

INCIDENCE DE L'ACTION CONJUGUEE DE LA TEMPERATURE DE FERMENTATION ET DE L'ACIDITE DU MILIEU SUR LES TENEURS EN SUBSTANCES VOLATILES FORMEES PAR LES LEVURES

E. SOUFLEROS * et A. BERTRAND

Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II
351, cours de la Libération, 33405 Talence

* Adresse actuelle : Laboratoire de Technologie Agricole, Faculté d'Agronomie
Université de Thessalonique (Grèce).

INTRODUCTION

Au cours de l'étude de la microflore levurienne de la région viticole de Naoussa (Grèce du Nord) (SOUFLEROS, 1978 ; SOUFLEROS et *al.*, 1979), nous avons constaté que le principal cépage de cette région, le *Xynomavron*, présente à maturité une teneur en acide malique faible alors que celle de l'acide tartrique est élevée ; les moûts ont des valeurs de pH relativement basses. Par ailleurs, la cuverie en ciment ou en métal de capacité importante, l'absence de moyens de réfrigération entraînent des températures de fermentation élevées. Nous savons que ces divers facteurs exercent une influence importante sur le métabolisme des levures (RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975). En conséquence, nous avons étudié l'incidence de l'action conjuguée de la température de fermentation et de l'acidité du milieu sur les teneurs en substances volatiles formées au cours de la fermentation. Les analyses ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse (SOUFLEROS et BERTRAND, 1979).

Les souches de levures les plus fréquentes, sélectionnées parmi celles isolées dans la région de Naoussa (SOUFLEROS et *al.*, 1979), ont été étudiées au laboratoire dans des conditions de température et d'acidité variables, qui s'approchent de celles de la technologie actuelle de cette région vinicole.

MATERIELS ET METHODES

1°) Conditions de fermentation.

Le milieu de fermentation constitué par un moût de raisin blanc, stérilisé à froid par filtration sur membrane, a été aseptiquement enrichi

par de l'extrait de levures (Difco) 2 g par litre et du sulfate d'ammonium, 500 mg par litre.

Le milieu ainsi obtenu a été séparé en deux fractions dont le pH a été ajusté respectivement à 2,9 et 3,4. La fermentation de chaque milieu a été conduite séparément à deux températures, 20 °C et 30 °C.

L'ensemencement a été réalisé par un inoculum de 5 ml d'une culture récente d'une souche pure. 12 levures ont été utilisées, 3 souches de *Saccharomyces cerevisiae* et une souche de chacune des levures suivantes : *Saccharomyces bailli*, *Saccharomyces capensis*, *Saccharomyces chevalieri*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Saccharomyces rosei*, *Hanseniaspora uvarum*, *Hanseniaspora osmophila*, *Saccharomycodes ludwigii* et *Torulopsis stellata*. Les fermentations se sont déroulées en anaérobiose dans des bouteilles de 75 cl munies de barboteurs. Pour obtenir une fermentation rapide les milieux sont oxygénés 48 heures après l'ensemencement.

2°) **Techniques chromatographiques.** L'analyse des milieux a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse. Le glycérol, l'acétate d'éthyle, le lactate d'éthyle, le méthanol et les alcools supérieurs ont été dosés par injection directe. Les esters, autres que l'acétate d'éthyle, présents à faibles teneurs, ont été préalablement concentrés par extraction en ampoules à décanter de 100 ml, par 3 fois 6 ml du mélange éther-hexane (2-1, v/v). La phase organique a ensuite été concentrée par évaporation sur plaque chauffante sans ébullition. Cette dernière méthode de dosage des esters a été mise au point pour la présente étude.

Les colonnes utilisées, leurs caractéristiques ainsi que les conditions dans lesquelles est effectué le dosage des substances étudiées ont été indiquées par ailleurs (SOUFLEROS et BERTRAND, 1979).

RESULTATS

Les résultats obtenus pour les 12 souches de levures étudiées sont rassemblées dans les tableaux I, II et III.

A partir de ces résultats nous avons ensuite étudié plus en détail le rôle de la température et de l'acidité sur la production des substances volatiles par les levures de vinification les plus fréquentes : *S. cerevisiae*, pour les levures les plus alcoogènes ; *S. bailli*, pour les levures moyennement alcoogènes ; *H. Spora uvarum*, pour les levures peu alcoogène. *S. bailli* présente également un intérêt supplémentaire à cause de sa résistance aux températures élevées (DEVÈZE, 1977). Pour *S. cerevisiae* les résultats représentent des moyennes calculées pour 3 souches.

Pour chaque pH (2,9 et 3,4) nous avons recherché les taux de variations des teneurs en substances volatiles entraînées par la diminution de température de 30 °C à 20 °C (tableau IV). Nous avons fait de même

TABLEAU I

Teneurs en alcools pour différentes levures en fonction de la température et du pH

	pH	Ethanol p. 100		Propanol-1		Méthyl-2 propanol-1		Butanol-1		Méthyl-2 + méthyl-3 butanol-1		Phényl-2 éthanol		Héxanol-1		Alcools sup. totaux	
		20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> V 11	2,9	10,46	9,56	24,2	26,8	17,1	18,0	0,85	1,6	102	95,5	14,3	13,7	1,1	0,48	159	156
	3,4	9,80	9,94	36,6	41,3	19,5	25,0	1,10	1,9	117	135	14,1	19,4	0,50	0,53	189	223
	2,9	10,48	9,69	22,5	30,3	14,6	15,6	1,21	1,5	100	87,2	11,4	11,6	1,42	0,45	151	147
	3,4	10,0	9,92	29,5	34,4	18,0	20,3	1,78	1,14	109	109	12,3	13,7	0,89	0,52	176	179
MF 36	2,9	9,65	9,46	44,7	33,2	17,0	9,6	4,0	3,5	144	80,3	18,6	13,2	0,46	0,94	229	141
	3,4	9,82	10,40	62,2	39,5	17,3	16,0	4,3	4,1	139	88,8	14,2	13,8	0,55	0,74	238	163
<i>Saccharomyces heterogenicus</i> V 40	2,9	9,91	10,05	39,3	25,8	9,3	14,8	1,4	0,9	84,7	63,9	13,9	11,6	0,56	1,61	149	119
	3,4	10,67	9,39	46,2	31,4	10,5	15,2	1,4	1,0	92,2	76,0	12,7	16,1	0,61	0,50	164	140
<i>Saccharomyces chevallieri</i> DF 60	2,9	10,55	10,36	17,8	19,9	19,7	15,7	+	1,7	102	83,0	14,4	17,4	0,68	0,90	155	139
	3,4	10,38	9,75	25,9	40,1	22	27,7	1,4	3,8	114	146	17,0	18,5	0,81	0,56	181	237
<i>Saccharomyces baylii</i> DF 10	2,9	5,32	4,69	10,9	13,0	16,5	19,6	0,6	+	44,3	46,8	21,7	21,0	1,37	2,0	95,4	102
	3,4	5,55	4,71	11,8	12,3	8,1	19,3	+	+	25,4	52,8	11,8	20,9	0,99	1,7	58,1	107
<i>Saccharomyces capensis</i> DF 79	2,9	8,39	5,63	25,0	28,8	18,1	16,5	1,4	+	79,9	68,5	14,8	12,7	1,52	1,8	141	128
	3,4	9,59	6,08	30,3	28,2	17,4	14,0	+	2,7	106	74,5	19,8	17,3	1,49	1,5	175	139
<i>Saccharomyces rosei</i> DF 59	2,9	—	5,24	21,8	18,3	5,4	3,8	0,75	1,1	39,5	39,5	10,9	11,9	1,29	1,5	79,6	76,1
	3,4	8,17	4,58	22,8	17	8,3	4,6	1,0	+	55,6	36,7	14,2	15,4	1,19	0,9	103	74,6
<i>S'codes ludwigii</i> DF 51	2,9	9,84	6,84	15,9	13,7	27,0	29,2	0,7	+	110	86,4	28,0	18,5	1,1	1,4	183	149
	3,4	6,66	6,74	10,7	14,8	17,0	33,6	+	+	94,8	97,8	20,1	25,9	1,15	0,6	144	173
<i>Tortilopsis stellata</i> R 24	2,9	6,93	5,41	11,0	12,0	31,4	46,4	+	+	19,9	20,6	12,7	25,4	1,29	1,75	76,3	106
	3,4	6,76	5,21	13,9	12,4	39,0	52,1	+	+	25,4	22,7	18,0	29,5	1,33	1,5	97,6	118
<i>H'spora uvarum</i> DF 22	2,9	3,94	3,03	5,8	2,7	10,0	6,3	+	+	18,9	12,1	9,7	9,9	1,6	1,1	46	32,1
	3,4	3,73	4,20	7,3	26,2	11,6	10,7	+	+	24,8	23,9	7,0	8,4	1,43	1,4	52,1	70,6
<i>H'spora osmophila</i> DF 29	2,9	3,02	2,79	4,0	3,2	5,4	5,8	+	+	15,9	17,0	8,7	8,2	0,51	0,39	33,6	34,6
	3,4	4,35	—	16,7	—	10,7	—	+	—	26,1	—	10,7	—	1,03	—	65,2	—

+ Teneurs trop faibles pour être estimées quantitativement. * Les résultats sont exprimés en mg par litre

TABLEAU II

Teneurs des esters pour différentes levures en fonction du pH et de la température
Les résultats sont exprimés en mg/l

	pH	Acétate d'éthyle		Acétate de méthyl-3 butyle		Acétate d'hexyle		Acétate de phényl-2 éthyle		Lactate d'éthyle		Succinate de diéthyle		Hexanoate d'éthyle		Octanoate d'éthyle		Décanoate d'éthyle		Esters * supérieurs totaux	
		20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> V 11	2,9	53,1	56,2	3,25	1,95	0,35	0,29	0,45	0,22	+	4,8	0,13	0,04	1,18	1,00	2,06	1,58	1,06	0,72	8,50	5,80
	3,4	69,4	60,4	6,24	2,73	0,67	0,33	0,40	0,37	8,2	5,7	+	0,06	1,86	0,81	2,74	1,87	0,98	0,88	12,90	7,05
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> V 12	2,9	56,6	53,4	4,29	2,08	0,86	0,25	0,28	0,19	+	8,0	0,10	0,02	2,40	0,84	2,19	1,58	0,89	0,73	11,00	5,69
	3,4	63,9	50,3	1,76	3,90	0,21	0,51	0,40	0,33	+	+	0,09	0,04	0,64	1,26	2,39	2,02	0,82	0,89	6,31	8,92
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MF 36	2,9	66,9	34,2	4,55	1,30	0,40	0,21	0,39	0,23	28,1	12,5	0,02	1,47	0,90	2,59	1,21	0,37	0,82	10,40	4,82	
	3,4	77,7	36,0	4,55	2,73	0,61	0,29	0,49	0,23	5,0	+	+	0,08	1,63	2,22	5,04	1,41	0,93	0,60	13,30	7,56
<i>Saccharomyces heterogenicus</i> V 40	2,9	96,4	68,4	5,59	1,74	0,73	0,33	0,61	0,52	7,0	33,2	+	0,15	1,78	0,89	2,30	1,34	0,85	0,86	11,90	5,83
	3,4	82,0	71,9	6,50	3,12	0,64	0,51	0,54	0,48	+	29,1	0,03	0,01	1,20	1,12	1,71	1,58	0,74	1,01	11,40	7,83
<i>Saccharomyces chevalieri</i> DF 60	2,9	51,9	50,3	2,73	1,78	0,29	0,21	0,23	0,27	+	0,7	0,17	0,18	0,83	0,64	1,58	1,21	0,64	0,69	6,47	4,98
	3,4	56,4	76,8	5,07	4,03	0,45	0,32	0,44	0,48	+	+	0,07	0,06	1,18	0,64	1,83	1,73	-0,76	0,89	9,80	8,15
<i>Saccharomyces baillii</i> DF 10	2,9	36,4	31,1	0,09	0,05	0,09	+	0,22	0,18	41,6	18	0,22	0,18	0,01	0,15	0,27	0,40	0,05	0,07	0,78	0,81
	3,4	72,5	23,5	0,25	0,21	0,21	+	0,25	0,26	62,5	58,4	0,20	0,05	0,15	0,04	0,46	0,36	0,19	0,11	1,71	1,03
<i>Saccharomyces capensis</i> DF 79	2,9	81,0	37,4	0,26	0,07	+	+	0,04	+	328	267	0,05	0,06	0,10	+	0,19	0,36	0,32	0,19	0,95	0,66
	3,4	66,0	29,9	0,42	0,07	+	0,04	0,07	+	380	103	0,02	0,19	0,38	0,06	0,30	0,42	0,47	0,44	1,66	1,22
<i>Saccharomyces rosei</i> DF 59	2,9	17,7	11,9	0,91	0,07	0,01	+	0,09	0,10	+	+	0,04	0,14	0,22	0,04	0,40	0,50	0,61	0,17	2,28	1,02
	3,4	12,5	49,7	0,08	+	0,01	+	0,07	0,04	6,7	407	0,04	0,21	0,19	0,10	0,42	0,55	0,52	0,29	1,33	1,19
<i>S'codos ludwigii</i> DF 51	2,9	104	107	0,75	0,35	0,02	+	0,13	0,09	202	234	0,09	0,11	0,41	0,12	0,89	0,46	0,40	0,16	2,69	1,29
	3,4	371	112	1,24	0,16	+	+	0,15	0,10	184	223	+	0,06	0,50	+	0,49	0,29	0,21	0,15	2,59	0,76
<i>Torulopsis stellata</i> R 24	2,9	24,3	17,2	0,04	+	+	+	0,01	0,01	184	91	0,15	0,14	+	+	0,33	0,42	0,07	0,05	0,60	0,62
	3,4	25,9	10,1	0,05	0,46	+	+	+	0,01	155	340	0,06	0,03	0,04	0,07	0,26	0,27	0,07	0,05	0,48	0,90
<i>H'spora uvarum</i> DF 22	2,9	169	80,6	0,91	0,29	0,11	0,01	0,32	0,24	291	185	0,05	0,26	0,16	0,04	0,24	0,45	0,28	0,09	2,07	1,38
	3,4	144	68,0	0,95	0,83	0,15	0,05	0,36	0,33	218	294	+	0,21	0,05	0,11	0,26	0,62	0,12	0,03	1,89	2,18
<i>H'spora osmophila</i> DF 29	2,9	101	120	0,20	0,52	0,08	0,07	0,11	0,16	450	454	0,19	0,17	0,04	0,04	0,35	0,37	0,03	0,05	1,00	1,38
	3,4	188	—	0,46	—	0,05	—	0,38	—	488	—	0,51	—	0,21	—	0,66	—	+	—	2,27	—

* Acétate d'éthyle et lactate d'éthyle non compris.

+ Teneurs trop faibles pour être estimées quantitativement.

Pour toutes les levures et dans toutes les conditions le Dodécanoate d'éthyles est présent à des teneurs trop faibles pour être données.

pour la diminution de l'acidité (passage de pH 2,9 et pH 3,4) aux deux mêmes températures (20 °C et 30 °C), (tableau V).

TABLEAU III

**Teneurs en glycérol pour différentes levures
en fonction du pH et de la température**

	pH	Glycérol g/l	
		20 °C	30 °C
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> V 11	2,9	3,8	5,6
	3,4	4,8	4,6
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> V 12	2,9	4,2	6,8
	3,4	4,5	6,5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MF 36	2,9	6,0	4,2
	3,4	5,0	4,3
<i>Saccharomyces heterogenicus</i> V 40	2,9	7,4	6,3
	3,4	5,4	7,1
<i>Saccharomyces chevalieri</i> DF 60	2,9	3,7	4,6
	3,4	3,6	5,6
<i>Saccharomyces bailii</i> DF 10	2,9	3,8	6,5
	3,4	6,7	7,1
<i>Saccharomyces capensis</i> DF 74	2,9	4,5	5,0
	3,4	5,5	6,2
<i>Saccharomyces rosei</i> DF 59	2,9	2,5	3,6
	3,4	3,7	4,0
<i>Saccharomyces ludwigii</i> DF 51	2,9	5,8	5,2
	3,4	5,3	6,4
<i>Torulopsis stellata</i> R 24	2,9	6,2	7,3
	3,4	7,1	8,1
<i>Hanseniaspora uvarum</i> DF 22	2,9	3,4	5,1
	3,4	4,0	7,0
<i>Hanseniaspora osmophila</i> DF 29	2,9	4,0	2,9
	3,4	5,4	—

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

Il est connu que la température de la fermentation joue un rôle important sur la qualité du vin blanc (RIBÉREAU-GAYON et al., 1976). Une température trop élevée favorise l'entraînement des substances volatiles par le gaz carbonique de la fermentation et influe sur le métabolisme levurien.

TABEAU IV

Variations des teneurs en alcools et en esters

Influence de la température

(Passage de 30 °C à 20 °C)

Les variations sont exprimées en p. 100

Substances dosées	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> moyenne des 3 souches		<i>Saccharomyces bailii</i>		<i>Hanseniaspora uvarum</i>	
	pH 2,9	pH 3,4	pH 2,9	pH 3,4	pH 2,9	pH 3,4
Ethanol	+ 6,5	— 2,0	+ 13,4	+ 15,7	+ 30	— 11
Propanol-1	+ 1	+ 11,2	— 16,2	— 4	+ 115	— 72
Méthyl-2 propanol-1	+ 12,5	— 10,3	— 15,8	— 58	+ 58,7	+ 8,4
Méthyl-2 butanol-1 + Méthyl-3 butanol-1	+ 31,5	+ 11,2	— 5,3	— 51,9	+ 56,2	+ 3,8
Phényl-2 éthanol	+ 15,3	— 13	+ 3,3	— 43,5	— 2,0	— 16,7
ALCOOLS SUPERIEURS	+ 21,4	+ 6,9	— 6,5	— 45,7	+ 43,3	— 26,2
Glycérol	— 15	— 7,2	— 41,5	— 5,6	— 33,3	— 42,8
Acétate d'éthyle	+ 23	+ 43,7	+ 17	+ 208	+ 109	+ 111
Acétate de méthyl-3 butyle + Acétate de phényl-2 éthyle	+ 122	+ 34,4	+ 34,8	+ 8,7	+ 132	+ 12,9
Hexanoate d'éthyle + Octanoate d'éthyle + Décanoate d'éthyle	+ 65,0	+ 11,5	— 29,8	+ 56,8	+ 17,2	— 13,3
ESTERS SUPERIEURS	+ 83,3	+ 38,5	— 3,7	+ 66	+ 50,0	— 13

TABEAU V

Variations des teneurs en alcools et en esters

Influence du pH

(Passage de pH 2,9 à pH 3,4)

Les variations sont exprimées en p. 100

Substances dosées	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> moyenne des 3 souches		<i>Saccharomyces bailii</i>		<i>Hanseniaspora uvarum</i>	
	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C	20 °C	30 °C
	Ethanol	— 3	+ 5,3	+ 4,3	+ 0,4	— 5
Propanol-1	+ 40,5	+ 27,6	+ 8,3	— 5,4	+ 25,8	+ 870
Méthyl-2 propanol-1	+ 12,9	+ 41,7	— 51	— 1,5	+ 16	+ 69,8
Méthyl-2 butanol-1 + Méthyl-2 butanol-1	+ 6,9	+ 26,4	— 43	+ 13	+ 31,2	+ 97,5
Phényl-2 éthanol	— 8,3	+ 21,8	— 83,9	— 0,5	— 7,2	— 15
ALCOOLS SUPERIEURS	+ 11,9	+ 27	— 39	+ 5	+ 13,2	+ 120
Glycérol	+ 2	— 7	+ 76	+ 9,2	+ 17,6	+ 37
Acétate d'éthyle	+ 20	+ 2	+ 99	— 24,4	— 14,7	— 15,6
Acétate de méthyl-3 butyle + Acétate de phényl-2 éthyle	+ 4,5	+ 73	+ 61,3	+ 100	+ 6,5	+ 118
Hexanoate d'éthyle + Octanoate d'éthyle + Décanoate d'éthyle	+ 15	+ 28	+ 142	+ 8,5	— 36,7	+ 31
ESTERS SUPERIEURS	+ 9	+ 44,4	+ 119	+ 27	— 8,6	+ 57,9

L'abaissement de la température de 30 °C à 20 °C entraîne un accroissement de la formation de substances volatiles ; par contre, le glycérol diminue dans tous les cas (tableau IV).

Ethanol. La formation de l'éthanol est favorisée par l'abaissement de la température en pourcentages très variables selon la levure et le pH du milieu.

Alcools supérieurs. Les levures testées, à l'exception de *S. bailii*, synthétisent plus d'alcools supérieurs à 20 °C qu'à 30 °C, bien que le méthyl-2 propanol-1 soit pratiquement toujours présent en quantités plus élevées à 30 °C.

S. cerevisiae et *H'spora uvarum* synthétisent des quantités d'alcools supérieurs les plus importantes à 20 °C à pH 2,9. Par contre, à pH 3,4 cette augmentation est négligeable pour *S. cerevisia* ; pour les autres levures c'est une diminution qui est enregistrée.

Pour *S. bailii*, la synthèse des alcools supérieurs n'est pas favorisée par la diminution de la température il se forme plus d'alcools supérieurs à 30 °C qu'à 20 °C. RIBÉREAU-GAYON et *al.*, (1975) font une observation analogue.

PEYNAUD et GUIMBERTEAU (1962) observent que la température optimum pour la formation des alcools isoamyliques (méthyl-2 butanol-1, méthyl-3 butanol-1) et du méthyl-2 propanol-1, étudiés individuellement, est située à 20 °C, ce qui est en accord avec nos résultats concernant *S. cerevisiae* et *H'spora uvarum* ; *S. bailii* constitue une exception.

Enfin, les résultats sur les alcools isoamyliques sont en accord avec ceux de OUGH et AMERINE (1967) et BERTRAND (1975).

Glycérol. Le glycérol est la seule substance dosée pour laquelle, dans tous les cas, l'abaissement de la température de 30 °C à 20 °C entraîne une diminution des quantités formées de 7 à 40 p. 100 suivant les espèces de levures et le pH.

Acétate d'éthyle. Dans tous les cas nous constatons que l'acétate d'éthyle se forme en teneurs plus élevées à 20 °C qu'à 30 °C, l'incidence de la température étant plus forte sur les levures peu alcoogènes. Toutefois dans tous les cas les teneurs restent faibles.

De manière analogue, DAUDT et OUGH (1973 a et 1973 b) observent une forte diminution de la production d'acétate d'éthyle pour plusieurs levures fermentant à 32 °C par rapport à 15 °C.

Les résultats confirment les données obtenues par l'un de nous (BERTRAND, 1975) qui observe, que la température optimum pour la formation d'acétate d'éthyle est 25 °C ; les teneurs enregistrées à 15 °C étant plus élevées que celles obtenues à 35 °C.

Esters supérieurs. Pratiquement toutes les souches de levures, et quelque soit le pH, ont un pouvoir estérogène plus élevé à 20 °C qu'à 30 °C.

Pour les esters supérieurs, des différences enregistrées dans cette étude, en fonction de la souche de levures et des conditions de fermentation, varient de 5 à 8 mg/l pour les levures alcoogènes, de 1 à 2 mg/l pour les levures moyennement alcoogènes et de 0,5 à 1 mg/l pour les levures peu alcoogènes.

Pour étudier les variations de ces esters plus en détail, nous avons regroupé d'une part, les acétates de méthyl-3 butyle et de phényl-2 éthyle et d'autre part, les esters éthyliques d'acides gras à 6,8 et 10 atomes de carbone. La somme de ces esters, de l'acétate d'hexyle et du succinate de diéthyle est appelée « esters supérieurs totaux ».

D'une manière générale, l'abaissement de la température du fermentation favorise la synthèse des esters supérieurs. Cette augmentation est plus importante à pH 2,9 qu'à pH 3,4 pour *S. cerevisiae* et *H'spora uvarum*, on observe l'inverse pour *S. baillii*.

Plus particulièrement, la formation des acétates de méthyl-3 butyle et de phényl-2 éthyle est accrue pour les trois levures quel que soit le pH mais, à l'inverse de l'acétate d'éthyle, les augmentations les plus importantes sont observées à pH 2,9.

En ce qui concerne, les esters éthyliques d'acides gras on constate que leur synthèse est favorisée par l'abaissement de la température quel que soit le pH seulement pour *S. cerevisiae*. Pour *H'spora uvarum* et *S. baillii* les variations observées sont très dépendantes de l'acidité du milieu (synthèse accrue à pH 2,9 pour *H'spora uvarum* et à pH 3,4 pour *S. baillii*).

D'après OUGH et AMERINE (1967) la quantité d'esters totaux est plus élevée à 21 °C qu'à 32 °C, ce qui est confirmé par la plupart de nos résultats ; de même DAUDT et OUGH (1973 a et 1973 b), montrent que la synthèse d'acétate de méthyl-3 butyle est plus grande à 21 °C qu'à 32 °C.

En conclusion, l'abaissement de la température de fermentation est d'autant plus efficace sur la formation des produits volatils que le pH du milieu est bas.

INFLUENCE DU pH

De même que pour l'abaissement de la température de fermentation, nous avons recherché l'incidence de la diminution de l'acidité (passage de pH 2,9 à pH 3,4) à deux températures (20 °C et 30 °C), sur la formation des produits secondaires formés par *S. cerevisiae*, *S. baillii* et *H'spora uvarum*.

D'une manière générale, nous constatons que l'augmentation du pH de 2,9 à 3,4 entraîne un accroissement des teneurs en alcools. Cet accroissement

est plus sensible à 30 °C qu'à 20 °C. En ce qui concerne les esters, les levures les plus alcoogènes synthétisent des quantités d'acétate d'éthyle et d'esters supérieurs plus élevées à pH 3,4 qu'à pH 2,9 ; par contre, l'inverse est observé pour les levures les moins alcoogènes qui forment plus d'esters à pH 2,9.

Ethanol. La diminution de l'acidité a un effet plutôt positif sur la formation de l'éthanol, surtout à 30 °C. Cependant, même si les écarts enregistrés peuvent atteindre 40 p. 100, ils restent beaucoup plus faibles que pour les autres substances.

Alcools supérieurs. A l'exception de *S. bailii* pour laquelle on enregistre une diminution à 20 °C, la synthèse des alcools supérieurs considérés dans leur ensemble, est accrue par l'abaissement de l'acidité de pH 2,9 à 3,4. Ces augmentations varient suivant les espèces levuriennes et les conditions de fermentation de 5 à 120 p. 100.

Pour *S. cerevisiae* et *H'spora uvarum*, chacun des alcools supérieurs à l'exception du phényl-2 éthanol augmente lorsque le pH croît quelle que soit la température. Pour *S. bailii* les variations individuelles de chaque alcool dépendent beaucoup de la température.

L'augmentation des teneurs en alcools supérieurs peut être expliquée par une meilleure croissance des levures à un pH plus proche de celui existant à l'intérieur des cellules (pH 5) ; en effet, PARFAIT et al. (1972) ont montré que la formation de ces substances dépend de la croissance levurienne et nous avons observé que la masse cellulaire de levures est plus importante à pH 3,4 qu'à pH 2,9. Par ailleurs, PEYNAUD et GUIMBERTEAU (1962) ont constaté que la formation d'alcools supérieurs est minimum à pH 2,6 et augmente jusqu'à pH 4,5.

Glycérol. L'augmentation du pH entraîne un accroissement des teneurs en glycérol surtout pour *S. bailii* et *H'spora uvarum* (de 17 à 76 p. 100). Pour *S. cerevisia* l'influence du pH sur la synthèse du glycérol est pratiquement nulle.

Acétate d'éthyle. La diminution d'acidité du milieu entraîne une légère augmentation de la synthèse de l'acétate d'éthyle par *S. cerevisiae*, une diminution pour *H'spora* et, pour *S. bailii*, une augmentation à 20 °C et une diminution à 30 °C.

Esters supérieurs. A l'exception de *H' spora uvarum* à 20 °C l'augmentation du pH entraîne un accroissement de la synthèse en esters supérieurs, surtout à 30 °C, cette augmentation atteint en moyenne 50 p. 100.

Ce sont, parmi toutes les substances étudiées, les acétates de méthyl-3 butyle et de phényl-2 éthyle qui globalement augmentent le plus, lorsque l'acidité du milieu diminue (les teneurs sont doublées à 30 °C).

En ce qui concerne les esters éthyliques d'acides gras, les variations en fonction du pH sont plus faibles que pour les autres esters ; elles dépendent peu de la température pour *S. cerevisiae* mais, par contre, beaucoup pour *S. bailii* et *H'spora uvarum*.

Bien que nous n'ayons pas trouvé de travaux concernant l'influence du pH sur la synthèse des esters supérieurs par les levures, on peut considérer que nos résultats peuvent s'expliquer, tout comme pour les alcools supérieurs, par une plus grande multiplication des cellules à pH élevé, la formation des esters étant liée à la synthèse lipidique ; par ailleurs, les teneurs en alcools supérieurs sont plus élevées dans ces conditions et permettent une formation plus importante des acétates de ces alcools (RAINBOW, 1970).

En conclusion, l'abaissement de l'acidité de pH 2,9 à pH 3,4 augmente la synthèse par les levures de très nombreuses substances surtout à 30 °C pour *S. cerevisiae* et *H'spora uvarum*. Pour *S. bailii* cette variation de pH a une grande incidence surtout à 20 °C.

Ces résultats sembleraient indiquer que dans le cas d'une vinification en blanc si une désacidification doit être effectuée elle doit l'être avant le départ de la fermentation.

CONCLUSIONS

L'étude des produits volatils formés par 12 souches de levures, fermentant à température de 20 °C et 30 °C d'une part, à pH 2,9 et 3,4 d'autre part, nous permet de tirer les conclusions suivantes :

— les conditions de milieu (température et acidité) ont fréquemment une incidence sur la formation de produits volatils de la fermentation plus grande que celle des souches de levures d'un pouvoir alcoogène voisin même si elles appartiennent à des espèces différentes.

— les écarts enregistrés dans les concentrations des différents produits secondaires étudiés, en fonction des conditions de la fermentation sont d'une amplitude plus grande que celles du degré alcoolique.

— la plupart des substances volatiles sont synthétisées en quantités maximales pour les levures alcoogènes à 20 °C et pH 3,4, moyennes à 20 °C et pH 2,9 ou 30 °C et pH 3,4 minimales à 30 °C et pH 2,9 (conjonction d'un bas pH et d'une température élevée).

Les levures moyennement alcoogènes ou peu alcoogènes forment également le plus de produits secondaires à pH élevé mais, par contre, cette synthèse semble favorisée par une température de fermentation assez haute (30 °C).

Une faible acidité du milieu (pH 3,4) et une température de fermentation peu élevée (20 °C) favorisent la formation des substances volatiles.

Manuscrit reçu le 15 octobre 1979.

RESUME

L'étude des produits volatils formés par 12 souches de levures fermentant dans des conditions de température et d'acidité différentes montre que leur synthèse, à l'exception du glycérol, est favorisée à 20 °C par rapport à 30 °C et à pH 3,4 par rapport à pH 2,9.

SUMMARY

The study of volatile compounds formed by 12 different yeasts strains fermenting in different conditions of temperature and acidity, shows that their synthesis, except glycerol, is enhanced at 20 °C referring to 30 °C and at pH 3,4 referring to pH 2,9.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchung flüchtiger Stoffe, produziert von zwölf bei verschiedenen Temperaturen und Säuregraden vergärenden Hefen zeigt das ihre Synthese (mit Ausnahme von Glycerol) bevorzugt bei 20 °C und einem pH-Wert von 3,4 (Gegenüber 30 °C und pH-Wert von 2,9) stattfindet.

RESUMEN

En estudio de los productos volatiles formados por 12 variedades de levaduras que han fermentado en condiciones de temperatura y acidez diferentes demuestra que su síntesis, a excepción de la glicerina, es más favorizada a 20 °C que a 30 °C y, de la misma manera, a pH 3,4 que a pH 2,9.

RIASSUNTO

Lo studio dei prodotti volatili formati da dodici specie di lieviti che fermentano in condizioni di temperatura e di acidità diverse delle loro sintesi, a eccezione del glicerolo, è favorito a 20 °C rispetto a 30 °C, ed a pH 3,4 rispetto a pH 2,9.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERTRAND A., 1975. Recherches sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse. *Thèse Doctorat ès Sciences*, Université de Bordeaux II.
- DAUDT C.E. et OUGH C.S., 1973. A method for quantitative measurement of volatile acetate esters from wine. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **24**, N° 3, 125-129.
- DAUDT C.E. et OUGH C.S., 1973. Variations in some volatile acetate esters formed during grape juice fermentation. Effects of fermentation temperature, SO₂, Yeast strain and grape variety. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **24**, N° 3, 130-135.
- DEVÈZE M., 1977. Les problèmes microbiologiques de la conservation des vins blancs doux. Théorie et pratique de l'utilisation des traitements thermiques. *Thèse de Docteur-Ingénieur*, Université de Bordeaux II.

- OUGH C.S. et AMERINE M.A., 1967. Studies with controlled fermentation. X-Effect of fermentation temperature on some volatile compounds in wines. *Amer. J. Enol. Vitic.*, **18**, N° 2, 157-164.
- PARFAIT A., NAMORY M. et DUBOIS P., 1972. Les esters éthyliques des acides gras supérieurs des rhums. *Ann. Technol. Agric.*, **21**, N° 2, 199-210.
- PEYNAUD E. et GUIMBERTEAU G., 1962. Sur la formation des alcools supérieurs par les levures de vinification. *Ann. Technol. Agric.*, **11**, N° 2, 85-105.
- RAINBOW C., 1970. Brewer's yeasts in the *YEASTS*, vol. 3. *Academic Press*, London.
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1972. Sciences et Technique du vin, Tome I, Dunod éd., Paris.
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., RIBÉREAU-GAYON P. et SUDRAUD P., 1975, Sciences et Techniques du vin, Tome II, Dunod éd., Paris.
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., RIBÉREAU-GAYON P. et SUDRAUD P., 1976. Sciences et Techniques du vin, Tome III. Dunod éd., Paris.
- SOUFLEROS E., 1978. Les levures de la région viticole de Naoussa (Grèce). Identification et classification, étude des produits volatils formés au cours de la fermentation. *Thèse de Docteur-Ingénieur*, Université de Bordeaux II.
- SOUFLEROS E. et BERTRAND A., 1979. Rôle de la « souche de levure » dans la production des substances volatiles au cours de la fermentation. *Connaissance Vigne Vin*, **13**, N° 2, 181-198.
- SOUFLEROS E., PANERAS E. et SAPIS-DOMERC S., 1979. Etude écologique de la microflore levurienne de la région vinicole de Naoussa (Grèce du Nord). *Connaissance Vigne Vin*, **13**, N° 2, 137-148.

