

## FORMATION DES COMPOSÉS SOUFRÉS LOURDS AU COURS DE LA VINIFICATION DES VINS BLANCS SECS

Valérie LAVIGNE\*, J.N. BOIDRON et D. DUBOURDIEU

Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II  
351, Cours de la Libération, 33405 Talence (France)

**Résumé :** *Les composés soufrés lourds produits par la levure au cours de la fermentation alcoolique et responsables de certains défauts olfactifs de réduction, sont fortement influencés par l'origine du raisin et les paramètres de la vinification. Pour un moût donné, les conditions de débouillage (turbidité du moût débouillé et dose de SO<sub>2</sub> utilisée au débouillage) exercent une influence déterminante sur la teneur des vins en méthionol dont l'impact organoleptique est prépondérant par rapport à celui des autres composés soufrés identifiés. En regard de l'influence du débouillage, le rôle de la souche de levure apparaît moindre.*

### INTRODUCTION

Les composés soufrés volatils sont responsables des défauts olfactifs de réduction dans les vins. Les molécules intervenant dans ces phénomènes peuvent apparaître à différents stades : vinification, élevage, conservation en bouteille.

Les substances les plus étudiées jusqu'ici dans les vins sont les composés soufrés volatils légers (température d'ébullition < 90°C). Plusieurs auteurs, (RANKINE, 1963; ESCHENBRUCH, 1974; MARAIS, 1979; FEUILLAT et BUREAU, 1979; BARILLERE et al., 1989; LE FUR et al., 1991) ont montré que certains paramètres de la vinification peuvent influencer la formation de ces substances en quantité variable dans les moûts au cours de la fermentation alcoolique. Certains de ces composés peuvent également provenir de la dégradation chimique de résidus de pesticides soufrés (MAUJEAN, 1990; RAUHUT, 1990). Enfin, les travaux de MAUJEAN, (1978); MAUJEAN et SEGUIN (1983), ont clairement montré l'origine photochimique de certains défauts olfactifs de réduction (goûts de lumière).

En revanche, on ne dispose que de résultats partiels sur la formation dans les vins des composés soufrés lourds (température d'ébullition > 90°C). En effet, si leur présence a été signalée dans certaines boissons fermentées (WAINWRIGHT, 1972; SCHREIER, 1979; RAPP et al., 1985), les facteurs susceptibles d'influencer leur formation dans les vins n'ont pas été étudiés.

---

\* chercheur pour la société SEGUIN MOREAU détaché à l'Institut d'Œnologie

Dans un précédent travail (CHATONNET et *al.*, 1991), une méthode de dosage des composés soufrés volatils lourds a été proposée et les seuils de perception olfactifs de certains composés soufrés ont été déterminés (tableau I). Les premiers résultats ont montré qu'avant la fermentation alcoolique, les moûts sont normalement dépourvus de composés soufrés lourds. Ils apparaissent au cours de la fermentation alcoolique et leur teneur est maximale à la fin de celle-ci. Les principales substances analysées sont le méthionol, l'acétate de méthionyle, le méthionate d'éthyle, le méthylthio-4-butanol-2, le benzothiazole, le disulfure de diéthyle, le méthyl-2-thiophène, la méthyl-2-tétrahydro thiophénone.

Ces composés sont plus abondants dans les vins blancs « réduits », mais leur seuil de perception individuel est rarement atteint, à l'exception de celui du méthionol. En outre, ce composé n'évoluant pas dans les vins au cours de l'élevage, on peut le considérer comme un marqueur des défauts de réduction stables.

Dans ce travail, nous étudions l'influence de certains paramètres de la vinification sur la formation des composés soufrés lourds dans les vins blancs secs.

**TABLEAU I**  
**Seuils de perception de quelques composés soufrés lourds.**  
**Les seuils sont exprimés en µg/l**

	Solution synthétique	Vin rouge	Vin blanc
Disulfure de diéthyle	20	25	40
Méthionate d'éthyle	300	1.000	1.500
Acétate de méthionyle	50	115	100
Méthionol	1.200	3.200	4.500
Benzothiazole	50	200	350

selon CHATONNET et *al.* (1991)

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

### I — PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Les paramètres de la vinification étudiés sont la turbidité des moûts après débouillage, l'origine du raisin, la dose de SO<sub>2</sub> utilisée au cours du débouillage et la souche de levure responsable de la fermentation alcoolique.

Les essais sont effectués sur des moûts de Sauvignon et de Sémillon des récoltes 1990 et 1991 issus de 5 parcelles dont les caractéristiques sont rapportées tableau II.

**TABLEAU II**  
**Origine des différents moûts étudiés**

Parcelles	Cépages	Appellation	Sol
A	Sauvignon	1er côtes de Bordeaux	argileux
B	Sémillon	Graves	graves
C	Sémillon	Graves	argilo-calcaire
D	Sémillon	1er côtes de Bordeaux	argileux
E	Sauvignon	Graves	argilo-calcaire

L'extraction des jus est réalisée dans les conditions de la pratique de la façon suivante : les raisins sains sont foulés et éraflés et la vendange subit une macération pelliculaire pendant 18 heures sous atmosphère inerte de CO<sub>2</sub> à 15°C sans apport de SO<sub>2</sub>; les jus de goutte et de presse sont assemblés et sulfités à différentes doses; débourbage statique à 8°C.

Les fermentations se déroulent soit au laboratoire en bouteilles de 750 ml, soit à la cave en barriques de 225 l.

a) Incidence de la turbidité des moûts et de l'origine du raisin

Dans les essais de laboratoire le moût utilisé a été conservé à -4°C après filtration stérile. La turbidité est ajustée entre 100 et 500 NTU soit par addition de cellulose microgranulaire (GRANUCCEL) soit par addition de bourbes isolées par centrifugation d'un moût brut et conservées par congélation (-20°C). Les turbidités sont mesurées par néphélométrie (turbidimètre HACH RATIO).

Dans les conditions de la pratique, les turbidités souhaitées sont obtenues par des débourbages de durées variables. Les différents lots sont inoculés par la souche de levure EG8 C à raison de 10<sup>6</sup> cellules/ml.

b) Incidence de la dose de SO<sub>2</sub> utilisée au cours du débourbage

Un moût de Sémillon (parcelle D) est réparti en 3 lots débourbés en présence de 5, 8 et 10g/l de SO<sub>2</sub>. La turbidité des moûts débourbés est identique pour les 3 lots (150 NTU). Les fermentations sont réalisées en fûts, avec la même souche de levure (EG8 C).

c) Incidence de la souche de levure

Un même moût de Sauvignon issu de la parcelle E (turbidité 150 NTU) est inoculé en barriques par différentes souches de levures à raison de 10<sup>6</sup> cellules/ml: EG8 C, VL1, 71B, 2056, CEG, WET 136. La même expérience est réalisée au laboratoire sur un autre moût du même cépage.

## II — MÉTHODE DE DOSAGE

La méthode de dosage utilisée est décrite par CHATONNET et *al*, (1991).

50 ml de vin préalablement centrifugés (5.000 g, 10 mn) sont additionnés de 100 µl d'isothiocyanate d'allyle à 22,8 mg/l dans l'éthanol absolu (étalon interne). Les composés volatils sont extraits successivement par 10, 5 et 5 ml d'un mélange d'éther diéthylique-pentane (1/1). Les phases organiques rassemblées sont concentrées sous reflux d'azote à 500 µl.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'extrait est réalisée sur un chromatographe HP 5890, équipé d'une colonne capillaire type CARBOWAX 20 M (CPWAX 52 CB, 50 m x 0,22 ml, 0,25µ).

Le débit du gaz vecteur (hydrogène U) est de 1,2 ml/mn à 58 KPa de pression. Le programme de température (élévation de 3°C/mn) débute à 35°C par une isotherme de 5 mn et s'achève à 230°C par une isotherme de 25 mn.

On injecte 1µl d'extrait à 230°C en mode split less (rapport de division,70; température injecteur, 230°C; temps de fermeture des vannes, 30 secondes).

En sortie de colonne, le détecteur à photométrie de flamme (FPD) utilisé est de type simple flamme (HP 19256) calé à 393 nm. Maintenu à 200°C, il est alimenté par le mélange gazeux suivant : H<sub>2</sub> (72 ml/mn), O<sub>2</sub>+H<sub>2</sub> (80.20) 90 ml/mn, N<sub>2</sub> (38 ml/mn).

Cette méthode permet de doser dans les vins, avec un coefficient de variation moyen de 10 p. cent, le sulfure de diéthyle, le méthyl-2-thiophène, le disulfure de diméthyle, le méthylthio-3-propanal-1, le méthylthio-3-propanoate d'éthyle, l'acétate de méthylthio-3-propanol-1, le méthylthio-3-propanol-1, le benzothiazole. Pour chacune de ces substances, des courbes d'étalonnage avec des solutions de référence ont été tracées.

Deux composés, la méthyl-2-tétrahydro-thiophénone et le méthylthio-4 butanol-2 sont estimés en utilisant comme référence des molécules de structure chimique voisine (tétrahydro-thiophénone et méthylthio-3-propanol-1).

Pour certaines substances identifiées sur les chromatogrammes, acétate de méthane-thiol, *cis* et *trans* méthylthiophanol, on ne possède ni solution de référence, ni substance de structure chimique comparable. On peut cependant évaluer dans les vins la variation de concentration de ces substances en fonction des paramètres étudiés en considérant la variation du rapport  $(x/ei)^{0,5}$  où x désigne la surface du pic considéré et ei celle de l'étalon interne. L'exposant résulte de la loi de détection exponentielle des composés soufrés en photométrie de flamme (réponse du détecteur proportionnelle au carré de la concentration en atomes de soufre).

## RÉSULTATS

### I — INCIDENCE DE LA TURBIDITÉ DES MOÛTS ET DE L'ORIGINE DU RAISIN

La supplémentation d'un moût en particules de trouble (cellulose ou bourbes) entraîne une formation accrue de composés soufrés lourds au cours de la fermentation alcoolique (tableau III). Deux substances, la méthyl-2-tétrahydro-thiophénone et le méthionol sont particulièrement influencées par l'addition de bourbes.

**TABLEAU III**  
**Influence de la nature du trouble**  
**sur la formation de composés soufrés lourds dans les vins.**  
**Essais de laboratoire, moût de Sauvignon, récolte 1990.**

Substances ( $\mu\text{g/l}$ )	Témoïn (2 NTU)	Cellulose		Bourbes	
		100 NTU	500 NTU	100 NTU	500 NTU
Sulfure de diéthyle	0	0	0	0	5
Disulfure de diméthyle	3	4,5	6,5	4	6
Méthionate d'éthyle	7	4	6	5	7
Acétate de méthionyle	0	15	14	15	16
Méthionol	500	1.372	1.472	2.184	3.266
Méthyl-2-tétrahydro-thiophénone*	131	212	354	348	478

\* estimées en  $\mu\text{g/l}$  équivalent tétrahydro-thiophénone

Dans le cas d'une addition de cellulose, les teneurs plus élevées du milieu fermenté en composés soufrés ne peuvent s'expliquer que par une stimulation de la fermentation alcoolique due à « l'effet support » des particules et à l'adsorption de certains inhibiteurs de fermentation comme les acides gras (RIBÉREAU-GAYON et LAFON-LAFOURCADE, 1984; LARUE et *al.*, 1985). L'addition de doses croissantes de cellulose modifie peu les teneurs en composés soufrés, à l'exception de la méthyl-2-tétrahydro-thiophénone. A turbidité égale, l'addition de bourbes entraîne une formation plus importante de méthionol dans les vins que l'addition de cellulose. En outre, la teneur en méthionol varie fortement avec la quantité de bourbes ajoutées. Cette expérience de laboratoire est confirmée par des essais de fermentation du même moût en barriques à différentes turbidités. Le tableau IV rapporte les résultats d'un essai réalisé sur un moût de Sauvignon (parcelle A) de la récolte 1990. La figure 1 représente la variation des teneurs en méthionol en fonction de la turbidité des moûts pour la récolte 1991 de la même parcelle.

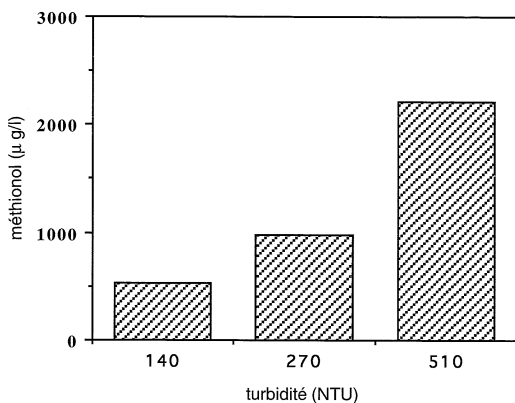


Fig. 1 — Influence de la turbidité des moûts sur la teneur en méthionol des vins.  
(Sauvignon parcelle A, récolte 1991)

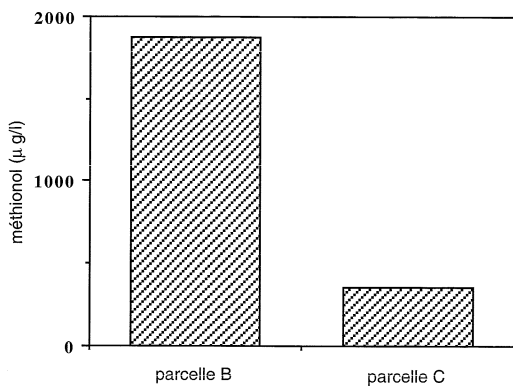


Fig. 2 — Incidence de l'origine du raisin sur la teneur en méthionol des vins  
(Sémillon, récolte 1990)

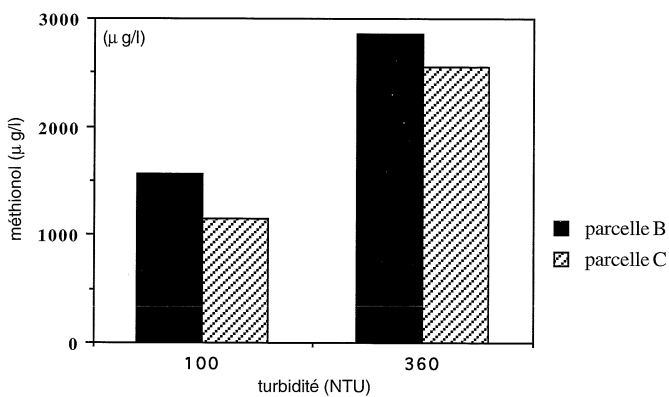


Fig. 3 — Incidence de l'origine du raisin et de la turbidité des moûts  
sur la teneur en méthionol des vins.(récolte 1991)

**TABLEAU IV**

**Influence de la turbidité des moûts sur la teneur en méthionol  
et autres composés soufrés lourds (Sauvignon 1990, parcelle A).  
Essais au chai**

Concentration (µg/l)	Turbidité (NTU)		
	75	200	470
Méthyl-2-thiophène	4	8	10,5
Méthyl-2-tétrahydro thiophénone*	26	38	38
Acétate de méthyl-thio-3- propyle	2	3	3
Méthyl thio-3-propanol-1 (méthionol)	359	551	666
Méthyl-thio-4-butanol-2**	39	61	75

\* estimées en µg/l équivalent tétrahydro thiophénone

\*\* estimées en µg/l équivalent méthyl thio-3-butanol-2

Ces deux exemples montrent que la teneur en méthionol des vins est directement influencée par la présence de bourbes. Cependant les teneurs en méthionol atteintes en 1991 sont plus élevées qu'en 1990, puisque dès 270 NTU le seuil de perception du méthionol (1,2 mg/l) est dépassé. L'impact olfactif individuel des autres composés soufrés analysés est négligeable vis à vis de celui du méthionol (tableau I).

Pour un cépage donné (Sémillon), récolté sur 2 parcelles (B et C) 2 années consécutives, la teneur en méthionol des vins varie pour une même turbidité selon l'origine du raisin. Les vins de la parcelle B possèdent des teneurs en méthionol supérieures au seuil de perception même pour de faibles turbidités (< 200 NTU) (figures 2 et 3). En revanche, pour la parcelle C, seuls les vins obtenus à partir de moûts de turbidité élevée possèdent des teneurs en méthionol nettement supérieures au seuil de perception.

## II — INCIDENCE DE LA DOSE DE SO<sub>2</sub> UTILISÉE AU DÉBOURBAGE

Pour une même turbidité des moûts (150 NTU) la dose de SO<sub>2</sub> utilisée au cours d'un débouillage réalisé dans les conditions de la pratique influe également sur la teneur en composés soufrés des vins. La teneur en méthionol augmente de 25 p. cent lorsque la dose de SO<sub>2</sub> passe de 5 à 10 g/hl; la concentration en méthionol est au-dessus du seuil de perception dès que le sulfitage est de 8 g/hl (figure 4). Il semble que le SO<sub>2</sub> contribue à l'extraction des précurseurs du méthionol à partir des bourbes car un sulfitage effectué après le débouillage, conduit, au contraire, à une diminution de la teneur en méthionol des vins.

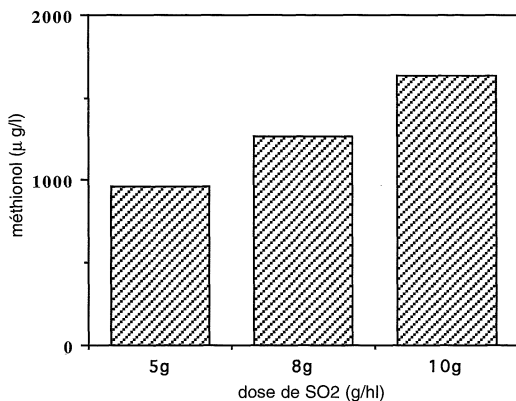


Fig. 4 — Incidence de la dose SO<sub>2</sub> utilisée au débouillage sur la teneur en méthionol des vins (Sémillon parcelle D, récolte 1990)

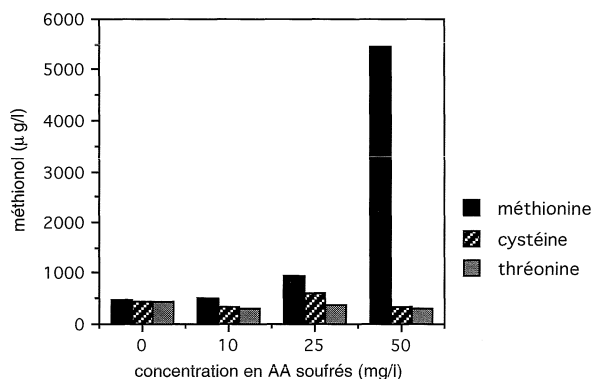


Fig. 5 — Incidence d'une addition de méthionine, thréonine ou cystéine sur la formation de méthionol dans les vins (Essais de laboratoire sur jus de raisin)

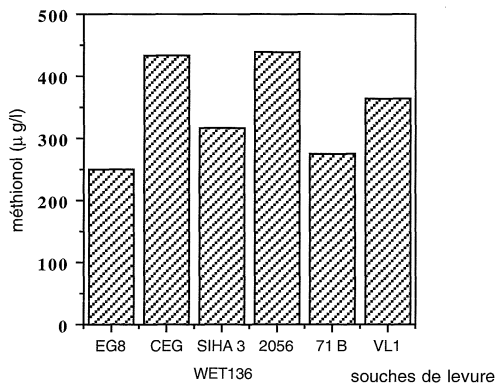


Fig. 6 — Incidence de la souche de levure sur la teneur en méthionol des vins (Sauvignon parcelle E, récolte 1990)



**TABLEAU V****Incidence de l'addition de sulfate ammonium et d'acide aspartique sur la formation du méthionol dans les vins**

Sulfate d'ammonium (mg/l)	Méthionol (µg)	Acide aspartique (mg/l)	Méthionol (µg/l)
0	516	0	2.400
500	568	50	2.100
1.000	578	100	2.300
2.000	624	200	2.000

Les mécanismes de formation du méthionol par la levure à partir des constituants du moût n'ont pas été précisés à ce jour. La seule teneur en méthionine des moûts, considérée comme le précurseur du méthionol dans la bière et en solution modèle (WAINWRIGHT, 1972; SCHREIR et *al.*, 1976), ne peut apporter une explication suffisante. En effet, l'addition de méthionine à un moût, n'entraîne une formation élevée de méthionol (figure 5) qu'à partir d'une supplémentation de 25 mg/l, dose supérieure aux valeurs habituellement rencontrées dans les moûts (CANTAGREL et *al.*, 1982). Par ailleurs, des ajouts croissants dans le moût de sulfate d'ammonium et d'acide aspartique, précurseurs de la synthèse de la méthionine chez la levure, modifient peu la production de méthionol au cours de la fermentation alcoolique (tableau V).

**III — INCIDENCE DE LA SOUCHE DE LEVURE**

Pour un moût donné, la souche de levure qui réalise la fermentation alcoolique influence aussi la teneur en composés soufrés lourds des vins (figure 6). Les écarts maximum observés sont de l'ordre de 25 p. cent. Cependant, dans nos conditions expérimentales (turbidité 150 NTU), les teneurs en méthionol des vins obtenus sont inférieures au seuil de perception. Dans ce cas, quelque soit la souche de levure utilisée, les vins ne présentent pas de défaut de réduction imputable aux composés soufrés lourds.

**CONCLUSION**

Les composés soufrés lourds produits par les levures au cours de la fermentation alcoolique sont fortement influencés par l'origine du moût et les paramètres de la vinification. Pour un moût donné, les conditions de débouillage (turbidité du moût débouillé et dose de SO<sub>2</sub> utilisée au débouillage) exercent une influence déterminante sur la teneur en méthionol des vins dont l'impact olfactif est prépondérant par rapport à celui des autres composés soufrés lourds étudiés.

En regard de l'influence du débouillage, le rôle de la souche de levure sur la formation du méthionol apparaît moindre. Ces observations justifient la pratique d'un sulfitage modéré des moûts et l'ajustement de leur turbidité entre 60 et 200 NTU, fourchette déjà préconisée pour le bon déroulement de la fermentation alcoolique des vins blancs secs des cépages bordelais (OLLIVIER *et al.*, 1987).

Les voies métaboliques de la biosynthèse du méthionol par la levure à partir des constituants du moût doivent être précisées.

Manuscrit reçu le 28 avril 1992, accepté pour publication le 29 mai 1992

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARILLERE S.M., CAILLET M., SERGENT M. et PHAN TAN LUU R., 1989. Les odeurs de réduction : classification par la dégustation de facteurs testés en vinification en blanc. *Actualités Œnologiques* 89, 547-551, Dunod (Paris).
- CANTAGREL R., SYMONDS P. et CARLES J., 1982. Composition en acides aminés du moût en fonction du cépage et de la technologie et son influence sur la qualité du vin. *Sci. Alim.*, n°2, 109-142.
- CHATONNET P., LAVIGNE V., BOIDRON JN. et DUBOURDIEU D., 1991. Identification et dosage de sulfures volatils lourds dans les vins par chromatographie en phase gazeuse et photométrie de flamme. *Sci. Alim.*, n°3, 1991.
- ESCHENBRUCH R., 1974. Sulfite and sulfide formation during winemaking. *Amer. J. Enol. Vitic.*, 25, 157-161.
- FEUILLAT M et BUREAU G., 1979. Mécanismes de formation des sulfites dans le moût de raisin. Application à la caractérisation des souches de levures productrices d'anhydride sulfureux. *CR. Acad. Agric.*, D, 1359-1364.
- LARUE F., GENEIX C., PARK M.K., MURAKAMI Y., LAFON-LAFOURCADE S. et RIBÉREAU-GAYON P., 1985. Incidence de certains polysaccharides insolubles sur la fermentation alcoolique. *Connaissance Vigne Vin*, 19, n°1, 41-52.
- LE FUR Y., FEUILLAT M. et ETIEVANT P.X., 1991. Analyse des composés soufrés de faible poids moléculaire dans les vins issus de cépage Alligoté. *Rev. Fr. Œnol.*, 128, 7-13.
- MARAIS J., 1979., Effect of storage and temperature on the formation of dimethyl sulfide and on wine quality. *Vitis*, 18, 254-260.
- MAUJEAN A., 1978. Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de Champagne, *Connaissance Vigne Vin*, 12, 277-280.

- MAUJEAN A., 1990. Influence d'agents extérieurs physico-chimiques à l'origine de goûts sulfhydriques et de réduction dans les vins. Moyens de prévention. Résumé des conférences CEnotech 90, 43-69, PALEXPO, (Genève).
- MAUJEAN A. et SEGUIN N., 1983 b. Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de Champagne 4. Approches à une solution œnologique des moyens de prévention des goûts de lumière, *Sci. Alim.*, n°3, 603-613.
- OLLIVIER C., STONESTREET T., LARUE F. et DUBOURDIEU D., 1987. Incidence de la composition colloïdale des moûts blancs sur leur fermentescibilité. *Connaissance Vigne Vin*, **21**, 1, 59-70.
- RANKINE B.C., 1963. Nature origin and prevention of hydrogen sulphide aroma in wines. *J. Sc. Food and Agric.*, **2**, 79-91.
- RAPP A., GUNTER M. et ALMY J., 1985. Identification and significance of severals sulfur-containing compounds in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **36**, n°3, 279-221.
- RAUHUT D., 1990. Trace analysis of sulphurous off-flavours in wine caused by extremely volatil-s-containing metabolites of pesticides e.g. Orthene. In RIBÉREAU-GAYON P. et LONVAUD A, *Actualités Œnologiques 89*, 482-487, Dunod (Paris).
- RIBÉREAU-GAYON P. et LAFON-LAFOURCADE S., 1984. Utilisation des écorces de levure pour la prévention et le traitement des arrêts de fermentation en vinification. *CR Acad. Agric*, 70 (8), 974-980.
- SCHREIR P., DRAWERT F., JUNKER A., BARTON H. et LEUPOLD G., 1976. Über die Biosynthese von Aromastoffen durch Mikroorganismen. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 162, 279-284
- SCHREIER P., 1979. Flavor composition of wines : a review, CRD Crit.. *Rev.Food.Sci.Nutr.*, **12**, 59-11.
- WAINWRIGHT T., 1972. Sulfur tastes and smells in beer. *Brewers digest*, July, 78-83.