



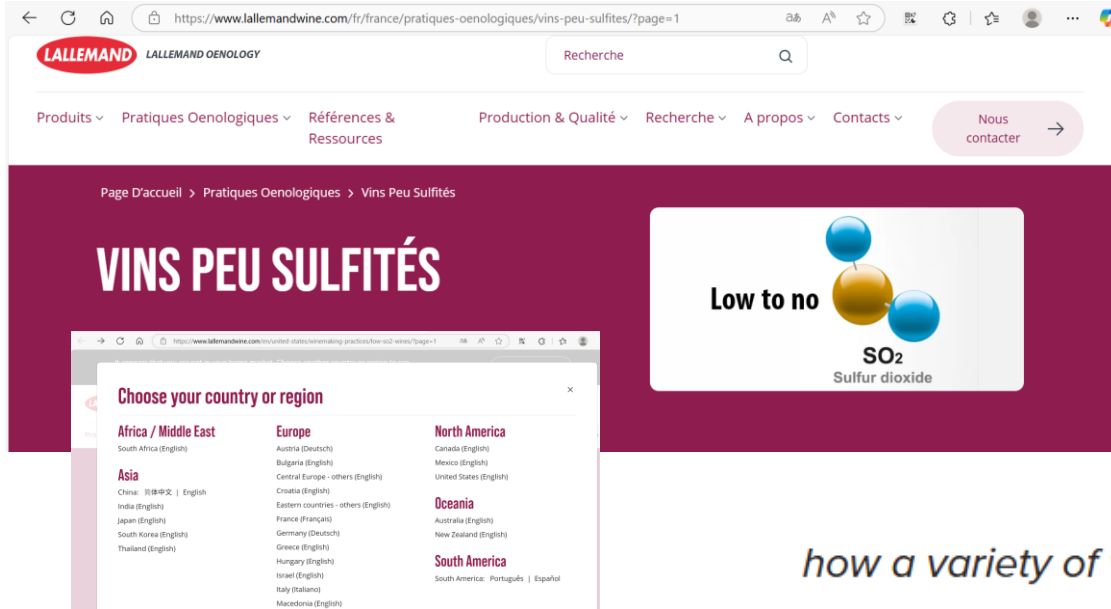
Low SO₂ Winemaking

2025 Episode #2

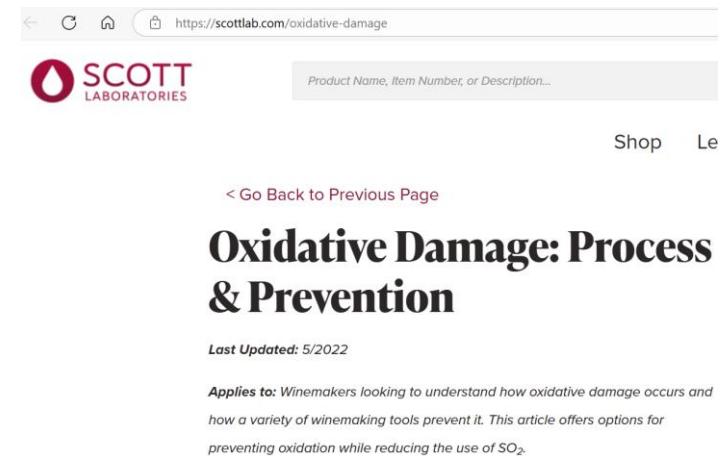
~ A new biological tool against
oxidation and spoilage microbes ~

2025年6月20日（金） セティ株式会社主催webinar

世界各国のワイン業界における市場要請



<https://www.lallemmandwine.com/fr/france/pratiques-oenologiques/vins-peu-sulfites/?page=1>



how a variety of winemaking tools prevent it. This article offers options for preventing oxidation while reducing the use of SO₂.

<https://scottlab.com/oxidative-damage>

ワイン醸造技術における新たな挑戦 ver. 2025

Low SO2 Wine making プロトコル例

Webinar Episode #1

Webinar Episode #2

工程／タイミング	目的	適用製品	添加レート例	メカニズム
 ぶどう破碎時	酸化劣化抑制	Glutastar	30g/hL	不活性酵母由来のグルタチオンとその類縁物質により・・・ 1. 香気成分の保護 2. 褐変抑制
 破碎直後の もろみ	酸化劣化抑制 変敗菌抑制	INITIA	10-20g/hL	生菌によるもろみ中の溶存酸素の消費、銅イオン減少と栄養消費により・・・ 1. 香気成分の保護 2. 褐変抑制 3. 変敗菌の増長抑制
 酵母接種	亜硫酸効率向上	ICV OPALE2.0 PERSY SENSY ICV OKAY	25g/hL	亜硫酸に結合し不活化する成分（アセトアルデヒド）や亜硫酸そのものの産生が極めて少ない菌株
 Co-inoculation	変敗菌抑制	MBR各種 (<i>O.oeni</i>)	1g/hL	もろみの早期占有
	変敗菌抑制	ML PRIME (<i>L. plantarum</i>)	10-20g/hL	もろみの早期占有
 おり下げ	変敗菌抑制	Bactiless	20-50g/hL	変敗菌数の減少と吸着除去（乳酸菌、酢酸菌）
	変敗菌抑制	No Brett Inside	4-10g/hL	変敗菌数の減少と吸着除去（ブレタノマイセス）

Webinar Episode #3

ご注意事項

- ・現状では依然、必要最低限の亜硫酸添加はなされるべきとの考え方に依ります。
- ・本プロトコル例は、今後技術的知見の蓄積により改良更新される可能性があります。
- ・本プロトコル例をご活用の際は、予め小試験等で有用性をご確認のうえ慎重にご導入下さい。
- ・例示される各製品について、本来の法的用途を前提に副次的用途が記載されている場合もございます。

弊社カタログ2025, p3-4

有用微生物による亜硫酸機能代替のアイデア

White and rosé wine bioprotection with a specific *M. pulcherrima*: alternative to SO₂ combining anti-spoilage and antioxidant properties

Amandine DEROITE, Vincent GERBAUX, Isabelle DAVANTURE, Céline RAYNAL, Marion BASTIEN, Anne ORTIZ-JULIEN

ASEV 2022 - Microbiology: Non-Saccharomyces Session

フレッシュな赤や銅含量の高い赤にも？



Deroite, ASEV 2022, San Diego

発酵開始前のマストが孕む危険性

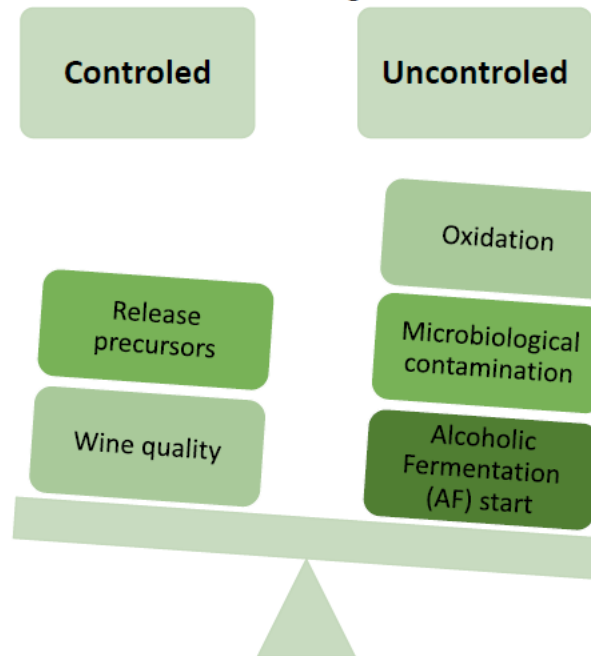


Introduction

Prefermentative steps in white and rosé wines: benefits and risks

Ex: skin contact, pressing, stabulation, clarification, settling

S. cerevisiae 選抜酵母が
マストを占有するまでの間、
コントロールが上手くいかないと・・・



酸化劣化

変敗菌汚染

意図せざる発酵開始



Deroite, ASEV 2022, San Diego

発酵開始前のマストを亜硫酸以外の方法で守れないか？

Introduction

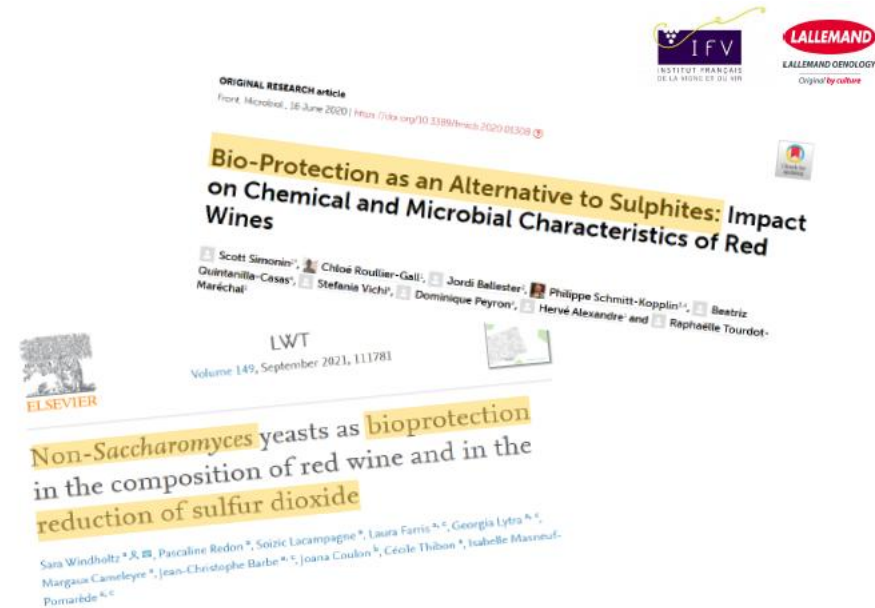
How to control prefermentative steps?

亜硫酸は微生物汚染と酸化を予防する
常套手段

- しかし、消費者側は
“レスケミカル”を好む傾向

「“亜硫酸減量”と“品質維持”の両立”
というチャレンジ

Bioprotection という選択肢
Non-Saccharomyces(NSC)への着眼



既存NSCには
「変敗菌抑制機能」しか期待できなかった



Deroite, ASEV 2022, San Diego

亜硫酸機能代替NSCに求められる特性



Objectives

- Select a yeast gathering following characteristics:

Protection against oxidation

酸化防止能

Powerful antimicrobial action

強力な変敗菌抑制能

Non-fermentative

発酵に悪影響を及ぼさない

Able to grow and survive at low temperature

低温での増殖・生存能

Aim: alternative to SO_2 for both anti-spoilage and anti-oxidant properties, to apply during white and rosé prefermentative steps

Introduction



Selection

Characterization

Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

Metschnikowia pulcherrima Mp4 = INITIAの選抜 (1/500)

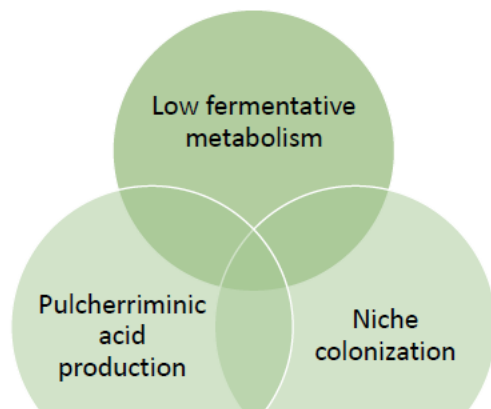
Yeast selection

- In collaboration with Vincent Gerbaux (IFV)
- Study of the diversity of 500 yeasts isolated in Chardonnay from Burgundy (France), among which 100 *M. pulcherrima*



Compatible with white and rosé winemaking techniques

M. Pulcherrima described as:



M.P種

「一般に変敗菌抑制は期待できそうだが
酸化防止機能はどうか？」

Selection criteria

- Fast oxygen consumption } Protection against oxidation
- Good survivability at low temperature } Protection against spoilage
- Very low VA production
- Very low fermentative capacity } No alteration, positive impact on the final product
- Positive aromatic balance

Metschnikowia pulcherrima Mp4 selected in 2017 for its ability to quickly consume dissolved oxygen



Deroite, ASEV 2022, San Diego

Mp4(INITIA)の酸化防止機能確認試験



Yeast characterization

Protection against oxidation

- Sauvignon (Val de Loire)
- Riesling (Alsace)
- Grenache Rosé (Provence)

3 different aromatic grapes

Cold stabulation
4 days at 12°C

- Control
- SO₂ 50mg/L
- Mp4 : **10 g/hL**

- Oxygen consumption
- Impact on wine oxidation: thiols and color

Fermentation monitoring

Introduction

Selection

Characterization



Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

Mp4(INITIA)の酸化防止機能確認試験：溶存酸素消費能

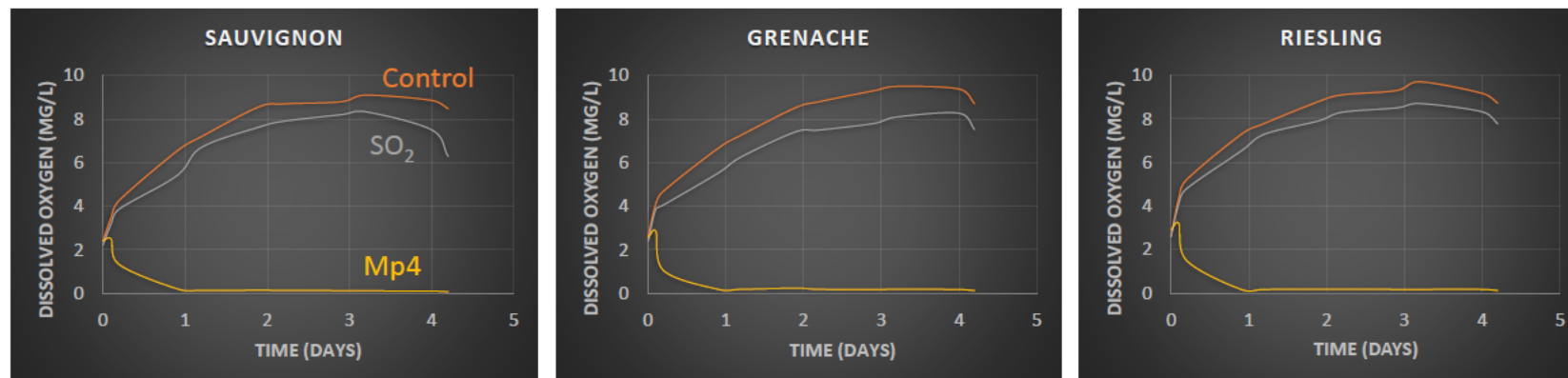
Yeast characterization



Protection against oxidation

SO₂ → キノントラップ
INITIA → O₂消費

Oxygen consumption during cold stabulation at 12°C



接種後24時間以内に溶存酸素消費完了

Cf. スライド 24~28 FAQ

Introduction

Selection

Characterization

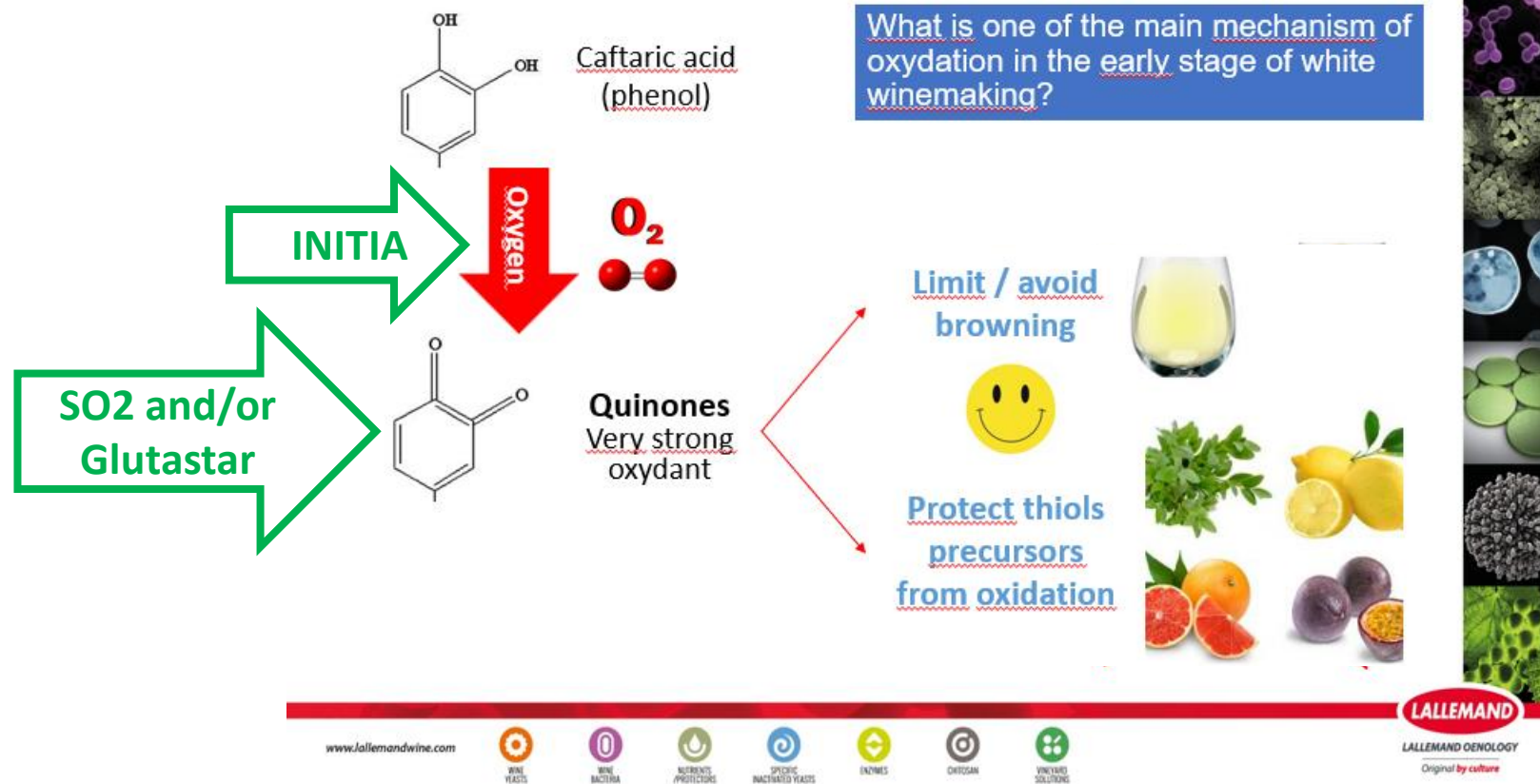


Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

Mp4(INITIA)、亜硫酸／グルタスターの異なる作用点

Protection from oxydation in prefermentative steps



Dumont, Bastien and Harrop, Lallemmand Inc. internal conf. 2019 Osloを一部改変

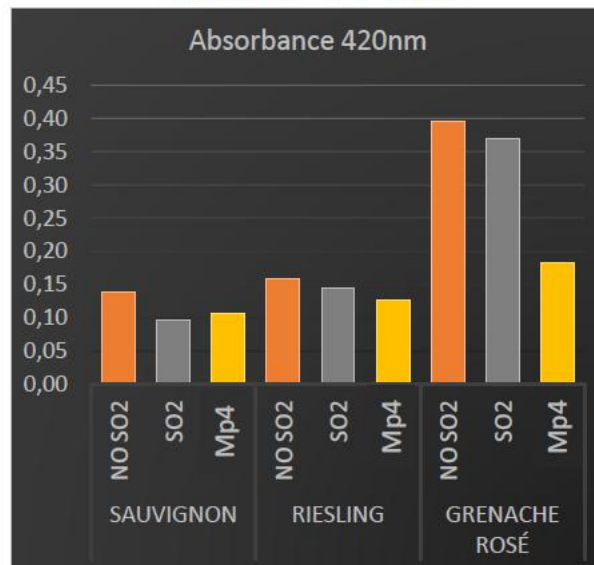
Mp4(INITIA)の酸化防止機能確認試験：色調



Yeast characterization

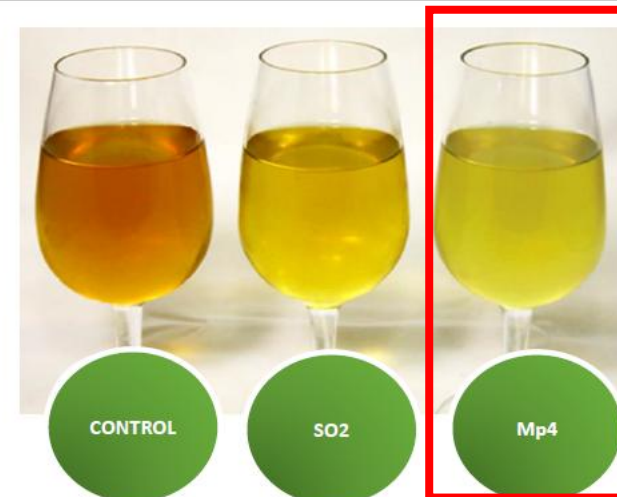
Protection against oxidation

Impact on wine color



A420nm is significantly reduced with Mp4 in Grenache rosé, indicating a lower oxidation

Visible to the naked eye



Introduction

Selection

Characterization

Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

Cf. SB trial at 8C for 24h (カタログ2025 p22)

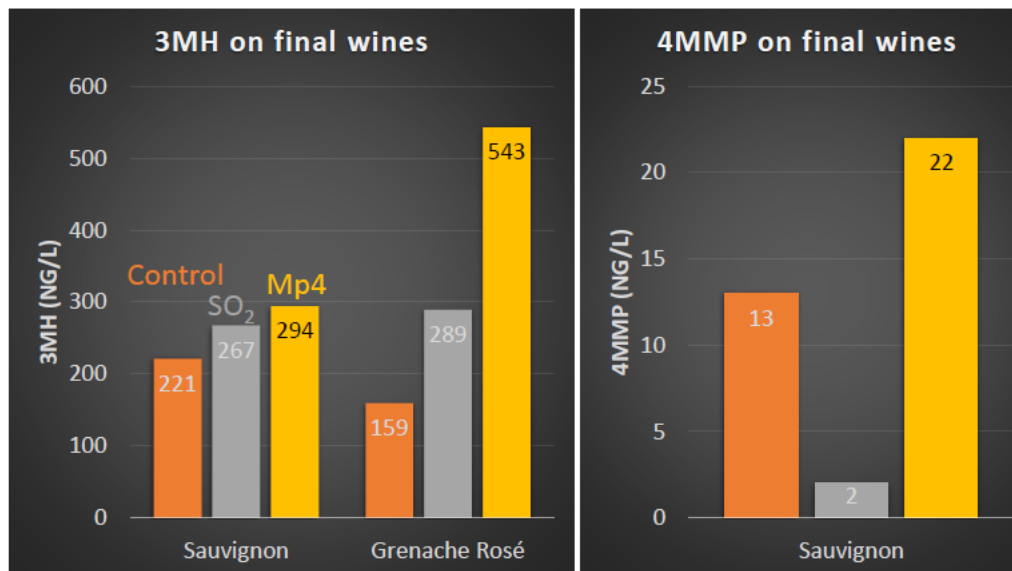
Mp4(INITIA)の酸化防止機能確認試験：チオール



Yeast characterization

Protection against oxidation

Impact final thiols concentration in wines



Better thiols preservation with Mp4

Introduction

Selection

Characterization



Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

Mp4(INITIA)の酸化防止機能確認試験：他株比較



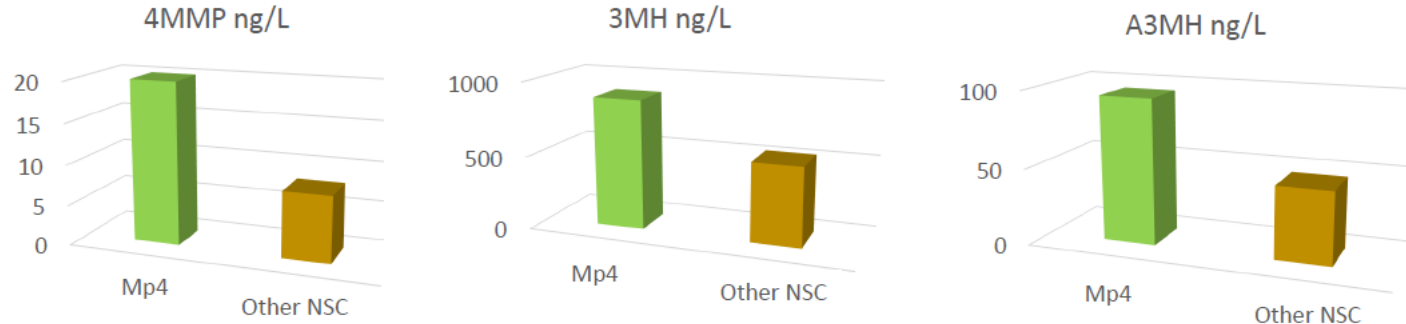
Yeast characterization

Protection against oxidation

Impact on final thiols concentration in wines: validation at winery scale

Juice stabulation 5 days at 4°C, followed by Sc inoculation
Sauvignon 2020 (Spain)

SO₂ in the harvest: 2 g/100 kg
Mp4 & Other NSC 10 g/hL



他のNSC株の酸化防止効果は凡庸・・・

Introduction

Selection

Characterization



Deroite, ASEV 2022, San Diego

なぜMp4(INITIA)は溶存酸素を迅速消費できるのか？



Yeast characterization

Protection against oxidation

Why does Mp4 consumes dissolved oxygen fast?

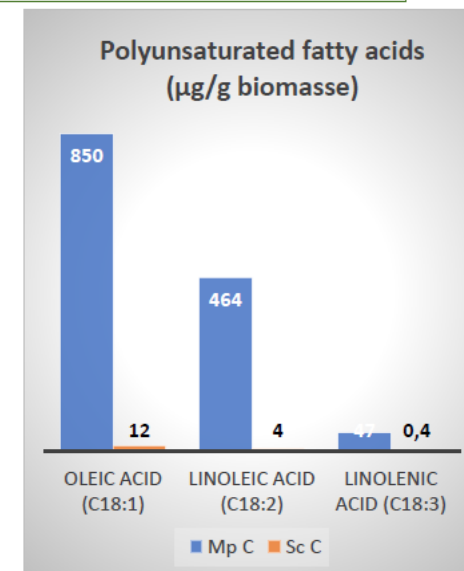
- NSC: absence of sterols transporters (*Tesniere et al, 2021*)
- *Metschnikowia pulcherrima*: high content of UFA compared to *S. cerevisiae* which only presents trace amounts (*Thesis Lethiwe Mbuyane, 2022*). Link with cryotolerance?

Fast O₂ consumption is required to synthesize sterols and polyunsaturated fatty acids?

脂質を菌体内に輸送できない



自前で脂質合成が必要なため？



Thesis Lethiwe Mbuyane, Stellenbosch University, South Africa, 2022

Introduction

Characterization

Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

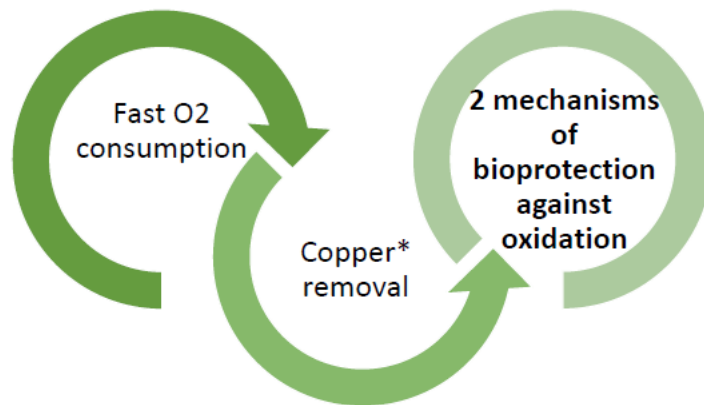
2つ目の酸化防止機序： ボルドー過散布果への対処療法的期待

Yeast characterization

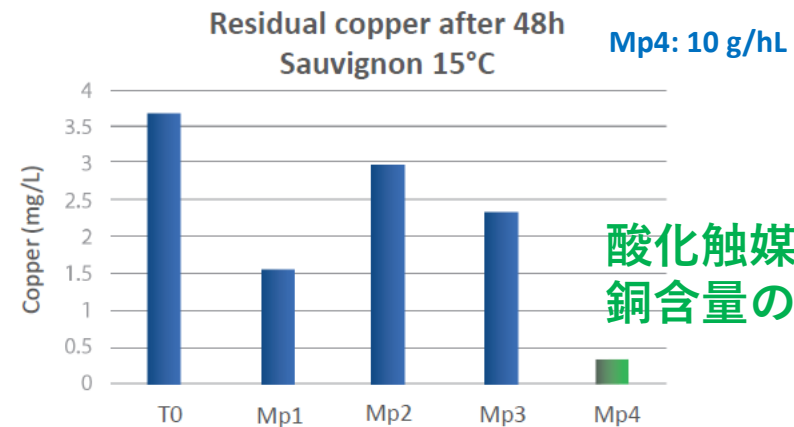


Protection against oxidation

Copper removal: a complementary mechanism of bioprotection against oxidation



*Copper: oxidation catalyser

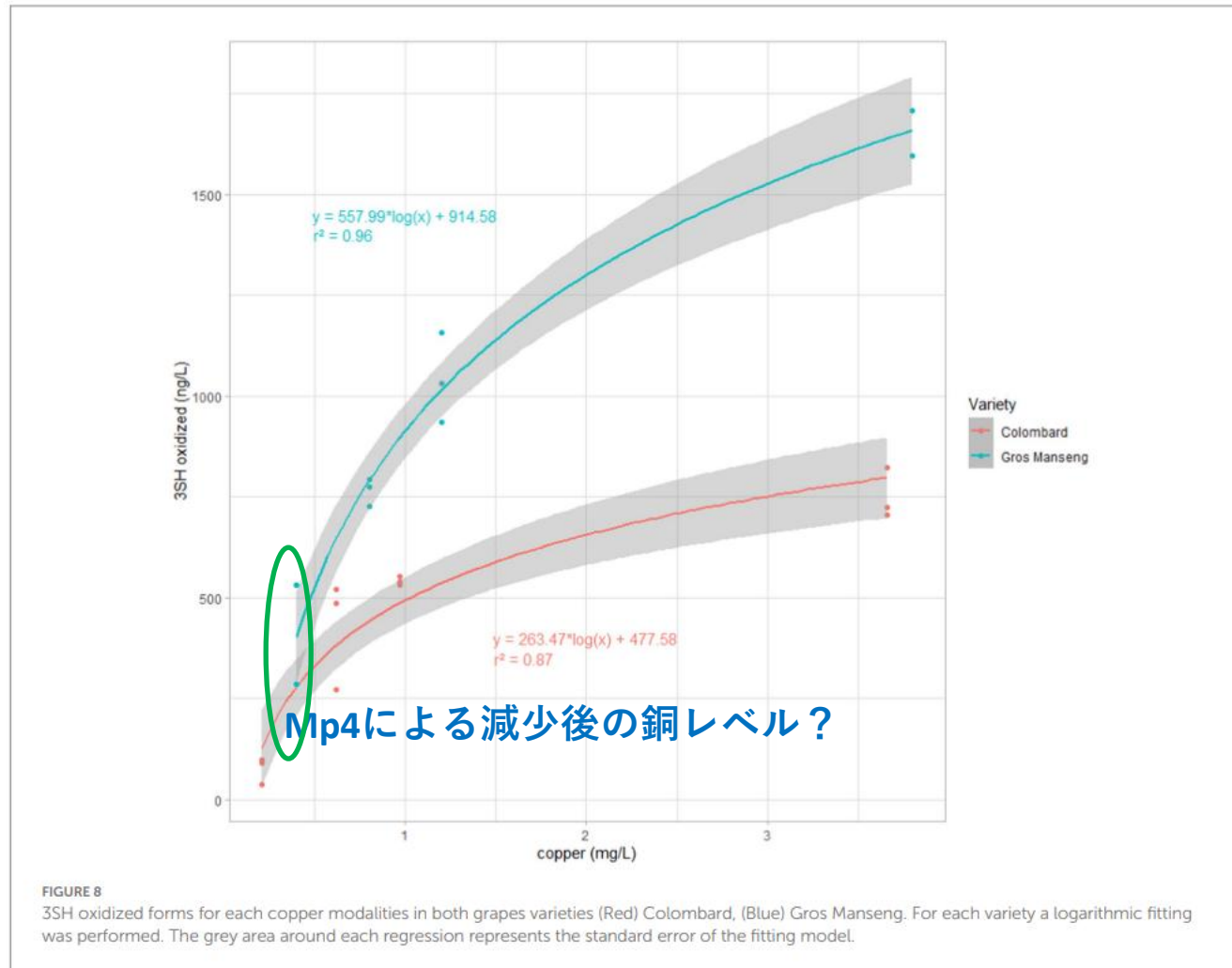


Copper removal by *M. pulcherrima*: intraspecific variability



Deroite, ASEV 2022, San Diego

マストの銅含量： 品質劣化閾値は不明も ”The lower, the better”



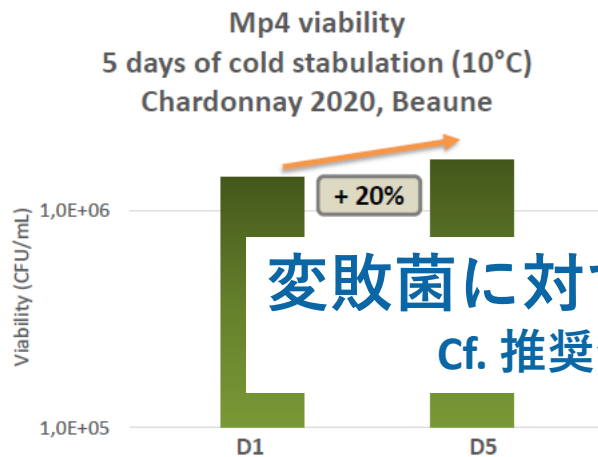
Dournes et al, Frontiers in Microbiology, 2023 を一部改変

Mp4(INITIA) 低温でも増殖し生存可

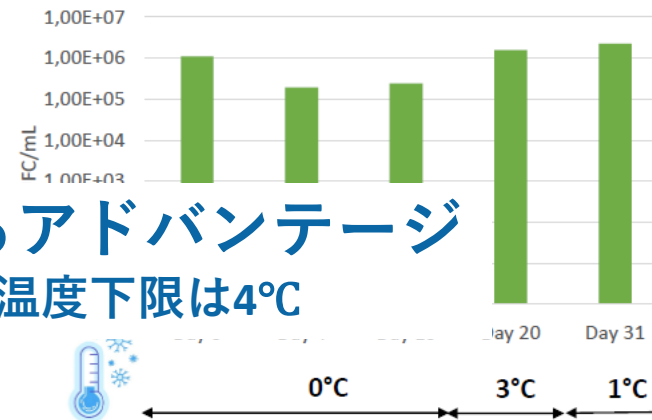
Yeast characterization

powerful antimicrobial action

Good survivability at low temperature



Mp4 viability during must storage
1 month between 0 and 3°C
Maccabeu, INCAVI (Spain)



変敗菌に対するアドバンテージ
Cf. 推奨発酵温度下限は4°C

Population able to grow at low temperature and to survive at very low temperature

Introduction

Selection

Characterization

Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

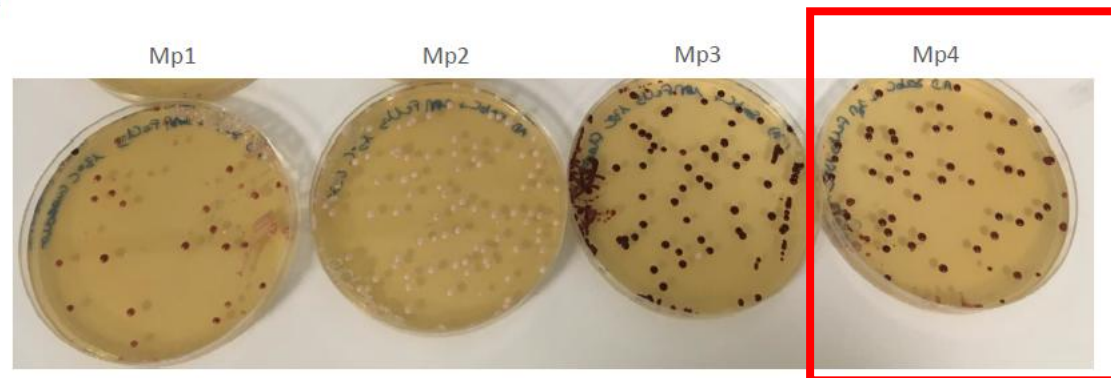
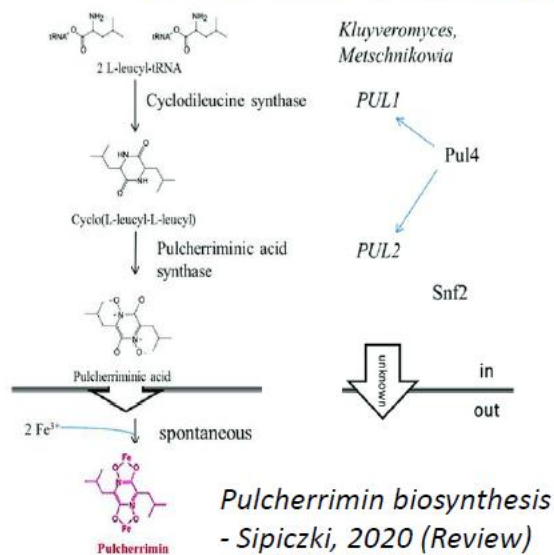
変敗菌抑制機能の想定機序：プルケリミン酸産生能



Yeast characterization

powerful antimicrobial action

Pulcherriminic acid production



SabC + 1mM FeCl₃, 7 days of incubation at 13°C

Pulcherriminic acid production: huge variability among *Metschnikowia* strains

Introduction

Selection

Characterization

Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

プルケリミン酸と鉄イオンがキレート → 変敗菌の鉄源不足



Review

Research Progress of the Biosynthesis of Natural Bio-Antibacterial Agent Pulcherriminic Acid in *Bacillus*

Siqi Yuan ^{1,2,†}, Xihao Yong ^{1,†}, Ting Zhao ¹, Yuan Li ^{1,*} and Jun Liu ^{1,3,*}

¹ Sichuan University of Science & Engineering, Xueyuan Street 180#, Huixing Rd., Zigong 643000, China; yuansiqi@suse.edu.cn (S.Y.); yongxihao@suse.edu.cn (X.Y.); zhaoting@suse.edu.cn (T.Z.)

Fe = 酵素活性化、DNA合成等に必須の元素

Academic Editors: Joanna Bojarska, Wojciech M. Wolf, Milan Remko, Piotr Zielenkiewicz, Michele Saviano, Janusz Zabrocki and Krzysztof Kaczmarek

Received: 31 August 2020; Accepted: 15 November 2020; Published: 28 November 2020



Abstract: Pulcherriminic acid is a cyclic dipeptide found mainly in *Bacillus* and yeast. Due to the ability of pulcherriminic acid to chelate Fe^{3+} to produce reddish brown pulcherrimin, microorganisms capable of synthesizing pulcherriminic acid compete with other microorganisms for environmental iron ions to achieve bacteriostatic effects. Therefore, studying the biosynthetic pathway and their

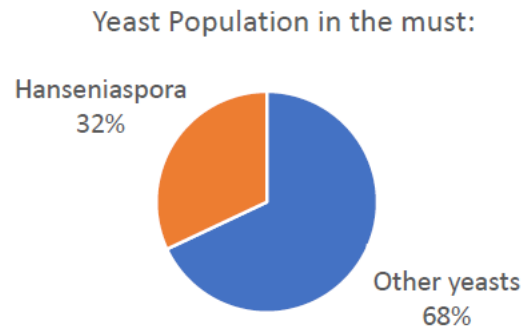
Mp4(INITIA) 変敗菌制圧効果



Yeast characterization

powerful antimicrobial action

Pilot trial Chardonnay 2020 (Sicarex, France)
No SO₂ winemaking



Mp4: 10 g/hL

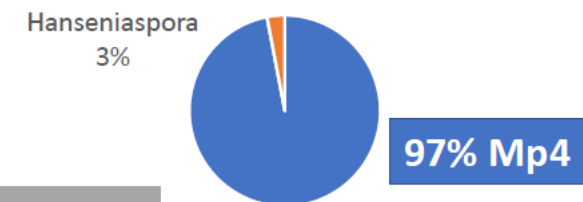
5 days of
cold stabulation
at 10°C

No SO₂, no bioprotection



変敗菌残存 3% vs 100%

Mp4



Viable *Hanseniaspora* percentage decreases with Mp4 bioprotection

Introduction

Selection

Characterization

Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

低い窒素要求性 = s.c.種の妨げにならない

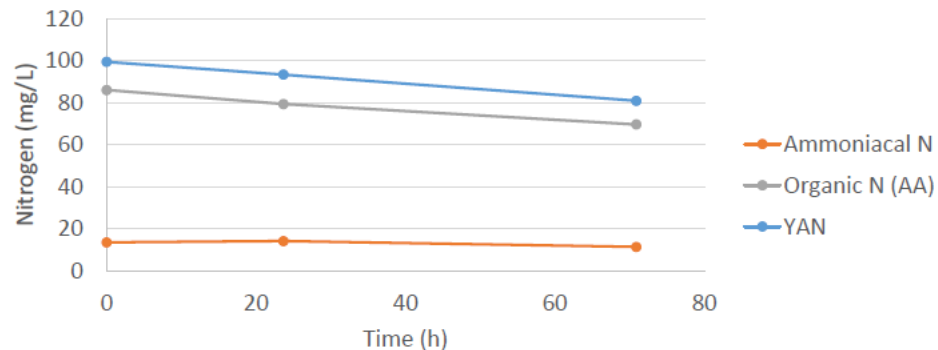


Yeast characterization

Non-fermentative

Very low nitrogen consumption after 72h of must cold stabulation at 10°C (<20%)

Mp4 nitrogen consumption during cold stabulation
(Viognier 2013 10°C)



Good compatibility
with Sc

Introduction

Selection

Characterization



Conclusion

Deroite, ASEV 2022, San Diego

まとめ：INITIAのデュアルアウトカム



Conclusions and perspectives

Aim: select a new bioprotection strain as an alternative to SO₂ for both anti-spoilage and anti-oxidant properties, to apply during white and rosé prefermentative steps

Selection of Mp4 among 500 other strains

- Oxygen fast consumption
- Copper removal

2つの酸化防止機序

変敗菌抑制機序

- Good survivability, even at low temperature
- Pulcherriminic acid production

- No/low fermentation depending on conditions
- Low nitrogen requirement

No product alteration

- 色調の保護
- チオール等香気成分の保護

・・・かつ
「亜硫酸減量」

Next step: better understand why Mp4 consumes oxygen so fast

Introduction

Selection

Characterization

Conclusion



Deroite, ASEV 2022, San Diego

社内外の連携 = Lallemand社が誇る開発力とネットワーク

Thanks to :

- IFV team
- Gordon Specht
- Anthony Silvano
- José-Maria Heras
- Paola Vagnoli
- Magali Délérís

France

US

Spain

Italy

R&D x Field Sales =synergie

And thank you for listening, any questions?



Deroite, ASEV 2022, San Diego

LEVEL² INITIA™

Frequently Asked Questions (FAQ)

日本版

Q1: SO₂耐性は？

A1:

Total SO₂ < 40 mg/L

☆亜硫酸添加時期は以下降順で望ましいシナリオ

- 1/収穫果にINITIA水和懸濁液を噴霧
- 2/INITIA接種後、その役割を終えてから（24時間～10日間）のSO₂添加
- 3/INITIA接種の1時間以上前に10-20mg/L程度を添加

Q2: 至適発酵温度は？

A2:

4-18°C（の範囲で低温であるほど望ましい）

INITIAは高温でも増殖し一定程度菌数を維持するものの、低温発酵環境に比べると他の変敗菌による汚染や酸化の危険が高まる →INITIA接種レートの引き上げを検討

INITIA FAQ 日本版 その2

Q3: 水和について？

A3:

(詳細は弊社カタログp24参照)

「直接添加OK？それとも水和が必要？」

均一な接種と効果最大化のために、水和が必要

「水和の推奨温度は？」

20° Cから30° C

☆接種時にマストと懸濁液の温度差が大きいと温度ショックの懸念

「水和後の保持可能時間は？」

水和後9時間以内に接種のこと

INITIA FAQ 日本版 その3

Q4: 接種方法の詳細？

A4:

「タイミングは？」

収穫直後～搾汁直後、早期であるほど望ましい

「接種レートは？」

標準接種レート：10 g/hL

汚染リスクともろみ条件に応じて5～20 g/hL

Q5: デブルバージュ後は液相に残存？

A5:

十分な生菌数が残存（例：12°C24時間）

INITIA FAQ 日本版 その4

Q6: 栄養管理は必要？

A6:

INITIA™は0～20 mg/LのYANを消費

通常の栄養充足戦略に必要な量を積み増す 例：Fermaid Oの増量
(GoFerm Sterol Flashの併用は不要←脂質合成能が極めて高いため？)

Q7: GLUTASTAR™との併用は？

A7:

相乗効果あり

異なる作用機序で酸化防止機能を補完しあう関係

Cf. スライド#8

INITIA FAQ 日本版 その5

Q8: その他使用上のポイントは？

A8:

接種レート決定のための参考表

INITIAの接種レートは以下要因を踏まえてご決定ください。右側の条件に傾くほど 20g/hLの設定が必要になります。

主な規定要因	INITIA接種レート=低	INITIA接種レート=高
温度	低温（下限4℃）	高温（上限18℃）
破砕時亜硫酸添加量	多い（上限40mg/L）	少ない／ゼロ
pH	低い（下限3.15）	高い
原料ぶどうの汚染度	汚染度が低い	汚染度が高い

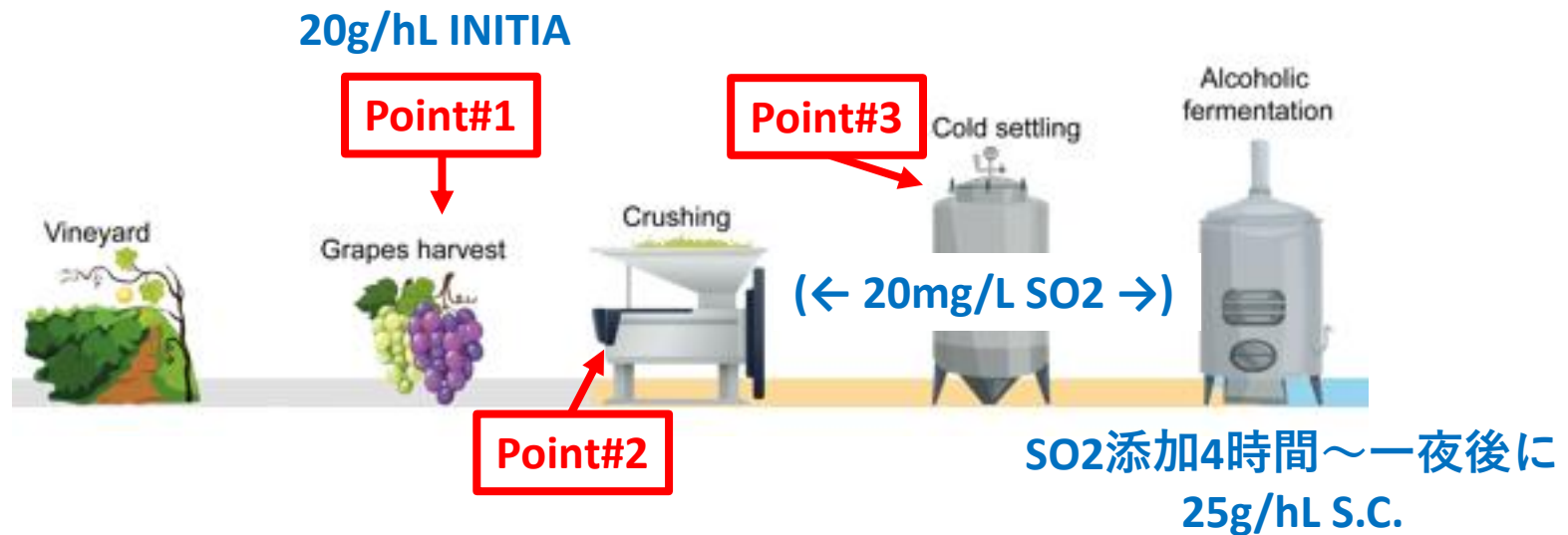
(*)ブドウの汚染度が高い場合は、INITIAではなく標準的な亜硫酸添加がより安全

弊社カタログ2025, p24

INITIA™

を使いこなす（例1）

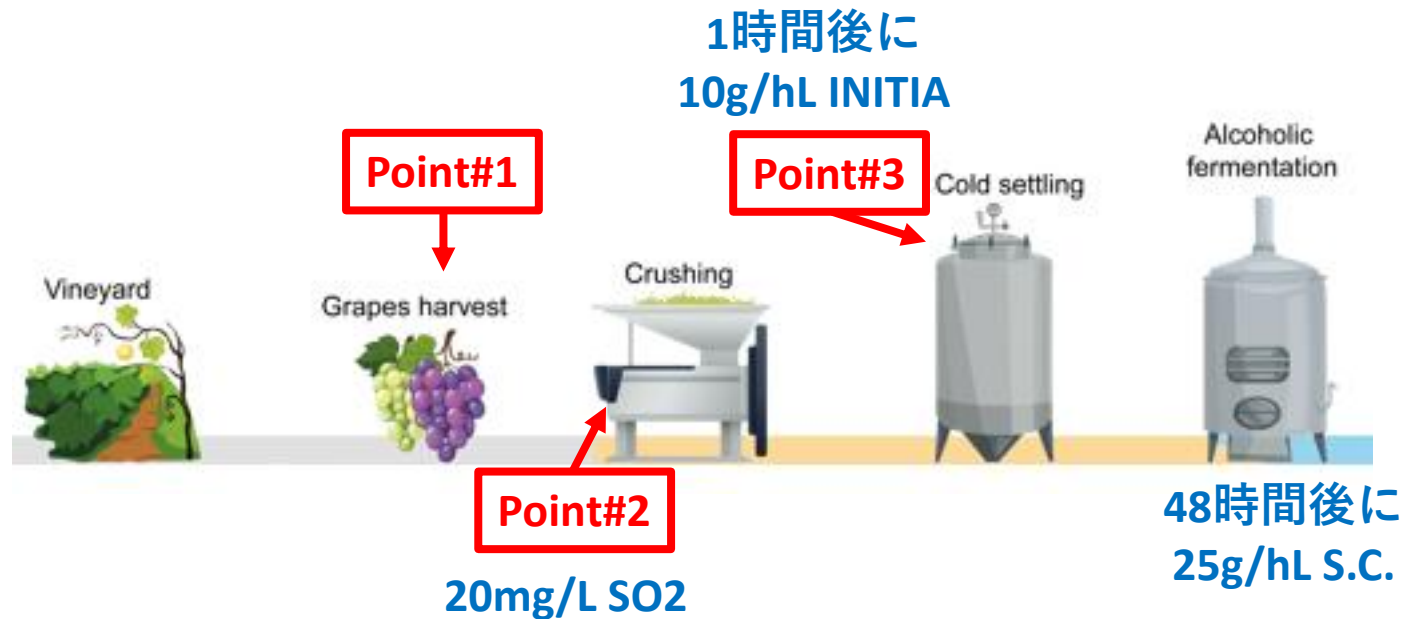
例：亜硫酸添加が考慮されるポイント(#1-3)のいずれか1回をINITIAで代替



マストの酸化防止 → 24-48時間@4-15℃（スライド#9,11,12,15）

変敗菌抑制 → 5日間@10℃（スライド#16）

例：亜硫酸添加が考慮されるポイント(#1-3)のいずれか1回をINITIAで代替



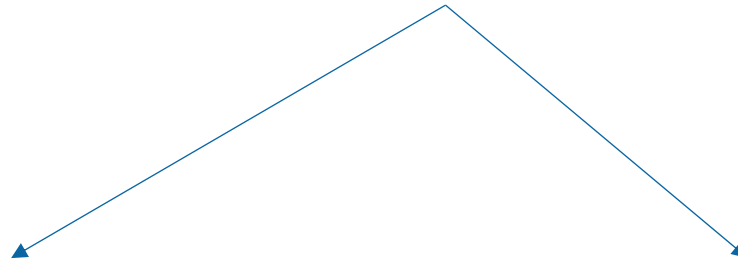
マストの酸化防止 → 24-48時間@4-15°C (スライド#9,11,12,15)

変敗菌抑制 → 5日間@10°C (スライド#16)

おわりに：今後の販売スケジュール

INITIA™

2025年Q2～ 在庫20袋限定のテスト販売



お客様のご評価・ご要望が高い場合・・・



2026年以降受注輸入＋在庫数量拡充検討

売行きが芳しくない場合・・・



テスト販売のみで終了の可能性

ご清聴ありがとうございました

1/質疑応答

2/次回予告

Low SO2 Winemaking 2025 Episode #3

~ Tackling “protocolization” ~

2025年7月4日（金） 15:00-16:00

別途ご案内メール内リンクよりご登録ください