il est aussi nécessaire de parler des levures, de leurs caractéristiques et spécificités, puisque que c'est elles que nous nous sommes proposés de stimuler. Il est fort probable qu'elles se composent d'une population très diversifiée ; c'est d'ailleurs bien cela qui est souhaité, pour donner au vin son caractère et sa

typicité. En stimulant l'ADH commune à toutes les levures, c'est toute la diversité de la population des levures que l'on cherche à stimuler, afin de conserver au vin le caractère de son terroir.

Le fait que la fermentation malolactique n'ait pas eu lieu sur les deux cuvées qui ont reçu des protéodies passées à titre préventif (essais 1 et 2) est un point intéressant. Les levures stimulées par la protéodie de l'ADH, donc plus actives, pourraient entrer en compétition avec les bactéries malolactiques, les empêchant de se développer.

Ceci suggère le développement d'une application pour diminuer l'utilisation de sulfitage des moûts. Dans les essais réalisés chez Jean Pierre Frick, aucun des moûts n'était sulfité. Si les protéodies passées en prévention des arrêts de fermentation alcoolique limitent le développement de bactéries, leur usage pourrait peut être remplacer le sulfitage des moûts, où au moins permettre sa diminution.

Pour ce qui est des systèmes de diffusions, la diffusion par haut parleur classique confirme les résultats obtenus sur les premiers essais. Par contre, elle n'offre pas la souplesse d'utilisation constatée avec les hauts parleurs de contact. L'efficacité de la diffusion procurée par ce système est à re-tester, et à confirmer avec des mesures de son dans la cuve, lorsque elle se fait par contact sur l'extérieur de cette dernière.

5.2. Perspectives

a) Affiner les modalités d'application

Comme nous l'avons vu, il serait intéressant de vérifier la préconisation de démarrage des diffusions après le 5^{ème} jour, ou lorsque les levures ont fini leur phase aérobie. D'autre part, sur des cuvées qui présentent une baisse de densité insuffisante dans les 10 premiers jours de fermentation, sans protéodies au départ, l'effet de diffusion de protéodies à partir de ce moment est à étudier.

Une étude sur la modulation de la durée quotidienne de diffusion pourrait aussi être lancée. Le seul essai fait dans ce sens est celui du Riesling de l'essai 3, qui ne s'est pas avéré concluant.

b) Elargir le choix des protéodies

Trouver de nouvelles protéodies est également un axe d'amélioration. Pour la prévention des arrêts de fermentation, nous n'avons utilisé que la protéodie de l'ADH. D'autres protéines de la levure participent aussi à la fermentation. En fin de fermentation par exemple, le métabolisme de la levure est freiné par l'alcool, mais aussi par des lipides qu'elle produit et qui finissent par la couvrir et l'étouffer. Travailler sur cet aspect peut s'avérer pertinent.

On pourrait aussi envisager d'accompagner la levure en stimulant en particulier son développement sur les premiers jours de fermentation, pendant la phase aérobie, avec des protéines de respiration et non pas de fermentation.

c) Elargir les applications à d'autres problématiques, en vinification

L'étude de l'impact de protéodies spécifiques sur la prévention de la fermentation malolactique peut ouvrir un autre champ d'applications.

Une recherche sur la diminution du sulfitage des moûts par l'utilisation de protéodies est aussi un nouvel axe de développement qui pourra intéresser un bon nombre de vignerons.

6. Références

Référence 1 : J.Sternheimer, « Method for epigenetic regulation of protein biosynthesis by scale resonance », brevet européen EP0648275B1.

Référence 2 : J.Sternheimer, « Dialoguer avec le vivant », Revue Alliance, N°3, mars-avril 05

Référence 3 : P.Ferrandiz, « Procédé de régulation épigénétique de la synthèse des protéines, essais en panification », Industries des céréales, nov-déc. 1993.