Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1993, **27**, N° 4, 277-298

INFLUENCE DES CONDITIONS D'ÉLEVAGE ET DE SULFITAGE DES VINS ROUGES EN BARRIQUES SUR LEUR TENEUR EN ACIDE ACÉTIQUE ET EN ETHYL-PHENOLS

CHATONNET P.*, BOIDRON J.N. et DUBOURDIEU D.
avec la collaboration technique de Monique PONS

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

Résumé : *L'élevage des vins rouges en barriques peut présenter certains risques microbiologiques lorsqu'il n'est pas correctement maîtrisé. L'augmentation de la teneur du vin en acide acétique liée au développement de bactéries acétiques aérobies est facilement inhibée par le respect de règles élémentaires. En revanche, l'hydrolyse des groupements acétyles des hémicelluloses du bois de chêne conduit systématiquement à une faible augmentation de l'acidité volatile des vins conservés en barriques neuves . Ce phénomène devient négligeable avec le bois usagé lorsque l'élevage est bien contrôlé. Le développement de levures de contamination du genre Brettanomyces/Dekkera, produisant des teneurs élevées en éthyl-phénols entre le début de l'été et la fin de l'automne, est plus difficile à maîtriser. Seul le maintien d'une teneur suffisante en anhydride sulfureux tout au long de leur élevage permet d'empêcher la multiplication de ces micro-organismes dans les vins rouges.*

En plus de la dose, les conditions de sulfitage des vins et des barriques sont également importantes. L'apport d'une quantité de SO_2 non inférieure à 7 g par fût sous forme gazeuse dans un fût vide permet simultanément la désinfection des douelles et le sulfitage des vins. A dosage identique, avec un sulfitage direct du vin, le développement de Brettanomyces intermedius n'est pas inhibé et les vins risquent de présenter un caractère phénolé désagréable en fin d'élevage. Par ailleurs, les sulfitages à la mèche ou à la pastille ne possèdent pas la même efficacité. Si à quantité de soufre identique le méchage à la pastille procure un sulfitage presque deux fois plus important, selon l'origine et les méthodes de fabrication employées, les pastilles de soufre possèdent une stabilité au vieillissement variable se traduisant par des sulfitages irréguliers en fonction de leur âge et de leurs conditions de stockage. La présence d'une charge non combustible hygroscopique entrant dans la composition de certaines pastilles de soufre est responsable de cette instabilité.

INTRODUCTION

L'élevage des vins rouges en fûts a toujours fait partie de la tradition des grandes régions viticoles. L'intérêt de cette technique pour la clarification, le dégazage et la stabilisation des composés phénoliques des vins rouges est bien connue (PONTALLIER, 1981).

*chercheur de la Tonnellerie SEGUIN-MOREAU (F-16103 Cognac)

En effet, la conservation en fûts de chêne fendu est caractérisée par une pénétration d'oxygène continue et une oxydation lente des composés phénoliques, réaction indispensable à l'intensification et à la stabilisation de la couleur des vins rouges (GLORIES, 1987). La barrique intervient dans ces phénomènes par sa structure perméable aux gaz en raison d'un grand nombre de joints non collés entre chaque douelle et d'un large trou de bonde (RIBÉREAU-GAYON, 1949). Le bois agit également par sa texture relativement poreuse (FEUILLAT, 1991), mais aussi par la présence dans sa masse de catalyseurs d'oxydation sous la forme des tanins hydrolysables et de leurs produits de dégradation (CHATONNET, 1991 ; MOUTOUNET et *al.*, 1993).

Néanmoins, la conservation des vins sous bois ne présente pas que des avantages. Un élevage en fût mal maîtrisé peut conduire à des altérations, notamment microbiologiques, plus ou moins préjudiciables à la qualité du vin. La structure poreuse du bois, intéressante pour l'oxydation ménagée, représente aussi un de ses principaux inconvénients. En effet, elle constitue un abri idéal pour de nombreux micro-organismes dont l'élimination complète par le lavage des fûts est tout à fait illusoire. Par ailleurs, une barrique bordelaise de 225 l emprisonne dans sa masse 5 à 6 l de vin qui offrent aux micro-organismes des conditions très favorables de développement lorsque les fûts sont conservés vides (RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975 a).

Les bactéries acétiques posent aujourd'hui relativement peu de problèmes car il est facile d'empêcher leur prolifération (RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975 b). Il n'en est pas tout à fait de même en ce qui concerne certaines levures de contamination du genre *Brettanomyces/ Dekkera* identifiées dans les vins pour la première fois par AGOSTINI (1950). Ces micro-organismes possèdent une résistance au SO_2 plus élevée que celle des bactéries (FROUDIÈRE et LARUE, 1990) et se développent en formant des quantités élevées d'éthyl-phénols dans des vins ayant normalement achevé leurs processus fermentaires (CHATONNET et *al.*, 1992). Ces composés communiquent aux vins rouges une odeur phénolique et animale, rapidement désagréable, que nous avons qualifiée de caractère phénolé des vins rouges, lorsque un seuil limite voisin de 425 µg/l (éthyl-4-gaïacol + éthyl-4-phénol 1/10) est dépassé (CHATONNET et *al.*, 1989, 1992).

Le respect d'une hygiène élémentaire, un suivi régulier de la futaille et l'utilisation raisonnée de l'anhydride sulfureux doivent permettre le contrôle du développement de ces germes d'altération. A cette fin, le maître de chai dispose de plusieurs méthodes et de différents produits pour sulfiter les vins et la futaille.

Dans ce travail, nous étudions l'influence des conditions d'élevage et de sulfitage des vins rouges conservés en barriques sur le développement des bactéries acétiques et des levures de contamination du genre *Brettanomyces/Dekkera*. Nous analysons certaines caractéristiques physiques des mèches et des pastilles de soufre couramment utilisées dans la pratique. Nous précisons enfin l'influence et les limites de certaines techniques de sulfitage vis-à-vis des altérations microbiologiques des vins rouges.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I — ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DES VINS

L'acide acétique, l'acétate d'éthyle et l'anhydride sulfureux des vins sont dosés à l'aide des méthodes classiques recommandées par l'O.I.V. Les phénols volatils sont dosés par chromatographie en phase gazeuse dans les conditions précèdemment décrites (CHATONNET et BOIDRON, 1988).

II — ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Les levures totales sont cultivées et dénombrées après filtration sur membrane ou culture en inclusion sur un milieu YPG solide (glucose : 20 g, yeast-extract : 20 g, néo-peptone : 20 g, agar : 20 g, H_20 qsp 1000 ml, pH 4,5).

Les levures du genre *Brettanomyces/Dekkera* sont dénombrées sélectivement grâce au milieu de culture spécifique décrit par CHATONNET et *al.* (1992).

L'identification des levures est réalisée grâce aux tests d'assimilation et de fermentation classiques sur galeries API 20C et API 50 CHL (API Système, LA-BALME-LES-GROTTES).

III — APPRÉCIATION DE LA MOUILLABILITÉ DES SURFACES DES PASTILLES ET MÈCHES DE SOUFRE

Diverses interprétations des phénomènes de mouillabilité ont donné naissance à plusieurs méthodes de détermination de l'énergie de surface. La relation fondamentale qui décrit la forme d'une goutte de liquide sur la surface d'un solide repose sur le modèle très ancien de YOUNG s'écrivant :

$$\gamma_{GL} \cos \theta = \gamma_{SG} - \gamma_{SL}$$

avec
- γ_{SG} : tension superficielle à l'interface solide-gaz
- γ_{GL} : tension superficielle à l'interface gaz-liquide
- γ_{SL} : tension superficielle à l'interface solide-liquide
- θ : angle de raccordement de la goutte liquide sur la surface solide.

La technique originale de mesure que nous avons utilisée dérive directement des travaux sur l'appréciation de la tension superficielle par mesure des angles de contact de liquides déposés sur une surface solide (ADAM, 1941). Dans une chambre climatisée (20°C ± 1) on dépose, à l'aide d'une seringue graduée, 0,5 µl d'eau distillée sur la surface à étudier. Après 30 secondes d'équilibrage, le plan de raccordement existant entre la goutte de liquide et la surface est observée à 90° grâce à un microscope (grossissement 60) et à une source de lumière froide produisant un éclairage diffus. L'image obtenue, transmise par une caméra vidéo CCD à un écran monochrome et à un système de mesure angulaire sans contact (TECHNICOME), permet d'apprécier l'angle de raccordement θ à ± 0,05° (photo 1). On effectue la moyenne de 5 mesures successives à différents endroits de la surface à étudier.

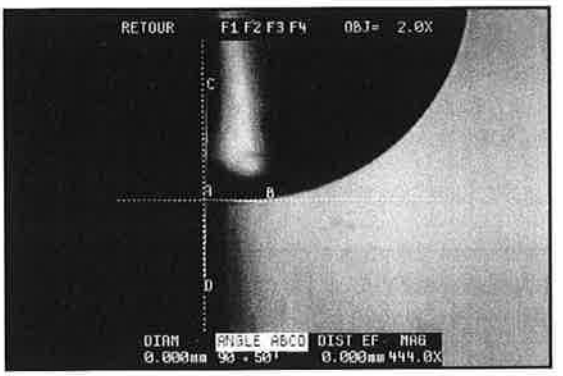


Photo 1 — Appréciation de la mouillabilité des surfaces par la technique de la goutte posée. Mesure vidéo-optique de l'angle de contact θ.

IV — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE ET SPECTROMÉTRIE D'ÉMISSION X

Les objets à étudier sont analysés sans préparation particulière par spectrométrie d'émission X à la micro-sonde électronique. Les spectres d'émission X sont obtenus par excitation électronique dans un microscope électronique à balayage JEOL 840 A. L'analyse qualitative est effectuée par simple balayage d'énergie.

L'identification des éléments sur les spectres X est effectuée par recherche automatique de plusieurs raies caractéristiques des éléments (TRACOREX TN 2000). Pour être observés en microscopie électronique à balayage, les mêmes échantillons sont préalablement métallisés sous vide par le mélange or-palladium puis recouverts de carbone.

RÉSULTATS

I — INCIDENCE DES CONDITIONS D'ÉLEVAGE SUR LA TENEUR DES VINS EN ACIDE ACÉTIQUE ET EN ÉTHYL-PHÉNOLS

On compare l'évolution de la composition d'un même lot de vin rouge en acide acétique et en éthyl-phénols au cours de son élevage en cuve ou en barriques, placées bonde de côté, soutirées et méchées (mèche de soufre) régulièrement tous les 3 mois, avec homogénéisation de chaque lot en cuve à chaque soutirage.

Par rapport au même vin conservé en cuve ou en fûts usagés (tableau I), les vins conservés en fûts neufs possèdent une teneur en acide acétique plus élevée se traduisant par

Par rapport au même vin conservé en cuve ou en fûts usagés (tableau I), les vins conservés en fûts neufs possèdent une teneur en acide acétique plus élevée se traduisant par une acidité volatile légèrement plus importante (+ 0,1 à + 0,15 g/l exprimée en H_2SO_4) tandis que les teneurs en acétate d'éthyle sont identiques. Après élimination de la couche superficielle des douelles usagées (grattage sur 1,5 mm au plus), on constate une légère augmentation de la teneur en acide acétique des vins (+ 37 mg/l).

Le dosage de l'acide acétique libre et estérifié (après saponification) présent dans du bois neuf brûlé ou dans des douelles de fûts usagés à différentes profondeurs permet de montrer que la grande majorité de l'acide acétique du bois de chêne n'est pas à l'état libre mais sous formes d'esters (figure 1). En effet, les xylanes du bois des essences feuillues sont fortement acétylés puisqu'ils peuvent porter jusqu'à 7 résidus acétyles pour 10 restes de xylose (JOSELEAU, 1980).

Le bois usagé possède une teneur en groupements acétyles plus faible que le bois neuf. Le gradient observable en fonction de la profondeur dans une douelle usagée laisse bien penser à une hydrolyse progressive libérant peu à peu de l'acide acétique dans le vin. Cette augmentation ne dépasse pas 180 à 200 mg/l/an (soit environ 0,15 g/l H_2SO_4) et n'affecte en rien la qualité des vins dont l'acidité volatile à l'entonnage est suffisament basse ($\leq$ 0,4 g/l H_2SO_4 soit < 735 mg/l d'acide acétique).

Les teneurs en éthyl-phénols des vins augmentent au cours de l'élevage en barrique et ce d'autant plus que la futaille utilisée est âgée (tableau I). Le seuil limite de préférence est juste atteint dans le cas des barriques neuves et largement dépassé avec les barriques usagées ; les vins élevés dans ces conditions possèdent alors un caractère phénolé nettement perceptible. L'élimination de la couche superficielle des douelles dans les barriques usagées affecte faiblement la teneur en éthyl-phénols des vins.

TABLEAU I

Teneur en acide acétique et en éthyl-phénols d'un vin rouge élevé dans différentes conditions (après 12 mois d'élevage bonde de côté, assemblage de 83 fûts pour chaque condition)

Conditions d'élevage	Acide acétique (mg/l)	Acétate d'éthyle (mg/l)	Σ éthyl-phénols* (µg/l)
Cuve béton	526	44	37
Barriques neuves			
chauffe moyenne	637	46	496
chauffe forte	686	48	550
Barriques usagées (> 5 vins)			
brutes	526	39	1285
regrattées	563	46	1230

* éthyl-4-gaïacol + éthyl-4-phénol

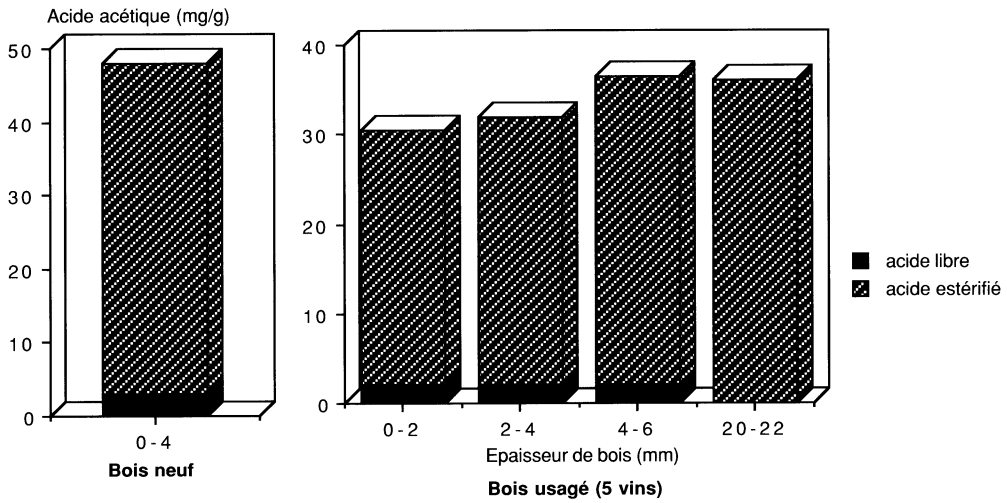


Fig. 1 — Teneur en acide acétique libre et estérifié du bois de chêne neuf ou usagé

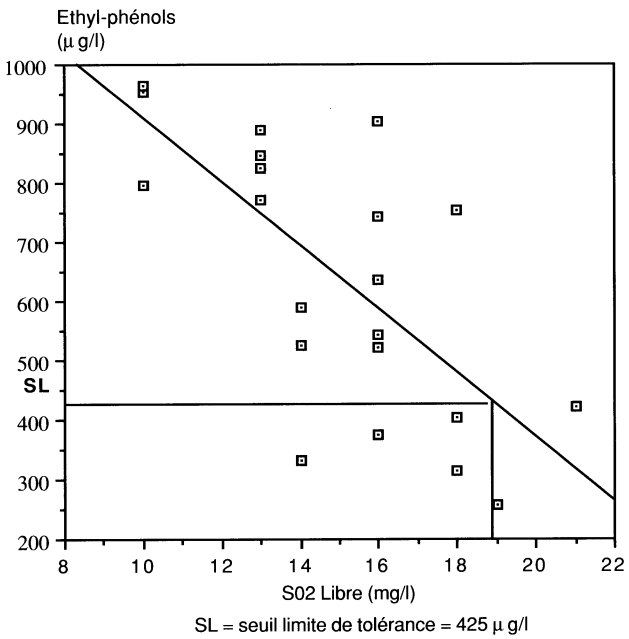


Fig. 2 — Teneur en SO_2 libre et en éthyl-phénols de différentes barriques d'un même chai après 9 mois d'élevage en fût (3 mois après le 2e soutirage)

II — INCIDENCE DE L'ANHYDRIDE SULFUREUX SUR LES TENEURS EN ÉTHYL-PHÉNOLS DES VINS

Un même lot de vin rouge conservé en barriques de 1 an dans un même chai est analysé 3 mois après son troisième soutirage (juillet, barriques bonde de côté). On constate que la concentration en éthyl-phénols de différentes barriques est d'autant moins élevée que la teneur des vins en anhydride sulfureux (SO_2) est importante (figure 2) ; la concentration en acide acétique est identique dans tous les cas (465 mg/l). Dans les conditions particulières de ce chai, tous les vins ayant une teneur en SO_2 libre supérieure à 18 mg/l au moment du soutirage de fin d'été (fin septembre), possèdent une teneur en éthyl-phénols inférieure au seuil limite de tolérance (425 µg/l) et ne présentent par conséquent aucun caractère phénolé.

Dans une seconde expérience, nous avons étudié l'influence de la teneur en anhydride sulfureux libre dans le vin au moment de l'entonnage au cours du soutirage précédent l'été. Différentes doses de SO_2 (35, 30, 20 et 15 mg/l) sont ajoutées à plusieurs lots de barriques usagées. Les barriques sont simplement rincées et les vins sont sulfités dans les fûts à l'aide de solution sulfureuse.

TABLEAU II

Incidences de la teneur en SO_2 à l'entonnage sur le développement de *Brettanomyces/Dekkera sp.* et sur la formation d'éthyl-phénols (sulfitage des vins à l'aide de solution sulfureuse, conservation en fûts usagés, bonde de côté) vin rouge pH 3,65

SO_2 libre initial	Paramètres mesurés	Temps d'élevage (mois)		
		0 Juillet	3 Septembre	4,5 Novembre
35 mg/l	SO_2 libre (mg/l) *Brettanomyces* (cellules/ml) Augmentation relative des éthyl-phénols (%)	35 1 0	20 0 0	15 0 0
30 mg/l	SO_2 libre (mg/l) *Brettanomyces* (cellules/ml) Augmentation relative des éthyl-phénols (%)	30 1 0	19 0 0	10 1 0
25 mg/l	SO_2 libre (mg/l) *Brettanomyces* (cellules/ml) Augmentation relative des éthyl-phénols (%)	23 2 0	16 0 0	11 0 0
15 mg/l	SO_2 libre (mg/l) *Brettanomyces* (cellules/ml) Augmentation relative des éthyl-phénols (%)	13 6 0	10 510 4	6 1200 120

Après 4 mois et demi de conservation bonde de côté (tableau II), on constate que les populations de levures *Brettanomyces intermedius*, qui étaient faibles à l'origine, n'ont augmenté que dans le cas d'un sulfitage à l'entonnage inférieur à 20 mg/l. Dans ces conditions, à partir de 3 mois d'élevage, on observe une multiplication importante de ces micro-organismes qui se traduit après 4 mois et demi par une augmentation importante de la teneur en éthyl-phénols.

III — INFLUENCE DES CONDITIONS DE SULFITAGE SUR LE DÉVELOPPEMENT DE *BRETTANOMYCES/DEKKERA*

Dans une première expérience, nous comparons les teneurs en éthyl-phénols d'un même lot de vin rouge élevé en fûts neufs ou usagés (1 an et 2 ans) soutirés tous les 3 mois, conservés bonde dessus (avec ouillage hebdomadaire) ou de côté et sulfités par ajout de solution sulfureuse directement dans le vin ou par méchage des fûts (à la pastille) à chaque soutirage. Après 6 mois, on constate (tableau III) que la teneur en phénols volatils des vins issus des fûts non méchés est toujours beaucoup plus élevée quel que soit leur âge ou la position des bondes.

Dans une seconde expérience, nous avons étudié différentes modalités de sulfitage en se plaçant à un niveau de SO_2 moyen (15 à 20 mg/l de SO_2 libre), niveau susceptible comme nous l'avons vu plus haut de poser certains problèmes de stabilité vis-à-vis du développement de *Brettanomyces*. Dans un premier lot, on compare le sulfitage par ajout d'anhydride sulfureux sous forme gazeuse dans les fûts par « méchage » à la mèche, à la pastille de soufre ou bien par détente de SO_2 liquéfié ; le vin est entonné 15 minutes après sulfitage du fût.

TABLEAU III

Influence du mode d'élevage et des conditions de sulfitage sur la teneur en éthyl-phénols d'un vin rouge. Analyses après 6 mois d'élevage lors du deuxième soutirage en juillet, vin rouge pH 3,5

Barriques utilisées	Mode de sulfitage	Position de la bonde	SO_2 Libre au soutirage (mg/l)	Σ éthyl-phénols (µg/l)	Caractère phénolé* (0-5)
Neuves	méchage	dessus	14	556	1
	solution	dessus	12	975	4
1 an	méchage	de côté	18	103	0
	solution	de côté	16	1432	5
2 ans	méchage	dessus	28	89	0
	méchage	de côté	24	331	0
	solution	de côté	18	1291	5

*apprécié par dégustation

TABLEAU IV

Incidence des modalités de sulfitage des vins élevés en barriques sur le développement de levures *Brettanomyces* et sur la teneur en éthyl-phénols (vin rouge pH 3,65 ; SO_2 initial visé : 20 mg/l ; $S0_2$ libre avant entonnage = 5 mg/l)

Conditions de sulfitage des vins	SO_2 théorique dans le fût (g)	SO_2 libre initial (mg/l)	SO_2 libre final (mg/l)	Population *Brettanomyces* (cellules/ml)	*Brettanomyces*/ levures totales (%)	Teneur finale éthyl-phénols (µg/l)	Augmention éthyl-phénols (%)
Méchage							
Pastille 7,5 g	10,5	22	13	1	24	293	0
Pastille 5 g	7	18	10	0	0	230	0
Mèche 5 g	5,5	16	9	3220	85	1077	278
Sulfidoseur 5 g	5	16	8	1480	54	587	106
Sulfitage direct du vin							
Solution sulfureuse	0	13	6	1200	80	628	120
Sulfidoseur	0	14	6	160	65	288	0
Méchage et attente avant entonnage							
Pastille 5 g ; 30'	7	16	8	0	-	260	0
Pastille 5 g ; 45'	7	16	8	0	-	263	0
Pastille 5 g ; 60'	7	18	10	0	-	262	0
Pastille 10 g, rincage, sulfitage/solution	14 puis 0	14	5	1400	-	1183	315

Population initiale de *Brettanomyces* = 6 cellules/ml ; teneur initiale en éthyl-phénols = 285 µg/l

Dans un second lot, le sulfitage est effectué directement dans le vin (solution sulfureuse ou gaz liquéfié). Dans un troisième et dernier lot, le sulfitage est effectué par « méchage » à la pastille de soufre (5 g) et entonnage différé de 30, 45 ou 60 minutes, ou encore après méchage à 10 g, rinçage à l'eau après 10 minutes et sulfitage du vin à la solution après entonnage.

Le SO_2 théoriquement formé après combustion selon les différentes modalités de méchage est calculé d'après les rendements établis sur fûts humides ou égouttés par J. RIBÉREAU-GAYON (1949). Après 4 mois et demi d'élevage, l'évolution des populations de *Brettanomyces/Dekkera,* de la teneur en éthyl-phénols et du SO_2 libre des vins est mesurée.

On constate (tableau IV) que selon les conditions de sulfitage, les levures de contamination se sont plus ou moins développées en formant des quantités variables de phénols volatils. *Brettanomyces/Dekkera* représente 54 à 98 p. cent des levures totales, *Saccharomyces cerevisae* et *Saccharomyces bayanus* sont les autres levures majoritaires mais on identifie parfois dans certains échantillons *Pichia vini* et *Candida valida.* Dans le lot de fûts sulfités par méchage et entonnage rapide, les fûts dosés à moins de 7 g de $S0_2$ dans la barrique (31 mg/l d'air) ont tous donné lieu à un développement de *Brettanomyces* et à un enrichissement important en éthyl-phénols. L'altération est intervenue entre septembre et novembre, lorsque la teneur en SO_2 libre est devenue suffisamment faible pour autoriser une multiplication des levures (tableau V).

TABLEAU V

Développement de *Brettanomyces* en fonction des conditions de sulfitage (vin rouge, pH 3,65, barriques usagées bonde de côté, soutirage le 13/07)

Conditions de sulfitage	Paramètres mesurés	Juillet (t = 0)	Septembre (t = 3)	Novembre (t = 4,5)
Méchage à la pastille 7,5 g	SO_2 libre (mg/l)	22	16	13
	Brettanomyces (cellules/ml)	6	0	1
	Σ éthyl-phénols (µg/l)	285	285	293
Méchage à la pastille 5 g	SO_2 libre (mg/l)	14	11	8
	Brettanomyces (cellules/ml)	6	0	0
	Σ éthyl-phénols (µg/l)	285	285	288
Sulfitage direct à la solution sulfureuse	SO_2 libre (mg/l)	13	10	6
	Brettanomyces (cellules/ml)	6	510	1200
	Σ éthyl-phénols (µg/l)	285	296	652

t : temps d'élevage en mois

Dans le lot de fûts non méchés contenant des vins directement sulfités, on observe après 4 mois et demi d'élevage que les vins sulfités à la solution sulfureuse sont altérés tandis que ceux sulfités par le sulfidoseur ne le sont pas.

Cependant, on note dans ces fûts la présence d'une population de levures *Brettanomyces* en augmentation sensible. Ces levures sont susceptibles de causer une altération à très court terme si le niveau de SO_2 du vin n'est pas rapidement réajusté à une dose létale pour ces micro-organismes. A la dose utilisée (7 g de $S0_2$) dans notre essai, l'augmentation du temps de contact entre le SO_2 et les parois de la barrique n'a pas amélioré l'efficacité de la protection. En revanche, même après un méchage massif du fût (14 g de SO_2), l'élimination du SO_2 par rinçage à l'eau et réajustement à la solution n'a pas permis de protéger suffisamment le vin contre le développement de *Brettanomyces*. L'altération du vin devient organoleptiquement significative pour un développement de 10^3 cellules/ml.

TABLEAU VI

Incidences des conditions de méchage sur l'efficacité du sulfitage (sur 3 fûts, vin rouge pH 3,7)

Conditions de méchage et Quantité de soufre utilisée	Gain maximum théorique en SO_2 (mg/l)	Gain en SO_2 mesuré (mg/l)	Rendement Pratique de sulfitage (%)
Mèche de soufre *			
Mèche neuve 4,95 g	30,8	10 ± 0,6	32
Mèche conservée 8 mois en chai 4,95 g	30,8	11 ± 0,6	36
Mèche conservée 1 semaine à 100 % d'humidité relative 4,95 g	30,8	9 ± 0,6	28
Mèche déshydratée 1 semaine à 5 % d'humidité relative 4,95 g	30,8	9 ± 0,5	28
Pastille de soufre **			
Pastilles neuves 4,65 g	28,9	21 ± 1,3	68
Pastilles conservées 3 mois en chai 4,65 g	28,9	16 ± 0,9	55
Pastilles conservées 8 mois en chai 4,65 g	28,9	8 ± 0,6	28
Pastilles déshydratées 1 semaine à 5 % d'humidité relative 4,09 g	25,5	12 ± 0,7	47
Pastilles déshydratées 1 mois 4,10 g	25,5	18 ± 1	72
Pastilles humidifiée 1 semaine à 100 % d'humidité relative 4,10 g	25,5	10 ± 0,6	39
Pastille neuve espagnole 4,90 g	30,6	20 ± 1,2	63

* fraction de mèche de 20 g pesée (99 p. cent de soufre)
** pastille de soufre de 2,5 g pesée (93 p. cent de soufre)

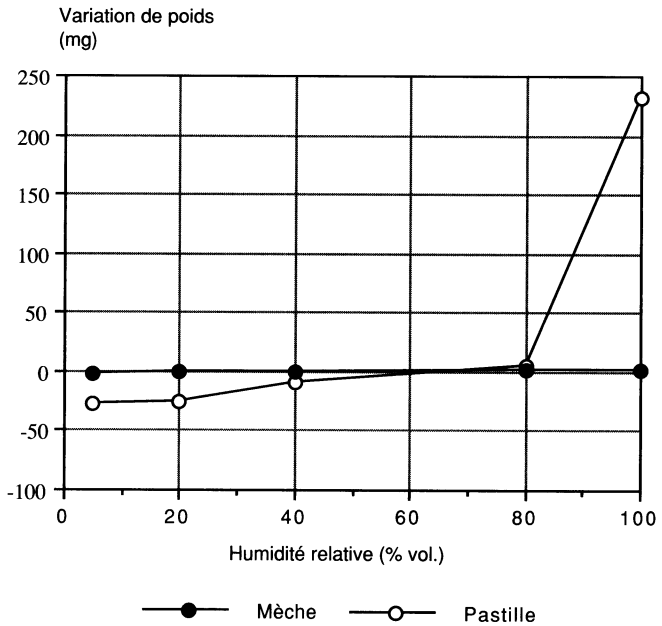


Fig. 3 — Evolution du poids de pastilles (4 pastilles de 2,5 g) ou d'une mèche de soufre (10 g) en fonction du degré hygrométrique de l'air (après 3 mois de stockage)

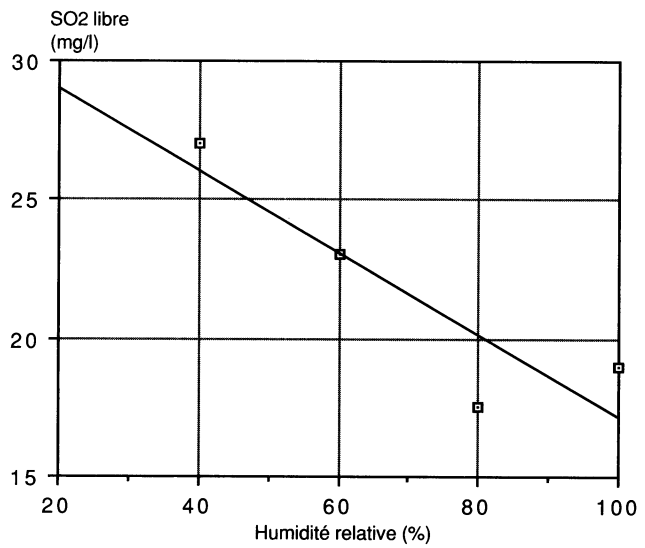


Fig. 4 — Incidence des conditions de conservation des pastilles de soufre sur l'efficacité du sulfitage des vins élevés en barriques (après 3 mois de stockage)

IV — INFLUENCE DES CONDITIONS D'APPORT DE L'ANHYDRIDE SULFUREUX PAR COMBUSTION DE SOUFRE SUR L'EFFICACITÉ DU SULFITAGE DES VINS

Dans différents fûts rinçés et égouttés soigneusement, on place une quantité identique de soufre (5 g) sous forme de mèches de soufre (99 p. cent de soufre) ou de pastilles neuves (93 p. cent de soufre) conservées dans un local sec (Humidité relative (Hr) = 60 p. cent). Une partie des mèches et des pastilles est conservée dans un chai (Hr = 85 à 90 p. cent), ou dans des dessicateurs contenant des solutions d'acide sulfurique de titre variable permettant d'obtenir des atmosphères d'humidité précise et constante.

Après combustion, on entonne aussitôt un même lot de vin en faisant arriver le vin à la partie supérieure de manière à créer une forte émulsion avec l'atmosphère du fût et à dissoudre le SO_2 présent. Après 5 jours, on dose le $S0_2$ libre du vin de manière à apprécier l'efficacité du sulfitage réalisé.

Le tableau VI montre que le sulfitage par méchage donne des résultats médiocres mais constants quelles que soient les conditions de conservation des mèches. Le sulfitage par brûlage de pastilles de soufre (marque GLORIA™), très répandu dans la région bordelaise, est beaucoup plus efficace mais extrêmement variable selon le temps et les conditions de stockage. En effet, maintenues en atmosphère humide comme c'est fréquemment le cas dans les installations vinicoles, le rendement pratique de sulfitage de ces pastilles diminue régulièrement au cours du temps. La conservation en atmosphère humide au laboratoire produit le même résultat et la déshydration de ces mêmes pastilles restaure leurs performances initiales.

V — CARACTÉRISATION PHYSIQUE DE DIFFÉRENTES FORMES D'APPORT DE L'ANHYDRIDE SULFUREUX PAR COMBUSTION DE SOUFRE

La conservation de pastilles ou de mèches de soufre (GLORIA™) durant 3 mois ou dans des atmosphères plus ou moins humides montre qu'au dessus de 60 p. cent d'humidité relative (figure 3), le poids des pastilles augmente rapidement en raison d'une fixation d'eau tandis que celui des mèches n'évolue que très peu. Dans le même temps, l'intensité du sulfitage des vins sulfités avec ces pastilles décroît avec la quantité d'eau adsorbée (figure 4).

Le caractère hygroscopique des pastilles varie selon leur origine car les méthodes de fabrication et la nature des charges utilisées sont différentes. N'ayant pu recueuillir les informations suffisantes auprès des fabricants concernés, nous avons recherché l'origine de ces variations en étudiant la composition fine de différentes origines de pastilles commercialisées par microscopie électronique et par spectrométrie d'émission X. Il apparaît que :

- les mèches traditionnelles sont composées d'une toile de coton trempée dans du soufre fondu qui cristallise sans aucune charge (planche I, photos 1, 2) comme le montre le spectre d'émission obtenu (planche I, photo 3) ;

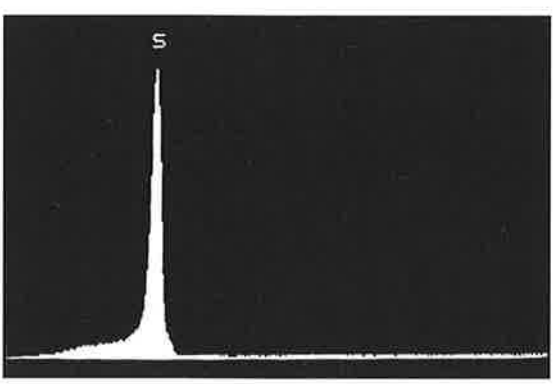
- des pastilles d'origine espagnole sont composées de soufre plus ou moins fin, mélé à une charge minérale, correspondant à un silicate d'aluminium et de calcium (proche d'une argile), lié sous pression à des fibres de verre (planche II, photos 1,2) ;



1



2



3

Planche I — Observation d'une mèche de soufre en microscopie électronique à balayage

1 — Détail du dépôt de soufre sur une toile de coton tissé (x 25). **2** — Surface d'une mèche de soufre, dépôt cristallin de soufre (x 250). **3** — Spectre d'émission X enregistré à la surface de la mèche : absorption uniquement sur la raie du soufre S et absence de charge minérale.

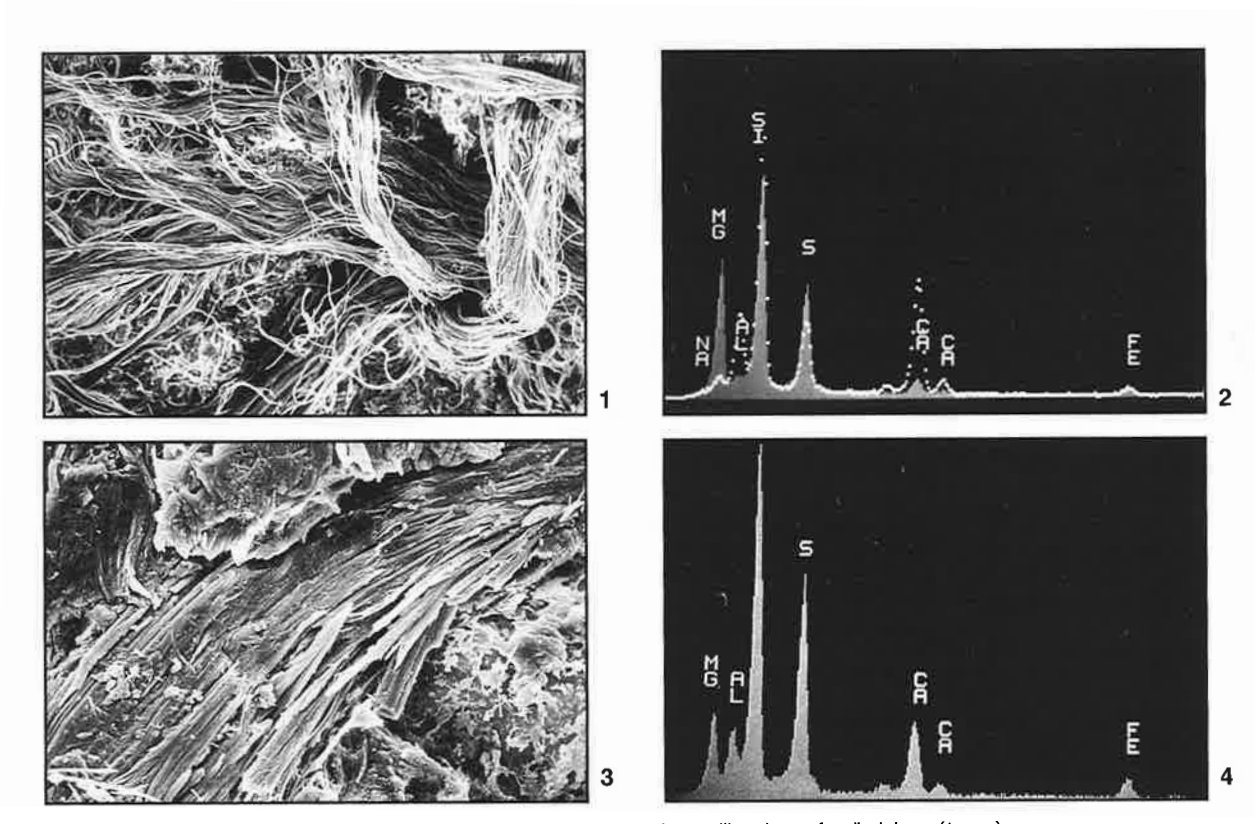


Planche II — Observation de l'ultrastructure de pastilles de soufre d'origines étrangères

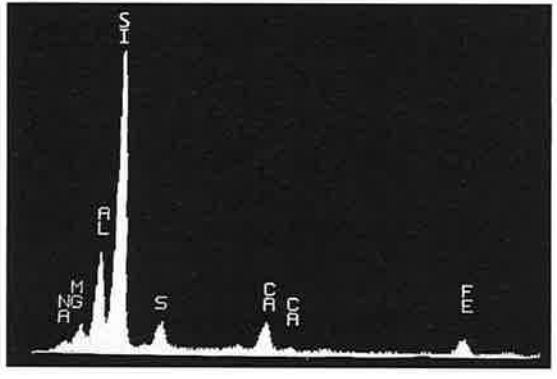
1 — Détail des fibres mélangées au soufre dans une pastille d'origine espagnole (x 2000). **2 —** En gris tramé : spectre d'émission X des fibres observées en 1, l'abondance du silicium SI, du magnésium MG et du calcium CA et leur aspect caractéristique démontrent qu'il s'agit de fibres de verre. En pointillé blanc : spectre d'émission X de la charge minérale ajouté au soufre qui correspond à un silicate d'aluminium et de calcium. **3 —** Détail de la charge organique mêlée au soufre dans des pastilles d'origine italienne : sciure de bois (x 2000). **4 —** Spectre d'émission X de la charge minérale utilisée dans les pastilles italiennes : silicate d'aluminium de magnésium et de calcium, présence de fer FE.



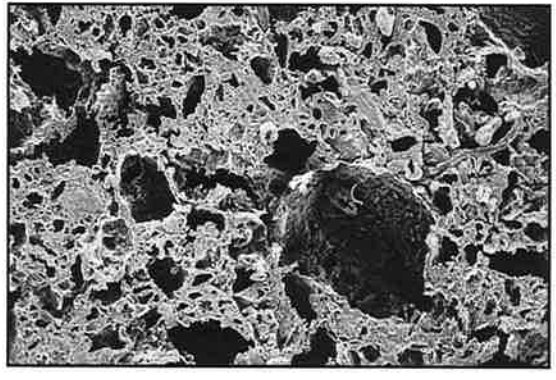
1



2



3



4

Planche III — Observation de l'ultrastructure des pastilles de soufre françaises (GLORIA™)

1 — Coupe d'une pastille de soufre, le soufre est mêlé à des fibres et à une charge minérale amorphe (x 25). **2** — Détail de la composition (x 100). **3** — Observation d'une pastille après combustion complète, le soufre a disparu et laisse apparaître la charge non combustible (x 250). **4** — Spectre d'émission X de la charge après combustion, abondance du silicium SI, présence d'aluminium AL et de calcium CA, traces de magnésium MG.

- des pastilles d'origine italienne sont composées de soufre trituré, de calibre très irrégulier, mêlé à une charge minérale du même type que la précédente, à de la sciure de bois pulvérisée ainsi qu'à des fibres organiques (planche II, photos 3, 4). Après combustion, l'intensité élevée du signal du soufre observé sur le résidu en spectrométrie X indique que, vraisemblablement en relation avec l'irrégularité de son calibre et avec sa compacité, le soufre de ces pastilles brûle plus ou moins complètement ;

- des pastilles françaises, de marque GLORIA, sont composées de soufre fin mêlé sous pression à une charge siliceuse fine possédant toutes les caractéristiques d'un gel de silice et à des fibres végétales cellulosiques (planche III, photos 1, 2). La recherche de la nature des liants éventuellement employés n'a pas été effectuée. Après combustion, la charge minérale laisse apparaître des vides occupés initialement par les particules de soufre (planche III, photos 3, 4).

Les différentes pastilles étudiées possèdent des mouillabilités de surface, mesurées par la technique de l'angle de contact θ, très différentes (tableau VII). Le caractère mouillable de la surface est inversement proportionnel à la valeur de θ. Par rapport aux pastilles étrangères et surtout à la mèche classique, la pastille française possède une mouillabilité très élevée (θ instantané < 18°, tendant vers 0° après quelques minutes).

TABLEAU VII

Appréciation de la mouillabilité des surfaces par la mesure de l'angle de contact statique (solvant : eau, température : 20 °C, atmosphère saturée)

Surface étudiée	Angle de contact (°)
Mèche de soufre	90,5
Pastille espagnole	82,6
Pastille italienne	64,0
Pastille française (GLORIA)	< 18,0

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'élevage des vins en fûts demande un surcroît d'attention entre la fin du printemps et le début de l'automne. C'est pendant cette période, alors que la température des chais et le rythme d'évaporation du vin augmentent, que le risque d'altération microbienne est le plus grand.

Il est très largement admis que le principal risque de l'élevage en barrique réside dans une augmentation excessive de l'acidité volatile des vins (piqûre acétique). Cette altération est classiquement due à la prolifération de bactéries acétiques *Acetobacter sp.*, mais lors des dénombrement de levures viables, on trouve également dans les vins prélevés par le trou de

bonde des levures résistantes à l'actidione identifiables à *Candida valida* (forme imparfaite de *Pichia menbranefaciens*) et à *Pichia vini*. Ces levures oxydatives et acétifiantes doivent être considérées comme nuisibles.

L'élevage en barrique est très favorable à la conservation et au développement de ces micro-organismes dans le bois et le vin. Il est cependant facile d'éviter une élévation excessive de la teneur des vins en acide acétique (acidité volatile) en prenant simplement soin d'ouiller soigneusement les fûts conservés bonde dessus, en évitant une température trop élevée des chais (≤ 20 °C), en maintenant toujours une teneur minimale en SO_2 libre (≥ 10 mg/l), en changeant ou en nettoyant régulièrement les bondes et surtout en ne conservant jamais les barriques vides de vin. Ces quelques précautions sont suffisantes pour éviter la présence massive d'oxygène et pour empêcher le développement des germes aérobies.

En revanche, une élévation de l'acidité volatile de 0,1 à 0,2 g/l H_2SO_4 pour un an d'élevage est inévitable lorsqu'on utilise des barriques neuves. Contrairement à l'idée répandue, mais en accord avec des observations plus anciennes (JAROSZ et JAROSZ, 1969 ; RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975a ; AIKEN et NOBLE, 1984), cette augmentation de la teneur des vins en acide acétique n'est pas imputable à un développement de bactéries acétiques mais à une hydrolyse chimique des groupements acétyles des hémicelluloses du bois. Pour cette raison, l'augmentation d'acidité volatile est quasiment nulle lorsque l'on utilise des barriques usagées et que l'on maîtrise parfaitement l'élevage en fût. L'élimination de la couche superficielle des douelles par rabottage permet de remettre en contact des couches de bois non lessivées et de libérer une nouvelle quantité d'acide acétique.

Les levures du genre *Brettanomyces/Dekkera*, très courantes dans les installations vinicoles (VAN DER WALT et VAN KERKEN, 1961), peuvent contaminer les vins à tous les stades de leur élaboration. Cependant, c'est pendant l'élevage et notamment pendant l'élevage en barriques au cours de la période estivale, que l'augmentation de la teneur en éthyl-phénols des vins rouges est la plus fréquente et la plus intense. Le bois des vieux fûts représente une source de contamination des vins en microorganismes et en phénols volatils importante (CHATONNET et *al.*, 1989), mais cette altération peut se développer également en fûts neufs. La manipulation du vin en présence d'air, évoquée comme favorable au développement de ces levures (LARUE et *al.*, 1992), n'est pas déterminante car on observe la multiplication de *Brettanomyces/Dekkera* en fûts maintenus constamment pleins, en cuve et même en bouteille, c'est-à-dire en anaérobiose stricte (SCHANDERL, 1955 ; DOMERCQ, 1956 ; CHATONNET et *al.*, 1992). L'anhydride sulfureux est actuellement le seul moyen légalement utilisable pour empêcher le développement de ces levures d'altération.

Le maître de chai dispose de différentes méthodes pour sulfiter les vins logés en barriques. Selon les conditions, la quantité d'anhydride sulfureux se retrouvant dans les vins peut être très variable. La première méthode de sulfitage est indirecte, elle consiste à brûler du soufre dans un récipient vide. Le soufre utilisé se présente sous différentes formes. Les mèches soufrées ordinaires sont constituées par une bande de toile en coton enduite de soufre fondu ; elles pèsent de 20 à 40 g et contiennent 95 à 99 p. cent de soufre pur. Les pastilles de soufre ont souvent remplacé les mèches. Il existe des pastilles de différentes masses

(1,25 à 10 g) ; le soufre trituré ou sublimé autrefois déposé sur une trame en amiante est aujourd'hui mélangé à une charge incombustible et à des liants de différentes natures (93 p. cent de soufre). La combustion du soufre libère de l'anhydride sulfureux SO_2 dans l'atmosphère du fût et lors de l'entonnage le vin en dissout une grande partie.

La seconde méthode consiste à apporter directement de l'anhydride sulfureux gazeux dans la barrique à partir de gaz liquéfié sous pression. La troisième méthode utilise le sulfitage direct des vins, et non des fûts, par ajout d'une solution sulfureuse, de bisulfite ou de gaz.

La conservation des vins en barriques avec sulfitage direct des vins ou bien sulfitage par méchage des fûts ne produit pas forcément un résultat identique. Nous montrons que la première méthode peut favoriser un développement de *Brettanomyces* se traduisant par des teneurs élevées en éthyl-phénols. Les méthodes de sulfitage utilisant l'apport de SO_2 dans la barrique permettent non seulement de sulfiter les vins, mais également de désinfecter la face interne des douelles qui abrite la majeure partie des micro-organismes quand la teneur en SO_2 apporté dans la barrique est suffisante, c'est-à-dire au moins égale à 7 g par fût.

A l'inverse, en dessous d'une certaine dose de SO_2 libre(< 30 mg/l), le sulfitage direct des vins, a priori plus pratique et précis, ne permet ni la désinfection du bois, ni la destruction totale des levures présentes dans le vin. Dans ce cas, on s'expose à un risque de développement de *Brettanomyces* après quelques semaines, lorsque la dose initiale de $S0_2$ aura diminué en dessous d'une certaine limite. La quantité limite de SO_2 libre ne permettant plus d'assurer une protection efficace contre ces micro-organismes dans les vins secs est plus élevée que celle nécessaire pour inhiber les bactéries acétiques et lactiques ; elle varie notamment avec le pH des vins (SO_2 moléculaire actif) et les conditions de conservation (température), mais reste généralement comprise entre 17 et 19 mg/l. Pour se prémunir contre tout développement de *Brettanomyces*, il faudrait donc sulfiter à l'entonnage à une dose suffisamment élevée pour garantir au soutirage, après trois à quatre mois de conservation, une teneur en SO_2 supérieure ou égale à cette limite. Rigoureusement, c'est la teneur en SO_2 moléculaire actif qu'il convient de considérer, ce qui correspond aux pH des vins à une quantité de 0,2 à 0,35 mg/l de SO_2 ou H_2SO_3. Cependant, il est possible qu'une partie du SO_2 combiné soit également actif contre ces micro-organismes.

WÜRDIG (1989) signale que *Brettanomyces/Dekkera* est sensible à 100 mg/l de SO_2 total et à 30 mg/l de SO_2 libre. FROUDIÈRE et LARUE (1990) ont mesuré au laboratoire une résistance de ces levures jusqu'à 30 mg/l de SO_2 libre dans le vin (pH 3,5). Dans les conditions de la pratique, une teneur en SO_2 libre identique aboutit toujours à une disparition totale des populations viables après 30 jours.

La comparaison de différentes méthodes de sulfitage des vins conservés en barriques au cours de l'été avec un sulfitage initial modéré (≤ 25 mg/l SO_2 libre), a montré que certaines techniques (utilisation de la mèche, sulfitage direct du vin) peuvent se révéler dangereuses car elles ne permettent pas une destruction efficace des *Brettanomyces* présentes dans le vin et dans le bois des fûts. L'anhydride sulfureux liquéfié peut être utilisé si son dosage est précis et suffisant (≥ 7 g SO_2 par fût), ce qui n'a pas été le cas dans notre essai (5 g).

Le « méchage » à la pastille reste une des meilleures méthodes de sulfitage. Cependant, ce procédé peut être soumis à certaines variations d'efficacité. Lors de la combustion de soufre (procédé dit du « méchage ») on produit la réaction suivante :

$$S + O_2 \longrightarrow SO_2$$
$$32 + 32 \longrightarrow 64$$

En faisant brûler 10 g de soufre, on devrait théoriquement retrouver dans l'atmosphère du fût 20 g de SO_2. Or, les travaux de J. RIBÉREAU-GAYON (1949) ont montré que les quantités retrouvées varient entre 13 et 14 g, soit un rendement maximum de 65 à 70 p. cent. Cet écart est dû à la formation d'anhydride sulfurique SO_3 et d'acide sulfurique H_2SO_4 en cas de méchage sur fût humide, ce qui est toujours le cas dans la pratique, et à la propriété du gaz SO_2 de gêner les combustions. De plus, dans le cas de la mèche, une grande partie du soufre coule au fond de la barrique et s'éteint sans brûler s'il subsiste de l'eau : le rendement maximum de la réaction chute alors à 50-55 p. cent. Si on admet un rendement maximum (RM) de formation de SO_2 à partir du soufre égal à 70 p. cent, le rendement de sulfitage des vins est tout différent. En effet, indépendamment de la combinaison d'une partie du SO_2, il faut retrancher les pertes par volatilisation à l'entonnage mais surtout les variations de rendement de formation du SO_2 liées aux conditions de méchage.

En effet, selon la forme d'apport et pour une quantité de soufre identique, on peut assister à des variations de sulfitage parfois importantes. Le calcul du rendement pratique RP, correspondant au pourcentage du soufre initial se retrouvant sous forme de SO_2 libre dans un vin, en tenant compte du rendement de la réaction de combustion (RM constant = 70 p. cent) et d'un taux de combinaison constant, permet de comparer différentes techniques de méchage entre elles. Quelles que soient les conditions, l'utilisation de la mèche conduit à un résultat médiocre mais constant. Dans le cas du méchage à la pastille, avec le type de pastille le plus répandu en France (GLORIA™), le rendement du sulfitage est deux fois plus élevé mais relativement instable selon l'état de conservation. En effet, le sulfitage réalisé à l'aide des pastilles conservées durant plusieurs mois dans un chai diminue rapidement de moitié. Cette diminution de performance est attribuable à une fixation d'eau à partir de l'atmosphère humide des cave par la charge minérale de ces pastilles qui s'avère très mouillable. Leur déshydratation restaure d'ailleurs leur performance initiale. La présence d'eau diminue le rendement de combustion du soufre en SO_2 en favorisant la synthèse d'anhydride sulfurique SO_3 et surtout d'acide sulfurique H_2SO_4. A l'inverse, la mèche est presque insensible à l'humidité des chais car, excepté une toile de coton, elle ne contient pas de charge et le soufre lui-même est très hydrophobe.

Ces résultats expliquent la capacité des pastilles de soufre à fixer l'humidité ambiante ainsi que la dégradation de la qualité du sulfitage à la suite de leur stockage. En effet, les silices sont bien connues pour leurs propriétés déshydratantes ; l'humidité de l'air dans les chais est très élevée (entre 70 et 95 p. cent d'humidité relative) et ne permet pas une bonne conservation de ce type de pastille. Par ailleurs, il est possible que la structure très compacte de cette pastille gêne un peu la combustion du soufre lorsque l'oxygène se raréfie et participe aussi à la diminution du rendement.

L'observation des quelques règles énoncées dans ce travail doit permettre de garantir l'amélioration de la qualité des vins élevés en barriques en limitant les altérations nuisibles à l'expression aromatique typique du cépage et du cru.

Rermerciements :

Nous tenons à remercier Béatrice PEYRIDIEU, A. LEYMARIE et Ph. MUR pour leur collaboration à ce travail, tous les châteaux et chais de négoce ayant accepté de se prêter aux expériences ainsi que le BEA (33700 MERIGNAC) pour la mise à disposition du matériel de mesure vidéo-optique.

Manuscrit reçu le 16 mars 1993 ; accepté pour publication le 7 octobre 1993

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADAM N.K., 1941. *The physics and chemistry of surfaces*. Oxford University Press.

AIKEN J.W et NOBLE A.C., 1984. Composition and sensory effect of Carbernet Sauvignon wine aged in French versus American oak barrels. *Vitis*, **23**, 27-36.

CHATONNET P. et BOIDRON J.N., 1988. Dosage de phénols volatils dans les vins par chromatographie en phase gazeuse. *Sci Alim.*, **8**, 479-488.

CHATONNET P., BOIDRON J.N. et PONS M., 1989. Élevage des vins rouges en fûts de chêne : Évolution de certains composés volatils et de leur impact aromatique. *Sci. Alim.*, **10**, 565-587.

CHATONNET P., DUBOURDIEU D., BOIDRON J.N. et PONS M., 1992 a. The origin of ethylphenols in wines. *J. Sci. Food Agric.*, **60**, 165-178.

DOMERCQ S., 1956. Etude et classification des levures de vin de la Gironde. *Thèse Docteur-Ingénieur*, Université de Bordeaux.

FEUILLAT F., 1991. Etude de caractère exploratoire sur quelques aspects de la qualité du « chêne de tonnellerie » en relation avec la qualité des vins. *DEA*, Université de Nancy I.

FROUDIÈRE I. et LARUE F., 1990. Conditions de survie de *Brettanomyces/Dekkera* dans les moûts et les vins. In «*Actualités Œnologiques 89*», RIBÉREAU-GAYON P. et LONVAUD A. (Ed), DUNOD, Paris, 297-304.

GLORIES Y., 1987. Phénomènes oxydatifs liés à la conservation sous bois. In « *Le bois et la qualité des vins et des eaux de vie* ». Numéro spécial *Conn. Vigne et Vin*, 81-93.

JAROSZ K. et JAROSZ M., 1969. Role of carboxylic acids in oak wood used for aging alcoholic beverages (Pol.). *Przem. Ferment. Rolny*, **13**, 1-3.

LARUE F., ROZES N., FROUDIERE I., COUTY C. et PERREIRA G.P., 1991. Incidence du développement de *Dekkera/Brettanomyces* dans les moûts et les vins. *J. Int sci. Vigne et Vin,* **25**, 3, 149-165.

MOUTOUNET M., RABIER P., SARNI F. et SCALBERT A., 1993. Les tanins du bois de chêne. Les conditions de leur présence dans les vins, In « *Le bois et la qualité des vins et des eaux de vie* », Numéro hors-série, J. Int. Sci. Vigne et Vin, 75-81.

PONTALLIER P., 1981. Recherches sur les conditions d'élevage des vins rouges. Rôle des phénomènes oxydatifs. *Thèse Docteur-ingénieur*, Université de Bordeaux II.

RIBÉREAU-GAYON J., 1949. L'acide sulfureux en œnologie. In « *Traité d'Œnologie* », Librairie Technique Ch. BERANGER (Ed.), Paris & Liège, 345-357.

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1975 a. *Sciences et techniques du Vin*, Tome III, DUNOD Ed., Paris.

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1975 b. *Sciences et techniques du Vin*, Tome II, DUNOD Ed., Paris.

SCHANDERL H., 1955. Facteurs de perturbation dans les refermentations et les fermentations de vins mousseux. *Bull. Inter. Vin*, n°294, 79-81.

VAN DER WALT J.P. and VAN KERKEN A.E., 1961. The wine yeasts of the Cape. Part V : Studies on the occurence of *Brettanomyces intermedius* and *Brettanomyces schanderlii. Antonie Van Leeuwenhoek*, **27**, 81-90.

WÜRGIG G., 1989. Asbau der Weine : Die mikrobiologischen Wirkungen der schwefligen Saüre. In « *Chemie des Weines* », WÜRDIG G. et WOLLER R. (ed.), Ulmer, Stuttgart.