

Budget prévisionnel NLO du 01/01/15 au 31/12/15

Les dépenses prévisionnelles sur ce projet sont indiquées **TTC**.

Ce projet sera financé par des fonds privés ainsi que par des subventions

	ATOUP PACK	LDA 39	COEB	PAM	WELIENCE	TOTAL GENERAL
CRB	21 000		18 200			39 200
Grand Dijon					12 000	12 000
Conseil Général 39				6 900	16 750	23 650
FEDER					31 841	31 841
COEB				20 166	16 416	36 582
Autofinancement	21 000	26 640	18 200			65 840
TOTAL TTC	42 000	26 640	36 400	27 066	77 007	209 113

PLAN DE FINANCEMENT PREVISIONNEL DU PROJET NLO – SATT GRAND EST 2015

CHARGES	MONTANT en €	PRODUITS	MONTANT en €
I. Charges directes affectées au projet		I. Ressources directes affectées au projet	
60 – Achat	22 693 €	70- Vente produits finis, prestations, marchandises	
Achats d'études et de prestations de services	915 €	Prestations de services	
Achats non stockés (eau, énergie, ...)		Vente de marchandises	
Consommables	18 178 €	Produits des activités annexes	
Fournitures non stockables (eau, énergie)			
Petit équipement	3 600 €		
61 – Services extérieurs	€	74 – Subventions d'exploitation	
Sous traitance générale		Etat : précisez le(s) ministère(s) sollicité(s)	
Locations	€	- Ministère Industrie + Ministère Recherche	€
Entretien et réparation	€	Région(s)	
Assurance	€	- CR de Bourgogne	€
Documentation	€	-	
Divers		Département(s) CG 39	16 750 €
62 – Autres services extérieurs	3 360 €	-	
Rémunérations intermédiaires et honoraires	€	-	
Publicité, publication	€	Commune(s) Grand DIJON	12 000 €
Déplacements, missions	3 360 €	-	
Frais postaux et de télécommunications		-	
Services bancaires, autres		Organismes sociaux (à détailler)	
63 – Impôts et taxes	€	-	
Impôts et taxes sur rémunération	€	Fonds européens : FEDER	31 840 €
Autres impôts et taxes		CNASEA (emplois aidés)	
64 – Charges de personnel	50 954 €	Aide privée : CEOB	16 417 €
Rémunération des personnels		-	
Charges sociales		75 – Autres produits de gestion courante	
Autres charges de personnel		Dont cotisations	
65 – Autres charges de gestion courante	€	76 – Produits financiers	
66 – Charges financières		77 – Produits financiers	
67 – Charges exceptionnelles		78 – Reprises sur amortissements et provisions	
68 – Dot. aux amort. (provisions pour renouv.)		79 – Transfert de charges	
I. Charges indirectes affectées au projet		I. Ressources indirectes affectées au projet	
Charges fixes de fonctionnement	€		
Frais financiers			
Total des charges		Total des produits	
86 – Emplois des contrib. volontaires en nature		87 – Contributions volontaires en nature	
Secours en nature		Bénévolat	
Mise à disposition gratuite de biens et prestations		Prestations en nature	
Personnel bénévole		Dons en nature	
		00 - Autofinancement	
TOTAL DES CHARGES TTC	77 007 €	TOTAL DES PRODUITS TTC	77 007 €

PROGRAMME «NLO»

Nouveaux Levains OEnologiques



PRÉFET DE LA RÉGION BOURGOGNE



SOMMAIRE

1. Introduction

2. Présentation des partenaires

3. Place dans la stratégie des entreprises impliquées dans le projet

4. Place au regard de la stratégie de Vitagora®

5. Caractère innovant au regard de l'état de l'art

6. Contenu du programme de travail

6.1 Structuration du programme de travail et méthodologie de recherche

6.2 Gestion des risques

6.3 Livrables, jalons et efforts

7. Budgets

8. Marchés visés

9. Objectifs commerciaux, création d'activité et d'emplois

8.1 Préparation de l'accès au marché

8.2 Objectifs commerciaux

8.3 Retombées économiques, création d'activité et d'emploi

10. Propriété intellectuelle et exploitation des résultats

Annexes

Programme de travail détaillé

1. INTRODUCTION

Dans la gestion des flores levuriennes impliquées dans la fermentation alcoolique, trois procédures sont possibles pour le vinificateur. :

- 1- **la fermentation spontanée** dite naturelle. C'est la technique utilisée majoritairement par les domaines « bios ». Elle consiste à laisser se développer les levures qui sont naturellement présentes sur le raisin ou dans les caves. Les levures sont issues du domaine (moût, cuverie) mais il n'y a aucun contrôle sur la valeur œnologique des souches naturellement présentes. De plus, une estimation de la cinétique fermentaire (durée totale de la fermentation) reste aléatoire et délicate à anticiper. Une telle pratique ne permet pas d'anticiper les déviations des flores, ni les arrêts de fermentation. Pour les adeptes, la flore est plus riche, composée de plusieurs genres et espèces de levures qui se succèdent, impactant directement la qualité organoleptique des vins. Cependant, cette pratique ne permet pas de conduire de façon reproductible et parfaitement maîtrisée une fermentation.

- 2- La préparation une semaine avant les vendanges d'un « **pied de cuve** ». Le vinificateur laisse partir en fermentation spontanée environ 2% du volume de la cuverie selon le principe 1 puis il incorpore ce « pied de cuve » aux cuves à ensemercer. Les levures proviennent du domaine, sans que leur potentiel œnologique, comme précédemment, ne soit contrôlé. Les taux de réussite sont plus élevés avec moins de déviations qualitatives. La mise en œuvre n'est pas aisée et reste réalisable seulement pour des petites structures. La fermentation se déroule en général avec une ou plusieurs espèces de *Saccharomyces cerevisiae*. La notion d'adaptation de la levure à une technique de vinification particulière valorisant le produit n'est pas possible.

- 3- L'utilisation de **Levures Sèches Actives** , qui permet d'utiliser des levures préalablement sélectionnées. Le taux de réussite est satisfaisant, garantissant une bonne maîtrise de la fermentation alcoolique. Il s'agit dans ce cas de la mise en œuvre d'une seule souche de levure (*S. cerevisiae*) dont le choix se fait selon les itinéraires techniques de vinification (température de vinification, production d'éthanol, ...). La levure employée ne provient pas du domaine et peut avoir été sélectionnée dans une autre région. Elle demande une réactivation assez fastidieuse dont dépend la réussite de la fermentation. Les taux de levures additionnés sont très importants. Conditionnées sous forme de granulés déshydratés, selon les conditions et le temps de stockage des paquets, le taux de levures vivantes peut varier et l'implantation dans un moût de raisin ne réussit pas toujours. Les levures commercialisées aujourd'hui sous forme de LSA peuvent être utilisées dans toutes régions viti-vinicoles du Monde.

Il n'existe pas aujourd'hui de méthode optimale d'ensemencement de cuves avec des levures inféodées à un domaine viti-vinicole, alors que la demande de « levures de Domaine » s'exprime de plus en plus par les professionnels de la filière.

Suite à ce constat, le Centre Œnologique de Bourgogne (COEB) a souhaité réaliser en 2012-2013 une étude de faisabilité, intitulée « Production de deux levains œnologiques liquides en ensemencement

direct ». Elle a été menée avec WELIENCE Agroalimentaire et Bio-industriel pôle CESEO (Welience œnologie) et le pôle PPB Plateforme de Pré développement en Biotechnologie, Welience PPB. L'objectif de cette étude était de déterminer s'il était possible de produire à façon des levains (levures préalablement isolées et sélectionnées sur des terroirs bourguignons), et qui se présenteraient sous forme liquide.

Cette étude a permis de produire et d'ensemencer avec succès deux levains liquides, qui ont préalablement été conservés pendant une semaine à 4°C.




Il est donc possible de produire des levains œnologiques liquides et de les implanter dans des cuves de vinification.

Derrière cette démarche, l'objectif final du COEB est de proposer un nouveau service : la commercialisation de levains œnologiques liquides se conservant au moins 4 mois à température ambiante. Le LDA 39, producteur de levains œnologiques pour les vins de Jura, a souhaité se joindre au projet afin de proposer un service similaire pour des levures caractéristiques du terroir jurassien, entre autre les levures de voile, ainsi que la proposition de levures compatibles avec les domaines Bios.



Ainsi est né le projet NLO – Nouveaux Levains OEnologiques, qui a pour objectif de mettre au point des levains liquides destinés à un ensemencement direct des cuves. Ces levains « Indigènes », issus des terroirs Bourguignon et Franc Comtois, doivent se conserver au moins 4 mois et doivent être conditionnés dans un emballage adapté aux contraintes du vinificateur (température de stockage, quantité adaptée aux volumes à ensemencer, praticité de mise en œuvre, traçabilité). Issus de nos terroir, ils seront produits en circuit courts et compatibles avec les productions Bios.


2. PRESENTATION DES PARTENAIRES

Partenaires industriels :


Partenaire	Expertise
COEB 	Analyses et conseils dans le domaine Viti-vinicole. Accréditation COFRAC essais 1-0228
ATOUTPACK 	Ingénierie packaging Eco conception, développement et optimisation d'emballages et de conditionnements
LDA 39 	Analyse Conseil dans les domaines du vin, de l'eau, lait, produits alimentaires et santé animale

Partenaires Centres techniques :

Partenaire	Expertise
WELIENCE ALIMENTAIRE Welience Agroalimentaire et Bio Industriel Pôle Agro-alimentaire 	Texturation et structuration des aliments Maîtrise des microorganismes : préservation, conservation et destruction Sensorialité et perception sensorielle
WELIENCE PPB Welience Agroalimentaire et Bio Industriel pôle PPB 	Fermentation en milieu liquide Fermentation en milieu solide Optimisation des milieux et conditions de culture
WELIENCE Œnologie	Conseils, expertise et formation pour la filière vinicole

Partenaire	Expertise
Welience Agroalimentaire et Bio Industriel Pôle Œnologie 	

Partenaires de recherche :

Partenaire	Expertise
UMR PAM (Procédés Alimentaires et Microbiologiques) 	Procédés Microbiologiques et Biotechnologiques (PMB) Procédés Alimentaires et Physico-Chimie (PAPC) Vin-ALiments-Microbiologie-Stress (VALMIS)

3. PLACE DANS LA STRATEGIE DES ENTREPRISES IMPLIQUEES

COEB :

La microbiologie est un axe fort de développement, s'inscrivant parfaitement dans la stratégie du COEB visant à maintenir et faire progresser la qualité des vins de Bourgogne, car au centre d'une œnologie moderne, respectueuse, prédictive et innovante.

Le COEB souhaite développer une alternative aux Levures sèches actives, pour permettre à ses clients d'utiliser les levures de leur domaine, renforcer l'image du terroir, l'identité des caves et de rester propriétaire. Le COEB doit répondre aux attentes d'une profession de plus en plus élitiste souhaitant une valorisation de la biodiversité.

Il s'agit d'être maître de la sélection et de la production de levures, de pouvoir répondre aux exigences de leurs clients, des caractères locaux des vins, des techniques de vinifications aussi innovantes soient-elles. Le COEB souhaite être réactif dans ce domaine.

La production de levures permet au COEB de développer son activité, maintenir ses emplois sur un marché beaucoup plus vaste que celui qu'il possède actuellement. Le gain de chiffre d'affaire à terme peut permettre de créer des emplois.

Le COEB souhaite inscrire ce projet dans une participation au développement durable en réduisant la quantité d'intrant (inoculum réduit) avec une production moins gourmande en énergie (pas de séchage), locale, à circuits courts.

Le COEB a d'autres perspectives, levain de reprise de fermentation, levains pour prise de mousse, bactéries lactiques qui pourront constituer la suite du projet NLO.

LDA 39 :

La production de levures est un atout important du LDA39. Depuis une trentaine d'année, tous les étés, le laboratoire met à la disposition des vignerons jurassiens des levures de voile sous forme liquide afin d'ensemencer les vins de savagnin en vieillissement. L'objectif est d'améliorer la qualité du fleuron des vins jurassiens : le vin jaune.

Par ailleurs le LDA39 misant sur le développement de la microbiologie dans le monde œnologique, souhaite d'une part proposer aux jurassiens ces mêmes levains liquides pour la transformation du jus de raisin en vin et d'autre part étoffer son offre de levures, en particulier en levures compatibles avec les domaines Bios.

Le LDA39 a également pour projet de sélectionner d'autres souches de levures de fermentation alcoolique pour le Jura, ainsi que de travailler par la suite sur les bactéries lactiques.

L'objectif étant de mieux sécuriser le processus d'élevage sous voile qui reste assez risqué (les pertes économiques peuvent être élevées), tout en respectant le terroir par la production de vin 100% issus de levures jurassiennes. Cette démarche permettrait donc de renforcer l'identité des vins jurassiens mais aussi à terme de renforcer l'identité des domaines viticoles. En effet le LDA39 souhaiterait mettre à disposition des vignerons des levures sélectionnées in situ dans leur propre cave. Ce qui les affranchirait du levurage par des LSA, levures exogènes à leur environnement.

C'est une démarche très innovante s'inscrivant pleinement dans un processus durable tout en renforçant la typicité des vins et la sécurisation des techniques de vinification.

ATOUTPACK :

L'éco conception et le développement d'une solution d'emballage et de conditionnement pour des levures s'inscrit parfaitement dans la stratégie et les compétences d'ATOUTPACK.

ATOUTPACK souhaite ainsi mettre en œuvre le packaging qui répondra à l'ensemble des contraintes de protection, de conservation, de transport et d'information liées à la fabrication et la commercialisation des levures.

4. PLACE AU REGARD DE LA STRATEGIE DE VITAGORA®

Le projet NLO vise à mettre au point des levains œnologiques liquides, permettant de favoriser la prise de fermentation des vins de manière optimale, avec des levains issus des terroirs bourguignons et jurassiens, sous une forme pratique pour le vigneron.

Ce produit innovant permettra un démarrage optimisé de la vinification afin de garantir au vigneron une production de qualité, préservant les qualités sensorielles liées à son terroir.

NLO se positionne donc naturellement sur les axes stratégique de Vitagora® « Développement du plaisir gustatif » et « Préservation de l'environnement » ; en effet, en plus de permettre une

meilleure expression d'un point de vue organoleptique des vins en lien avec leur terroir, les levains liquides seront produits en Bourgogne, ne nécessiteront pas de séchage, seront conservés dans un emballage éco-conçu et permettront d'optimiser la quantité d'intrants apportée par le vigneron.

Le projet NLO implique plusieurs structures adhérentes du pôle et propose une démarche innovante permettant au COEB et au LDA 39 d'augmenter leur activité en proposant un nouveau service à leurs clients, bourguignons et franc-comtois dans un premier temps. Le marché visé est celui des ingrédients, les levains introduits dans les cuves permettant de proposer au consommateur un aliment de qualité supérieure et constante.

Le projet permettra également à ATOUTPACK de développer un nouveau produit adapté au marché viticole, et ainsi diversifier son activité.

NLO est donc parfaitement en lien avec la stratégie de Vitagora®.

5. CARACTERE INNOVANT AU REGARD DE L'ETAT DE L'ART

Le projet NLO propose de développer une nouvelle méthode de conservation des levains œnologiques :

- sous forme liquide,
- stable dans le temps (au moins 4 mois),
- utilisable facilement par les vignerons.

Innovation œnologique

L'apport contrôlé de levures lors de l'élaboration d'un vin est un élément essentiel participant non seulement à la maîtrise de la cinétique fermentaire, mais également à la maîtrise de la qualité du vin. La fermentation alcoolique doit se faire dans des conditions de démarrage, de durée et de degré d'aboutissement parfaitement contrôlées pour garantir les qualités hygiéniques et organoleptiques du vin. Les levures sont présentes dans les jus de raisin mais leur quantité est parfois insuffisante pour démarrer une fermentation optimale. Il est ainsi fréquent que les producteurs de vin inoculent les jus de raisin avec des levures préalablement sélectionnées. C'est la pratique du levurage. Ces levures exogènes, dites levures sèches actives (LSA) sont des levures *Saccharomyces cerevisiae* déshydratées et conditionnées sous emballage étanche. Le producteur réhydrate cette préparation sèche, selon un protocole préconisé par le producteur de LSA. L'inoculum obtenu est introduit dans le moût. La déshydratation est cependant une perturbation majeure pour la levure ; cette modification physico-chimique drastique altère à divers degrés sa viabilité, sa structure et ses activités/fonctionnalités (Simonin et al., 2007, BBA Biomembranes, 1768 :1600–1610). Certaines souches de levures sont très sensibles aux perturbations mécaniques et oxydatives qu'imposent les procédés de séchage (séchage à l'air sur lit fluidisé). De ce fait, les LSA sont en partie sélectionnées pour leur aptitude à résister au séchage et nombre de levures sont donc exclues de cette application. De plus, si les protocoles de réhydratation des LSA sont mal gérés en cuverie, l'implantation de la levure exogène peut être compromise.

L'objectif de ce projet est de développer une stratégie de conservation alternative pour les levures auxiliaires de vinification. En effet, si la déshydratation est un moyen radical pour l'arrêt métabolique des cellules et leur conservation ; des modifications moins drastiques de l'environnement cellulaire peuvent être envisagées pour conserver des cellules viables et ré-activables. Ces conditions sont principalement liées à la maîtrise de la composition chimique des environnements extra- et intracellulaires. La conservation cellulaire repose en effet sur l'arrêt ou le ralentissement marqué du processus de division cellulaire et le maintien de l'intégrité structurale des

cellules (Dupont et al., 2013, Techniques de l'Ingénieur, F3480). Plusieurs travaux démontrent que la restriction nutritionnelle (Boender et al., 2011, FEMS Yeast Research, 8 :603–620) ou le contrôle de la pression osmotique du milieu (Dupont et al., 2010, BBA Biomembranes, 1798 :975–985) sont des moyens potentiellement efficaces pour stopper les processus de production de biomasse tels que la division cellulaire ou l'endocytose. La dégradation cellulaire repose pour sa part sur les activités enzymatiques et la dégradation chimique et oxydative des constituants cellulaires. La présence limitée de nutriments, le contrôle de l'état redox du milieu ainsi que la pré-adaptation des levures sont des moyens de limiter ces dégradations cellulaires (Huisjes et al., 2012, Appl. Environ. Microbiol, 78 : 5052-5059, Boender et al., 2009, Appl. Environ. 75 : 5607-5614 ; Semchyshyn et al., 2011, Redox Report, 16 : 15-23). **L'objectif de ce projet est de mettre à profit ces connaissances récentes pour développer un procédé de conservation de levures œnologiques en milieu liquide. L'originalité de la démarche réside dans la modification de l'environnement intracellulaire, par pré-adaptation, et extracellulaire, par modification de la composition chimique du milieu pour créer des conditions non drastiques de préservation des cellules.**

Le procédé proposé est une réelle innovation pour le domaine de la production de levains œnologiques, et permettra de faciliter le travail des producteurs ainsi que des vinificateurs. Il permettra de sélectionner, produire des levures dans la région de production des vins, de pouvoir adapter des levures à des technologies de vinification de façon très réactive et de contribuer à l'image et à l'amélioration de la qualité des vins.

L'intérêt du levain liquide permet également de produire des levains de souches de levures d'intérêt qui résistent mal aux procédés de séchage utilisés en industrie. .

De plus, le COEB participe ainsi à une action de conservatoire des souches de levures bourguignonnes isolées sur le terroir.

Innovation Emballages

L'emballage de levures sous forme liquide nécessite de prendre en considération la nature et les besoins des levures.

De ces contraintes et besoins dépendra la recherche, la conception et le développement d'un emballage.

L'innovation packaging sera de définir, concevoir et industrialiser un emballage permettant la conservation et l'utilisation de levains liquides pendant 4 mois à température ambiante.

Les verrous technologiques :

Le projet NLO a pour ambition de **mettre au point des levains sous forme liquide, prêt à l'emploi sans aucune forme de réactivation, stables dans le temps et actifs quelques mois, issus de souches locales.**

Afin de répondre à ces objectifs, plusieurs verrous technologiques sont à lever :

- Mettre au point un milieu de conservation permettant de conserver les levains plus de 4 mois à température ambiante ;
- Prouver que l'emploi des levains liquides est plus efficace que les levures sèches actives ;
- Prouver que l'utilisation de ces levains liquides est plus facilement adaptable à la personnalisation des vins et aux techniques de vinification ;
- Prouver la plus grande valeur technologique des levains liquides par rapport aux LSA : réussite des fermentations, gain qualitatif sur les vins obtenus ;

- Envisager l'utilisation de NLO pour les entreprises certifiées « œnologie biologique » ;
- Conserver des levains sous forme liquide vivants et actifs pendant plus de 4 mois à température ambiante dans un emballage adapté

Une partie des réponses et des verrous technologiques ont été levés au cours d'un précédent travail de recherche intitulé « Lelista, » qui a permis de démontrer en 2014 :

- La possibilité de produire et de conserver, en conditions laboratoire, des levains œnologiques 4 mois à température ambiante sous forme liquide et sans perte de viabilité
- La capacité à conserver, en conditions laboratoire, les levains liquides fonctionnels au moins 4 mois
- La possibilité de définir un milieu de culture adapté aux principales souches
- La capacité à produire en condition pilote des souches fraîches et capables de réaliser correctement la vinification en cuve
- La possibilité de vinifier correctement en condition pilote avec les levains liquides conservés 4 mois.

6. CONTENU DU PROGRAMME NLO

Le travail portera sur 4 souches de levure :

- 2 souches précédemment isolées par le COEB et qui ont été caractérisées au cours de l'étude de faisabilité
- 2 souches provenant du LDA 39 : une levure « de voile » isolée, à caractériser ; et une levure de fermentation alcoolique, qui sera isolée et caractérisée durant ce programme.

● 6.1 Structuration du programme de travail et méthodologie

→ Le planning prévisionnel de travail est le suivant :

● NLO Année 1 : 2015

Tâche 0 : Coordination – WELIENCE (12 mois)

Tâche 1 : production de biomasse à façon à partir de souches indigènes (12 mois)

ST4 : Transfert des souches et de la production à l'échelle fermenteur (Welience PPB) (6 mois)

ST5 : Scale up jusqu'au stade pilote 450 L (Welience PPB) (3 mois)

Tâche 2 : conservation (6 mois)

ST1 : formulation d'un milieu liquide pour stabilisation à long terme (PAM) (si possible développement d'un milieu de conservation bio) (4 mois)

ST2 : maintien de la viabilité cellulaire et de l'intégrité cellulaire pendant la conservation (PAM) (1 mois)

ST3 : maintien des fonctionnalités œnologiques après la conservation (PAM) (1 mois)

ST4 : développement d'un test prédictif d'aptitude des souches à stabilisation (Welience Alimentaire) (6 mois)

ST5 : définition des conditions du conditionnement (PAM) (1 mois)

ST6 : mise au point de l'emballage (ATOUPACK) (6 mois)

Tâche 3 : essais en conditions réelles (12 mois)

ST1 : essais sur les 4 levains liquides à 12 mois et suivi de l'évolution (COEB, LDA 39) (6 mois)

ST2 : Essais sur les levains liquides stabilisés à 24 mois avec suivi de l'évolution (COEB, LDA 39) (12 mois)

ST3 : Suivi des essais par contrôles d'implantation (Welience Oenologie) (12 mois)

● NLO Année 2 : 2016

Tâche 0 : coordination (12 mois)

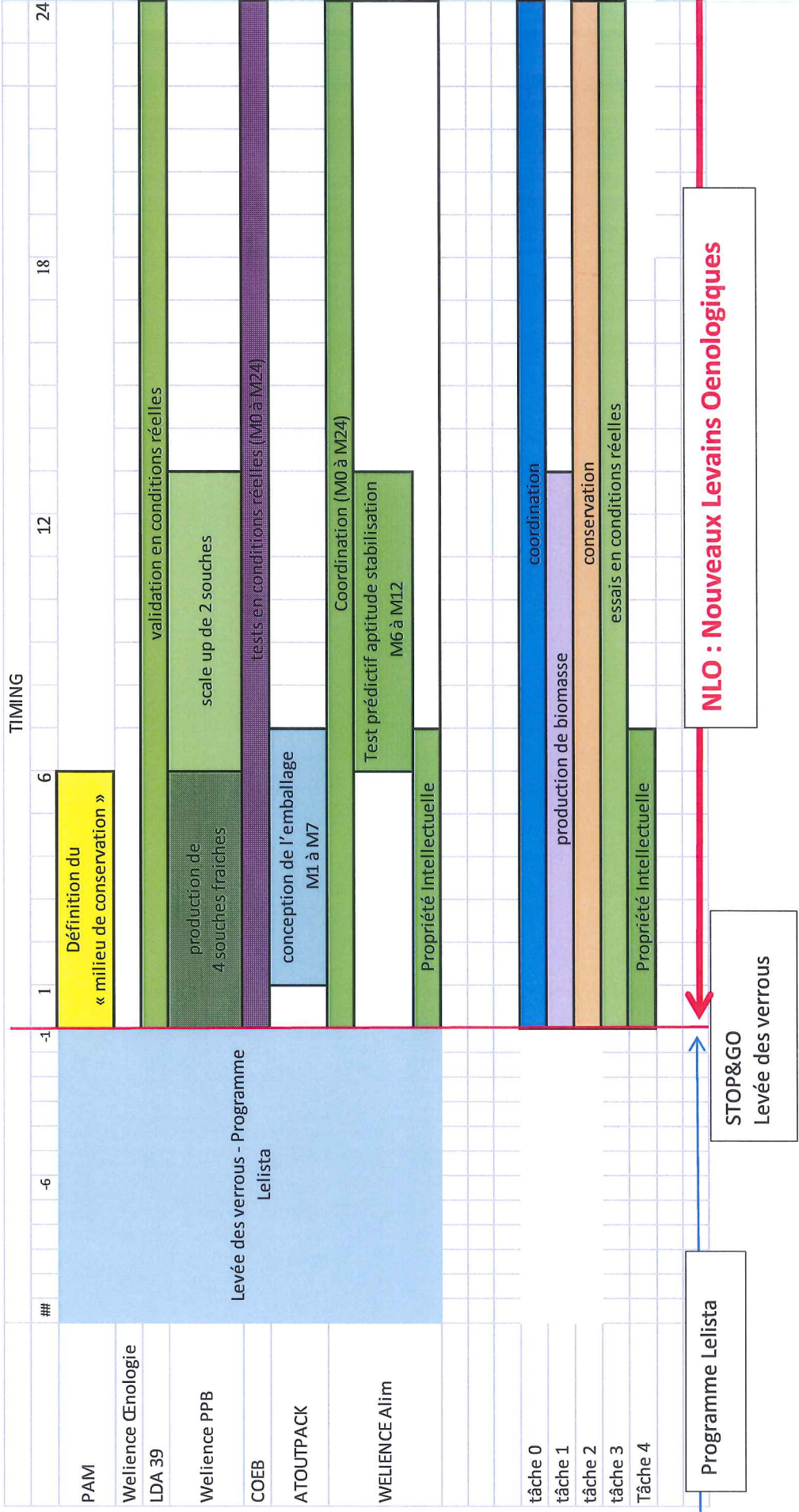
Tâche 1 : production de biomasse à façon à partir de souches indigènes (3 mois)

ST5 : Scale up jusqu'au stade pilote 450 L (Welience PPB) (3 mois)

Tâche 3 : essais en conditions réelles

ST2 : Essais sur les levains liquides stabilisés à 24 mois avec suivi de l'évolution (COEB, LDA 39) (12 mois)

ST3 : Suivi des essais par contrôles d'implantation (Welienc Oenologie) (12 mois)



Levée des verrous - Programme Lelista

PAM

Welience Oenologie
LDA 39

Welience PPB

COEB

ATOUTPACK

WELIENCE Alim

tâche 0

tâche 1

tâche 2

tâche 3

Tâche 4

Programme Lelista

NLO : Nouveaux Levains Oenologiques

6.2 Gestion des risques

L'étape principale de GO/NO GO a été levée au cours d'une étude précédente. Les risques de ne pas aboutir sont considérés comme très faibles.

6.3 Livrables, jalons et efforts

→ **Les principaux livrables sont les suivants :**

Tâche 1 : production de biomasse à façon à partir de souches indigènes

- Levains liquides (M12)

Tâche 2 : Conservation

- Formulation du milieu de stabilisation (M12)
- Cahier des charges pour l'emballage (M1)
- Emballage (M7)

Tâche 3 : Essais en conditions réelles

Validation des formulations proposées (M24)

Tâche 4 : Protection des souches

- Certificats de dépôts (M6)

7. BUDGETS

COEB :	Poste	Coût	Total /an
Année 1	DEPENSES PERSONNELS	21 000	
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE	1 666	
	FRAIS DE MISSION	2 334	
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES	5 333	30 333
Année 2	DEPENSES PERSONNELS	21 000	
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE	1 667	
	FRAIS DE MISSION	2 334	

	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES	5 333	30 334
		TOTAL	60 667 € HT

ATOUPACK :	Poste	Coût	Total /an
Année 1	DEPENSES PERSONNELS	30 000	
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE		
	FRAIS DE MISSION		
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES	5 000	35 000
Année 2	DEPENSES PERSONNELS		
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE		
	FRAIS DE MISSION		
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES		0
		TOTAL	35 000 € HT

LDA 39 :	Poste	Coût	Total /an
Année 1	DEPENSES PERSONNELS	15 000	
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE	4 200	
	FRAIS DE MISSION		
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		

	AUTRES DEPENSES	3 000	22 200
Année 2	DEPENSES PERSONNELS	15 000	
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE	1 800	
	FRAIS DE MISSION		
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES	3 000	19 800
		TOTAL	42 000 € HT

Welience :	Poste	Coût	Total /an
Année 1	DEPENSES PERSONNELS	46 467,33	
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE	762,15	
	FRAIS DE MISSION	2 800	
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES	19 975,74	64 172
Année 2	DEPENSES PERSONNELS	17 178,39	
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE	1 067,01	
	FRAIS DE MISSION	1 900	
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES	10 093,38	30 028
		TOTAL	94 200

UMR PAM	Poste	Coût	Total /an
Année 1	DEPENSES PERSONNELS	24 000	

	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE		
	FRAIS DE MISSION		
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES	18 010	42 010
Année 2	DEPENSES PERSONNELS		
	AMORTISSEMENT D'EQUIPEMENT		
	SOUS TRAITANCE		
	FRAIS DE MISSION		
	DEPENSES LIEES A L'UTILISATION D'AUTRES EQUIPEMENTS DE R&D		
	AUTRES DEPENSES		0
		TOTAL	42 010 € HT

Budget Global

273 877 € HT

8. MARCHES VISES

Le marché principal visé par le projet NLO est le marché des ingrédients : la proposition de NLO est de développer un nouveau produit : un levain liquide stable dans le temps, présentée dans un emballage adapté au produit, ergonomique et éco-conçu afin de faciliter son utilisation par l'utilisateur final, de diminuer la quantité d'intrants utilisée, d'obtenir un produit encore d'avantage lié à son terroir et d'entrer dans une démarche de développement durable.

Parallèlement, le marché des emballages éco-conçus sera également visé par ATOUTPACK, qui pourra suite à la période d'exclusivité utiliser les résultats du projet afin de diversifier sa gamme d'emballages.

9. OBJECTIFS COMMERCIAUX, CREATION D'ACTIVITE, D'EMPLOIS

8.1 Préparation de l'accès au marché

Durant le projet, des souches de levains liquides seront proposées à différents vignerons pour être testées en cave en conditions réelles ; ces essais feront office de preuve du concept, mais permettront également d'avoir un avis des professionnels, facilitant par la suite l'accès au marché, le COEB et le LDA 39 étant déjà directement en contact avec les professionnels de la filière vinicole.

8.2 Objectifs commerciaux

COEB

La Bourgogne produit en moyenne 916 602 hl annuels de vins blancs répartis sur la Côte d'Or, la Saône et Loire et l'Yonne.

Sur la zone d'implantation commerciale du COEB (Côte d'Or et Saône et Loire), la production totale représente 585 509 hl.

Actuellement le COEB vend des LSA (levures sèches actives) pour un équivalent de 10 000 hl par an et 3500 hl de bactéries lactiques pour les vins blancs.

La clientèle du COEB représente environ 20 000 hl en Côte d'Or et 50 000 hl de vins blancs dans le Mâconnais soit 12% du volume produit.

Ces 70 000 hl de vins blancs constituent donc une cible directe pour le COEB.

Le souhait du COEB est de transférer ses ventes de levures de LSA sur le produit NLO et de développer la vente de produits œnologiques sur le Mâconnais, ce qui n'était pas le cas jusqu'à présent.

L'estimation de production est la suivante :

2012	950	hl
2013	2000-5000	hl
2014	10000-20000	hl
2015	20000-40000	hl
2016	40000-80000	hl

Les vins rouges et les Crémants de Bourgogne peuvent également être visés, d'autre part cette estimation n'inclue pas la possibilité que des professionnels qui ne sont pas clients du COEB soient intéressés.

On peut compter à terme sur un volume certain de 20 000 hl tous vins confondus.

Pour les deux dernières années d'essais les levains ont été facturés à 1.80 euro HT/hl, ce qui représente plus du double du prix de marché moyen des LSA.

Année	Quantité (hl)	CA généré	Marge estimée k€	Hypothèse de marge
2012	950	1 710	1,425	30% marge
2013	2000-5000	3600 – 9000	2,4 - 7,2	30 % marge
2014	10000-20000	18 000 – 36 000	14,4 - 28,8	80 % marge car inclus étude (10 % pour frais administratifs et 10% frais divers)
2015	20000-40000	36 000 – 72 000	28,8 - 57,6	
2016	40000-80000	72 000 – 144 000	21,6 - 43,2,	
total 2016			68,5 k€ à 138k€	

LDA 39

Le marché des levures se décompose ainsi :

- Levures de voile sur vin fini : production déjà effective, à maintenir pour un chiffre d'affaire d'environ 30 000 €/an.

- Levures pour fermentation alcoolique des blancs : activité à développer. Le marché potentiel en volume de vin blanc du Jura varie entre 25 000 et 40 000 hl. Un objectif raisonnable est de se fixer l'ensemencement de 8 000 à 10 000 hl de jus de raisin blanc soit environ 30 à 40 000 € (tarif levure estimé à 4€/hl).

ATOUTPACK

Pour ATOUTPACK, il s'agit d'un objectif économique très important:

- Développement de la société et du chiffre d'affaires
- Renforcement de l'image de la société
- Valorisation de l'expertise

8.3 Retombées économiques, création d'activité et d'emploi

Pour le COEB :

- Valorisation directe
 - Transfert des ventes de levures de LSA sur le produit NLO
 - Développement des ventes en Bourgogne
 - sur le Mâconnais en blanc
 - sur les vins rouges
 - sur les Crémants de Bourgogne
 - Développement des ventes hors Bourgogne

en France et à l'étranger : production de levains spécifiques

- Valorisation indirecte

Ventes de sous licences de savoir faire

Pour le LDA39 :

- Organisation plus simple pour la production : possibilité de connaître en amont les besoins et d'optimiser le temps de production
- Retombées économiques : au-delà de la production actuelle de levures à vin jaune, les levures pour fermentation alcooliques peuvent engendrer un chiffre d'affaires supplémentaire estimé à 30 000 €

Pour les vigneronns et la filière œnologique jurassienne :

- La planification possible permet une organisation plus simple dans les caves. Les grosses structures peuvent tout ensemercer en une seule fois (pour ce qui est des savagnins pour vins jaunes)
- le délai plus long d'élevage des vins avant ensemencement permet une meilleure sécurisation de la prise de voile sur les vins jaunes
- Possibilité de produire des souches indigènes (notamment pour les bios)
- possibilité d'utiliser ces souches en fermentation alcoolique
- idée de "levure locale", le tout "made in Jura" avec une technique plus naturelle (levain liquide)
- Intérêt pour les vigneronns : sécurisation des fermentations alcooliques, respect de la viticulture durable

Pour ATOUTPACK :

- Développement du chiffre d'affaires et du volume de vente
- Développement de la structure avec à moyen terme une embauche possible

Le projet NLO permettra donc au COEB et au LDA 39 de diversifier leur activité en proposant aux vigneronns un nouveau produit mieux adapté à leurs attentes et contraintes, et renforçant le lien au terroir de leurs produits.

En parallèle, il permettra à ATOUTPACK un développement important de l'entreprise

10. PROPRIETE INTELLECTUELLE ET EXPLOITATION DES RESULTATS

Concernant les techniques de production et de conservation, le savoir-faire appartient à la recherche (PAM et Welience).

Une licence exclusive pour leurs souches sera accordée au COEB et au LDA 39 sans limite de temps.

Les souches restent propriété respectivement du COEB et du LDA 39.

Une exclusivité sur l'utilisation du savoir-faire développé pendant l'étude sera accordée au COEB et au LDA 39 pour une durée de 3 ans après la fin du projet dans le secteur œnologique pour la production de levains œnologiques stables.

Une rémunération des laboratoires fonction du chiffre d'affaire issu de la vente des levains liquides par le COEB et le LDA 39, ainsi qu'une redevance fixe pour les trois années d'exclusivité accordées au

COEB et au LDA 39 sont négociés dans le contrat de consortium existant, et seront fixés plus précisément dans le cadre d'un contrat de licence de savoir-faire.

Concernant les **emballages** développés au sein du projet, une exclusivité pour le levain liquide œnologique sera accordée pendant 3 ans au COEB et au LDA 39

Le prix de vente de ces emballages sera négocié au cours du projet, et également fixé dans le cadre d'un contrat d'exclusivité accordée au COEB et au LDA 39.

L'ensemble de ces données sont négociées dans le cadre **d'un accord de consortium** existant et signé par l'ensemble des parties prenantes.

Concernant la protection des souches, les pistes de protection et de conservation (Institut Pasteur, CIRM...) sont en cours d'identification.

ANNEXE : PROGRAMME DE TRAVAIL DETAILLE

Tâche 0 : coordination – Welience Alimentaire

Tâche 1 : production de biomasse à façon à partir de souches indigènes

ST1 : Transfert des souches déjà isolées LDA 39 / COEB/ Welience Oenologie ; isolement de la 2^{ème} souche par le LDA39 et transfert à Welience Oenologie

ST2 : Caractérisation des principaux critères œnologiques des 2 souches du LDA et caractérisation moléculaire des souches (Welience Oenologie)

- Remise en culture des souches sur milieu de laboratoire pour identification moléculaire et conservation dans la souchothèque.
- Réalisation en laboratoire de micro-vinifications (jus de raisin standardisé) pour caractérisation des principaux critères œnologiques: Evaluation du rendement (sucre/alcool); dosage de la production de SO₂, acide acétique, H₂S et éthanal; détermination du caractère killer.
- Dépôt de 8 souches en souchothèque

ST 3 : Définition du milieu de culture et des conditions de production à l'échelle labo (Welience PPB, PAM) (Si possible développement d'un milieu de culture BIO)

- Etude bibliographique approfondie sur les besoins nutritifs de la levure œnologique
- Etude de différents milieux de croissance de la levure : choix des sources azotées, des solutions minérales, vitaminiques et optimisation de la composition.
- Une fois le milieu défini, en parfaite adéquation avec la réglementation, optimisation des concentrations des différents éléments choisis.
- Ajustement des conditions de culture (application de pré-stress sub-létaux), permettant l'optimisation de la conservation en milieu liquide.

ST4 : Transfert des souches et de la production à l'échelle fermenteur (Welience PPB)

- Transfert du stade laboratoire au stade fermenteur
- Définition des meilleures conditions de culture, notamment en optimisant l'aération et l'agitation ainsi que l'ajout de substrats en cours de culture – Préparation des cellules à la stabilisation
- A la fin de cette partie, un procédé sera défini en utilisant comme critère d'évaluation le suivi de la DO, le nombre de cellules ainsi que leur viabilité (UFC, cytométrie). L'impact des conditions de productions sur les caractéristiques œnologiques des souches préalablement définis (voir ST2) sera également quantifié.

ST5 : Scale up jusqu'au stade pilote (PPB)

Le procédé défini précédemment sera étudié jusqu'au stade pilote (450 L) avec son système de concentration/récupération de biomasse (centrifugeuse continue) et estimation des pertes lors des différentes opérations.

La conservation et fonctionnalité des souches seront contrôlées à chaque étape en lien avec PAM .

La validation du procédé sera conduite par le COEB et le LDA 39 en milieu industriel. En fonction des demandes et dans la mesure des possibilités, des productions seront réalisées pour les vendanges de septembre pour l'ensemencement de différents volumes de moût. En parallèle, des études de conservation, de fonctionnalité des souches avec suivi de leur viabilité seront effectuées (PAM).

Livrables :

Levains liquides (M12, M24)

Tâche 2 : Conservation

ST1/ST2/ST3 : Formulation d'un milieu liquide pour conservation à long terme de la viabilité et de l'intégrité cellulaire (PAM)

Le travail sera réalisé sur les 4 souches de levure préalablement sélectionnées et caractérisées. Une première phase de développement sera menée sur deux souches (souche isolée en Bourgogne par le Coeb et souche isolée dans le Jura par le LDA39). Il s'agira principalement de la mise au point d'un milieu liquide permettant la conservation vitale et fonctionnelle des levures sur des périodes de 12 mois. La formule du milieu (agents osmotiques, antioxydants, nutriments), la nature des gaz dissouts (présence ou non d'oxygène, d'azote, d'hydrogène) et la température dans les échantillons de levure liquide seront les principaux paramètres ajustés pour obtenir un milieu et un protocole standards compatibles avec la préservation des cellules. La viabilité (UFC, cytométrie), l'intégrité structurale (fluidité membranaire) et fonctionnelle (potentiel membranaire, aptitude fermentaire) seront évalués sur des échantillons placés dans les différents milieux liquides testés. Ces tests auront lieu, à intervalles réguliers, après des périodes de conservation (variant de quelques heures à 12 mois). Ces mesures permettront d'identifier les paramètres les plus influents pour la conservation des cellules.

ST4 : Développement d'un test prédictif d'aptitude des souches à stabilisation (Welience Alimentaire)

Cette partie du programme a pour objectif d'étendre, sur la base du milieu et du protocole standards, le procédé à 2 ou 3 souches de levures. Cette phase du travail permettra d'évaluer l'impact de la diversité des souches sur l'efficacité du procédé et d'identifier des paramètres d'optimisation pour chaque produit. Des tests de résistance à l'oxydation, à la pression osmotique, à la privation nutritive et à la température seront appliqués sur chaque souche en vue d'établir son profil de sensibilité aux perturbations engendrées par le procédé de conservation. Cette approche permettra de développer un test « amont » destiné à orienter spécifiquement la stratégie de conservation en milieu liquide pour chaque souche de levure.

ST5 : Définition des conditions du conditionnement (PAM)

L'objectif est de définir les principaux critères constituant le cahier des charges préalable au développement d'un emballage optimal. Ils permettront de rechercher la solution la mieux adaptée à l'application visée. Ces critères seront définis par rapports aux résultats obtenus en ST3 et ST4 ; ils concerneront la perméabilité de l'emballage vis-à-vis des gaz, la nécessité ou non de parer à la pénétration de la lumière. La connaissance de la composition chimique du milieu de préservation sera également prise en compte pour définir la nature du ou des matériaux d'emballage.

ST6 : Mise au point de l'emballage (ATOUTPACK)

Phase 1 : Analyse détaillée et établissement des contraintes (produit/emballage)

Définition du projet et des attentes

Analyse des produits à emballer et détermination du cahier des charges

Intégration de toutes les contraintes (Marketing et commerce, Positionnement marché,

Process de production et de fabrication, Logistique (stockage, transport), Distribution,

Réglementation, Consommateur, Environnement, recyclage...)

Phase 2: Recherche

Recherche technique (veille technologique, benchmark...)

Phase 3: Etude technique

Etude et analyse technique approfondie

Travail collaboratif

Phase 4: Eco conception

Eco conception de solutions d'emballages intégrant l'ensemble des contraintes et des besoins

Préconisations de solutions d'emballages optimisées: matériaux, format/volume de packs, données logistiques, délai, qualité en fonction du besoin et des contraintes

Présentation et validation des solutions envisagées

Phase 5: Développement de la solution d'emballage

Développement de solutions d'emballages intégrant l'ensemble des contraintes et des besoins

Validation des différents éléments: matériaux, format/volume de packs, données logistiques, délai, qualité en fonction du besoin et des contraintes

Présentation et validation des solutions envisagées

Phase 6 : Etude économique

Recherche et qualification d'un ou plusieurs fabricants d'emballages en mesure de produire les emballages développés (capacités techniques, coûts, délais, qualité...)

Validation et choix avec les responsables de l'entreprise

Phase 7 : Test de conditionnement

Réalisation d'un test de conditionnement avec des emballages prototypes

Validation de l'essai par les différents interlocuteurs

Suivi des BAT

Phase 8: Gestion du projet et autres

Suivi du rétro-planning et points réguliers avec les différents interlocuteurs

Travail collaboratif et pilotage création

Livrables :

Conditions d'arrêt de croissance (M6)

Formulation du milieu (M12)

Cahier des charges pour l'emballage (M13)

Emballage (M19)

Tâche 3 : essais en conditions réelles

ST1 : Essais sur les 2 nouvelles souches à 12 mois et suivi de l'évolution (COEB, LDA 39)

ST2 : Essais sur le stabilisé liquide à 24 mois avec suivi de l'évolution (COEB, LDA 39)

ST3 : Suivi des essais par contrôles d'implantation (Welience Œnologie)

Les contrôles d'implantation seront réalisés sur les 4 souches, à raison de 8 suivis par an et par souche, répétés sur 2 années, soit 64 suivis. Ils sont constitués des tests de viabilité des cellules, des tests de reprise des Fermentations Alcooliques et de leur suivi, et de la validation des productions réalisées.

Livrable :

Validation des formulations proposées (M36)

Tâche 4 : protection des souches

Des démarches de protection des souches sont envisagées :

ST 1 : Souchothèque (Welience Œnologie)

Un maximum de 8 souches seront mises en collection par Welience Œnologie, en vue de leur conservation en l'état initial. La mise en conservation comprendra pour chaque souche :

- Repiquage et purification
- Caractérisation moléculaire par réalisation d'un profil "en delta"

- Production de 12 cryotubes pour dépôt
- Dépôt auprès d'une collection de souche (Collection Nationale de l'Institut Pasteur, ou équivalent)

ST2 : Dépôt de brevets (Welience Alimentaire)

Un maximum de 2 souches parmi les 8 mises en collection, pour lesquelles auront été identifiées et décrites des fonctionnalités particulières, et dont le caractère secret sera confirmé, feront l'objet d'une recherche d'antériorités et de la rédaction d'un pré-projet de brevet d'invention tenant compte des contraintes technico-économiques du marché des levains œnologiques.

Les aspects procédés et emballage, s'ils apportent des avancées significatives pourront également être intégrés à ces projets de brevet, en fonction des résultats obtenus lors du programme.

Livrables :

8 caractérisations et certificats de dépôts de souches (M12)

2 études de brevetabilité (M36)

Titre de propriété intellectuelle (M36)