

## QUELQUES OBSERVATIONS SUR LES CONDITIONS DE LA FORMATION D'ANHYDRIDE SULFUREUX EN VINIFICATION

Françoise LARUE, Min Kyong PARK et C. CARUANA

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

La formation d'anhydride sulfureux par les levures est un phénomène connu depuis la fin du siècle ; il a pris un intérêt technologique en œnologie lorsque cette substance a été contrôlée dans les vins (WÜRDIG, 1984). Cette production dépend de l'espèce (WÜRDIG, 1967 et 1971) et intervient dans les moûts en fin de fermentation ; elle est favorisée par des teneurs élevées en sulfates (FEUILLAT et BUREAU, 1979) ; par contre elle est réduite en présence de sulfites, d'acides aminés soufrés et à pH acide (WÜRDIG, 1971). FEUILLAT et BUREAU (1979) ont mis le phénomène en évidence dans les vins de champagne.

En Bordelais, on observe parfois dans les vins blancs, aussitôt après la fermentation, des teneurs en anhydride sulfureux du même ordre que celles qui ont été ajoutées au moût. On admet généralement que le quart de celles-ci environ est transformé en sulfate au cours de la fermentation, cette observation suggère une formation d'anhydride sulfureux par les levures dans les conditions pratiques de la vinification.

Dans ce travail, on a d'abord recherché la capacité de formation d'anhydride sulfureux par certaines souches isolées de vin dans lesquels cette formation est susceptible d'être intervenue. L'étude a été étendue à diverses levures sèches actives (LSA) commercialisées. Mais l'essentiel de ce travail tend à préciser les facteurs de cette formation.

### MATERIEL ET METHODES

On utilise pour milieu de base un jus commercial du raisin de Muscat (Salins du Midi, 34063 Montpellier), enrichi au sucre par addition de saccharose. Il est stérilisé par filtration.

Les levures (*Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces bayanus*) sont des levures sèches actives de diverses provenances industrielles et des levures indigènes isolées d'un vin dans lequel la formation de SO<sub>2</sub> est susceptible d'être intervenue.

Le SO<sub>2</sub> total est dosé par la méthode RIPPER avec l'iode N/100 en milieu

acide. En toute rigueur, on dose les substances oxydables par l'iode ; il est connu dans certains cas (surtout vins rouges nouveaux) l'existence d'oxydations correspondant à des substances inconnues réagissant dans les mêmes conditions.

Le sucre est dosé par méthode chimique de FELHING.

Les expérimentations sont conduites en bouteilles de 750 ml contenant 650 ml de moût. L'influence du chauffage est étudiée en portant les échantillons à 105°C pendant 5 minutes. Les conditions d'aérobiose et de semi-aérobiose sont obtenues respectivement en obturant les bouteilles avec un bouchon de ouate et un bouchon de caoutchouc percé d'un tube effilé rempli de coton. Ce dernier système permet l'évacuation du gaz carbonique et limite l'entrée d'air.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### I — FORMATION D'ANHYDRIDE SULFUREUX PAR DIFFERENTES SOUCHES DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* INDIGENES, ISOLEES D'UN VIN CONTENANT UN EXCES DE SO<sub>2</sub>.

Huit souches de *Saccharomyces cerevisiae* isolées d'un vin blanc dans lequel la formation de SO<sub>2</sub> est susceptible d'être intervenue sont mises à fermenter dans le moût stérilisé par la chaleur, non sulfité et enrichi à 220 g de sucre par litre. On incube à 25°C en semi-aérobiose.

A l'arrêt spontané de la fermentation, l'anhydride sulfureux total varie de 12 à 64 mg par litre selon les échantillons (Tableau I).

Les vins fermentés par les souches (3) et (6) présentent des teneurs analogues (environ 40 mg par litre), pour des quantités de sucre fermentées différentes, respectivement 156 et 216 g par litre ; ceci suggère que la capacité à former l'anhydride sulfureux n'est pas liée au pouvoir alcoolique. On peut noter également que la souche (5), à métabolisme lent, (126 g de sucre fermentés par litre au 15<sup>e</sup> jour pour 169 g par litre en moyenne) produit la quantité d'anhydride sulfureux la plus importante, 64 mg par litre.

Dans des conditions de fermentations analogues, deux souches de *Saccharomyces cerevisiae* (9, 10) et deux souches de *Saccharomyces bayanus* (11, 12), commercialisées sous forme de levure sèche active, libèrent de 23 à 33 mg de SO<sub>2</sub> par litre (Tableau I).

### II — FORMATION DE SO<sub>2</sub> SELON LES CONDITIONS DE LA FERMENTATION.

#### a) Incidence des conditions d'aération.

Le moût enrichi à 210 g de sucre par litre est, préalablement à l'ensemencement par *Saccharomyces cerevisiae*, stérilisé par filtration. Certains échantillons sont chauffés 5 mn à 105°C (Tableau II, conditions 2, 4, 5, 6,

**TABLEAU I**

**Formation d'anhydride sulfureux par différentes souches  
de *Saccharomyces cerevisiae* et *Saccharomyces bayanus*  
dans un moût préalablement stérilisé par la chaleur et non sulfité**

Sucre initial : 220 g par litre.  
Fermentation à 25°C en semi-aérobiose.

Levures	Après 15 jours Sucre fermenté (g/l)	A l'arrêt spontané des fermentations			
		Sucre fermenté (g/l)	SO <sub>2</sub> total (mg/l)	SO <sub>2</sub> formé (mg) pour 100 g de sucre fermenté	
indigènes <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	186	201	12	5,9
	2	178	194	40	20,6
	3	137	156	36	23,1
	4	179	199	28	14,1
	5	126	192	64	33,3
	6	204	216	40	18,5
	7	175	194	40	20,6
	8	170	193	40	20,7
sèches <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9	175	194	31	16,0
	10	165	182	29	15,9
actives <i>Saccharomyces bayanus</i>	11	178	196	23	11,7
	12	167	185	33	17,8

**TABLEAU II**

**Incidence des conditions d'aération  
sur la formation de SO<sub>2</sub> par *Saccharomyces cerevisiae***

Sucre initial : 210 g par litre.  
Levure sèche active.  
Température de fermentation : 25°C.

	Conditions de la fermentation		SO <sub>2</sub> total formé en fin de fermentation (mg/l)
	Stérilisation par chauffage du moût	En aérobiose	
1	non	oui	10,2
2	oui	oui	14,6
3	non	non	16,6
4	oui	non	24,3
5	oui avec aération	oui	16,6
6	avant ensemencement	non	23,0
7	oui avec aération au 3 <sup>e</sup> jour de la fermentation	non	17,0

7). La fermentation est conduite en aérobiose (conditions 1, 2) et semi-aérobiose (conditions 3, 4, 6, 7). Une aération intervient après chauffage, mais avant l'ensemencement dans les conditions 5 et 6 ou pendant la phase de prolifération (condition 7).

Les formations de SO<sub>2</sub> restent limitées (Tableau II), le chauffage du moût les augmente aussi bien en aérobiose qu'en semi-aérobiose (comparaison des conditions 1/2 et 2/3). En semi-aérobiose, la production de SO<sub>2</sub> est plus importante qu'en aérobiose (conditions 3/1). L'aération avant ensemencement du moût chauffé ne modifie pas la teneur (comparaison des conditions 5/2 et 6/4). Une aération ponctuelle pendant la phase de prolifération des levures la diminue (comparaison des conditions 7/4).

Dans un autre essai, le moût chauffé ou non est ensemencé à raison de 10<sup>6</sup> cellules par millilitre par une souche de *Saccharomyces cerevisiae* et une de *Saccharomyces bayanus* (LSA). Les fermentations sont conduites en aérobiose et semi-aérobiose. Chaque souche libère des quantités différentes d'anhydride sulfureux (Tableau III). Les résultats confirment ceux du tableau II concernant les effets de l'aération et du chauffage. Ils montrent que *Saccharomyces bayanus* a un comportement identique à *Saccharomyces cerevisiae*.

**TABLEAU III**

**Formation d'anhydride sulfureux par différentes levures  
en fonction des conditions d'aération au cours de la fermentation  
et du chauffage initial des moûts**

Sucre initial : 220 g par litre.  
Température de fermentation : 25°C.

Levures sèches actives	Conditions de fermentation				
	Semi-aérobiose		Aérobiose		
	Moût chauffé	Moût non chauffé	Moût chauffé	Moût non chauffé	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9	30,7	16,6	14,0	10,2
	10	29,4	16,6	14,0	11,5
<i>Saccharomyces bayanus</i>	11	23,0	12,8	11,5	10,2
	12	33,0	18,0	15,0	7,0
Moyenne		29,0	16,0	13,6	9,7

Les chiffres indiquent la concentration des moûts en anhydride sulfureux total (mg par litre) à l'arrêt de la fermentation.

## b) Incidence de la température et de l'état physiologique de l'inoculum.

Le moût titrant 180 g de sucre par litre est chauffé ou non préalablement à un ensemencement de  $10^8$  cellules par millilitre à l'aide de levures sèches actives (*Saccharomyces cerevisiae*) et des mêmes levures en phase de prolifération (levain) précultivées dans le même moût. On laisse fermenter en semi-aérobiose à 10 et 25°C.

Pour toutes conditions égales, la formation de  $SO_2$  est nettement plus importante à 10°C qu'à 25°C (Tableau IV). Dans les moûts frais, non chauffés, les teneurs sont multipliées par six. L'augmentation est plus faible dans les moûts chauffés.

TABLEAU IV

### Incidence de la température de fermentation et de l'état physiologique de l'inoculum à l'égard de la formation de $SO_2$ par *Saccharomyces cerevisiae*

Sucre initial : 180 g par litre.  
Fermentation en semi-aérobiose.

Température	Chauffage des moûts	Inoculum	A l'arrêt de la fermentation	
			Sucre fermenté (g/l)	$SO_2$ total formé (mg/l)
25°C	—	L S A Levain	179 176	6,4 7,6
	+	L S A Levain	172 144	29,4 34,5
10°C	—	L S A Levain	162 155	39,6 47,3
	+	L S A Levain	148 114	43,5 51,2

LSA : Levure sèche active (*Saccharomyces cerevisiae*).

Levain : 5 p. 100 du même moût ensemencé par *Saccharomyces cerevisiae*.

D'une manière générale l'inoculation avec les levures sèches actives entraîne des formations légèrement moins élevées de  $SO_2$ .

### III — FORMATION DE $SO_2$ SELON LA CONCENTRATION INITIALE DU MOUT EN SUCRE ET EN ANHYDRIDE SULFUREUX. INCIDENCE D'UNE ADDITION DE THIAMINE.

Le même moût titrant 180 et 250 g de sucre par litre, chauffé ou non, est mis à fermenter à 10 et 25°C en semi-aérobiose.

Dans les moûts chauffés fermentant à 10°C ou à 25°C, pour les deux concentrations en sucre, les formations de  $SO_2$  sont voisines (Tableau V).

Par contre dans les moûts non chauffés fermentant à 25°C, la teneur en SO<sub>2</sub>, dans le moût titrant initialement 250 g de sucre par litre, est deux fois plus élevée que dans le moût à 180 g de sucre par litre ; elle reste cependant faible (15 mg par litre).

**TABLEAU V**

**Incidence de la concentration initiale en sucre du moût de raisin  
à l'égard du SO<sub>2</sub> formé par *Saccharomyces cerevisiae***

Fermentation en semi-aérobiose à 25°C  
Levure sèche active.

Chauffage	Sucre initial (g/l)	Température (°C)	SO <sub>2</sub> total (mg/l)
+	180	10	43,5
		25	29,4
	250	10	49,2
		25	25,6
—	180	10	39,6
		25	6,4
	250	10	38,4
		25	15,3

Dans un autre essai, le moût non chauffé, titrant 210 g de sucre par litre est additionné de 70 mg de SO<sub>2</sub> par litre avant ensemencement avec une souche de *Saccharomyces cerevisiae* et une souche de *Saccharomyces bayanus* (Tableau VI). En fin de fermentation, on retrouve des teneurs en anhydride sulfureux respectivement de 44 et 60 mg par litre ; il n'est pas possible de différencier la quantité disparue par oxydation de celle formée par les levures. Nous n'avons pas pu reproduire au laboratoire les observations faites en Bordelais montrant une concentration en SO<sub>2</sub> total du vin égale ou légèrement supérieure à celle qui a été ajoutée au moût.

Enfin l'addition de thiamine (0,2 mg par litre) dans les moûts non chauffés ne modifie pas la teneur des vins en SO<sub>2</sub> (Tableau VI) ; elle est diminuée de manière variable selon la souche de levure impliquée dans les moûts chauffés.

On a observé par ailleurs que l'addition d'écorces de levure n'intervient pas sur la formation de SO<sub>2</sub>.

TABLEAU VI

**Incidence du sulfitage du moût et d'une addition de thiamine à l'égard de la formation de SO<sub>2</sub> par deux souches de levures sèches actives**

Sucre initial : 210 g par litre.

Fermentation en semi-aérobiose à 25°C.

Chauffage des moûts	Levure	Additions au moût de		SO <sub>2</sub> total en fin de fermentation (mg/l)
		SO <sub>2</sub> (mg/l)	Thiamine (mg/l)	
—	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0	12,8
		0	0,2	12,8
		70	0	44,0
	<i>Saccharomyces bayanus</i>	0	0	10,2
		0	0,2	10,0
		70	0	60,0
+	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0	33,2
		0	0,2	21,7
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0	24,3
		0	0,2	20,4

**CONCLUSION**

Cette étude confirme que la formation d'anhydride sulfureux par les levures varie selon la souche. On montre en outre qu'elle est liée aux conditions de la fermentation ; la température est un des facteurs déterminants. A 10°C la formation de SO<sub>2</sub> est, dans ces essais, six fois plus élevée qu'à 25°C. Ceci explique que le phénomène ait été observé surtout en vinification en blanc ; il a pu s'accroître ces dernières années en Bordelais, favorisé par l'abaissement de la température de fermentation.

Le chauffage des moûts peut également doubler la formation de SO<sub>2</sub>. En conséquence la stérilisation par la chaleur des moûts est à éviter même si le but est de favoriser le développement de levures sélectionnées pour leur faible capacité à former du SO<sub>2</sub>. L'aération préalable à l'ensemencement est sans effet. L'aération au 3<sup>e</sup> jour de la fermentation et des conditions aérobies entraînent une diminution de ces formations. Ces résultats suggèrent que l'exposition de la population des levures à l'air pendant leur phase de prolifération est susceptible de modifier le métabolisme soufré de la levure dans un milieu privé d'oxygène.

La concentration initiale du moût en sucre et la capacité fermentaire de la levure semblent peu intervenir.

Manuscrit reçu le 25 juillet 1985 ; accepté pour publication le 2 septembre 1985.

## RÉSUMÉ

Les formations importantes de SO<sub>2</sub> en vinification en blanc dans les conditions de la pratique pourraient s'expliquer soit par l'intervention de levures particulières soit par des fermentations particulièrement lentes, à basses températures, dans des conditions d'anaérobiose stricte.

## SUMMARY

Under practical condition, the high formation of SO<sub>2</sub> in white vinification could be explained by the intervention of particularly yeast strains or by slowly fermentation especially at low temperature or in conditions of strict anaerobiosis.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die wichtige Bildung von SO<sub>2</sub> bei der Weissweinbereitung unter Bedingungen der Praxis liesse sich entweder durch den Eingriff ganz bestimmter Hefeteile erklären, oder durch eine ungewöhnlich langsame Gaeung, bei tiefen Temperaturen und unter streng anaeroben Bedingungen.

## RESUMEN

Se ha notado una formación importante de deóxido de azufre en ciertos casos de vinificación en blanco. Se dan aquí dos motivos. Quizás haya un papel desempeñado por ciertas levaduras o, quizás se deba esto a fermentaciones muy lentas, efectuadas a temperaturas demasiado bajas, en anaerobiosis estricta.

## RIASSUNTO

Le formazioni importanti di SO<sub>2</sub> per la vinificazione dei vini bianchi nelle condizioni della pratica si potrebbero spiegare sia dall'intervenzione di lieviti particolari, sia per fermentazioni particolarmente lenti a basse temperature in condizioni di « anaerobiose » rigorosa.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- FEUILLAT N. et BUREAU G., 1979. Observations et essais réalisés en Champagne sur la production d'anhydride sulfureux par les levures. *C.R. Acad. Agric.*, 647-651.
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1982. Analyse et contrôle des vins. *Sciences et techniques du vin*, tome 2, 2<sup>e</sup> édition, Dunod, Paris, 458-459.
- WÜRDIG G. und SCHLOTTER H.A., 1967. SO<sub>2</sub> Bildung im Gärenden Traubenmosten. *Z. Lebensm 4 Forsch* 144, 7-13.
- WÜRDIG G. und SCHLOTTER H.A., 1971. Über das Verhalten SO<sub>2</sub> Bildung der Hefen im natürlichen Hefegemische des Traubenmostes und Lebensm Rundsch 67, 86-91.
- WÜRDIG G. 64<sup>e</sup> assemblée générale O.I.V. (section Œnologie). 3 au 9 septembre 1984. PORTO (PORTUGAL).