Connaissance Vigne Vin, 1979, **13**, N° 3, 181-198.

ROLE DE LA « SOUCHE DE LEVURE » DANS LA PRODUCTION DES SUBSTANCES VOLATILES AU COURS DE LA FERMENTATION DU JUS DE RAISIN

E. SOUFLEROS * et A. BERTRAND

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

INTRODUCTION

La « souche de levure » constitue le premier facteur responsable des variations de la synthèse des produits de la fermentation (CASTELLI, 1973). Par ailleurs, les différences entre des vins obtenus à partir d'un moût unique, fermenté par diverses levures, doivent être attribuées aux produits secondaires formés pendant la fermentation alcoolique, (GALZY, 1973).

Parmi ces substances, les alcools et les esters jouent certainement un rôle prépondérant dans les caractères organoleptiques des vins. La teneur des certains alcools supérieurs tels que le méthyl-2 propanol-1, le méthyl-2 butanol-1 et le méthyl-3 butanol-1 est actuellement retenue comme un des critères de la qualité des eaux-de-vie de vin. Par ailleurs, dans une série de vins d'origine semblable, les échantillons les mieux classés à la dégustation sont souvent ceux qui ont une teneur en alcools supérieurs élevée. Il n'en est plus de même lorsque ces teneurs deviennent excessives, par exemple 500-600 mg/l, (BERTRAND, 1975). Le phényl-2 éthanol a une odeur agréable rappelant la rose, c'est un élément favorable de l'arôme du vin.

En ce qui concerne les esters les plus volatils formés par les levures, l'acétate d'éthyle, qui est fréquemment l'indice de l'altération du vin, participe, même à faible concentration, à son arôme. A l'inverse, l'acétate de méthyl-3 butyle, ayant une odeur de banane, peut améliorer l'arôme des vins s'il est présent en quantité relativement élevée.

Les esters d'acides de poids moléculaire plus élevé de C_6 à C_{12} ont des odeurs fleuries ou fruitées et sont des éléments à priori favorables de l'arôme des vins (LIEBICH et *al.*, 1970 ; SUOMALAINEN, 1971 ; PARFAIT

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

et *al.*, 1972 ; SALO et *al.*, 1972 ; DU PLESSIS, 1975 ; RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975 ; BERTRAND, 1975 et BERTRAND et *al.*, 1977).

D'autres études spécialement consacrées aux produits volatils du vin formés au cours de la fermentation, ainsi qu'aux facteurs qui influent sur leur synthèse, se sont multipliées dans le monde entiers, surtout à partir de 1960 grâce aux progrès de la chromatographie en phase gazeuse.

TABLEAU I

Souches de levures étudiées

Nombre total des souches : 50

Genre - Espèce	Nombre de souches	Genre - Espèce	Nombre de souches
Saccharomyces bailii	3	*Saccharomyces pretoriensis*	3
Saccharomyces bayanus	3	*Saccharomyces prostoserdovii*	2
Saccharomyces capensis	2	*Saccharomyces rosei*	3
Saccharomyces cerevisiae	12	*Torulopsis stellata*	5
Saccharomyces chevalieri	4	*Torulopsis lactis-condensi*	1
Saccharomyces heterogenicus	2	*Pichia anomala*	1
Saccharomyces insconspicuus	1	*Hanseniaspora uvarum*	3
Saccharomyces italicus	1	*Hanseniaspora osmophila*	2
		Saccharomycodes ludwigii	2

L'importance de ces substances volatiles dans l'arôme des vins et des eaux-de-vie de vins, nous a conduit à étudier les produits volatils formés au cours de la fermentation alcoolique, par 50 souches de levures différentes (tableau I), isolées et identifiées au cours de deux années de prélèvements (1975 et 1976) dans la région viticole de Naoussa, située en Grèce du nord (SOUFLEROS et *al.*, 1979).

MATERIELS ET METHODES

1) Conditions de fermentations

Le milieu fermentatif était constitué par un jus de raisin blanc conservé en bouteilles par pasteurisation ; il a été enrichi en sucre, en sulfate d'ammonium et en extrait de levures ; il contenait 204 g/l de sucre et avait un pH de 3,4. Le milieu, ainsi obtenu, a été réparti à raison de 600 ml par bouteille de 750 ml et stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 20 minutes. L'inoculum était constitué par 5 ml d'une culture récente d'une souche pure de la levure expérimentée. Les fermentations se sont déroulées dans des conditions d'anaérobiose (barboteurs) à 25°C.

Une oxygénation a été effectuée 24 heures après l'ensemencement.

2) **Techniques chromatographiques :**

Les dosages de toutes les substances de milieux fermentés ont été effectués par chromatographie en phase gazeuse.

Les appareils chromatographiques utilisés pour le dosage de produits volatils sont équipés :

— d'un programmateur permettant l'augmentation linéaire de la température du four ;

— de détecteurs à ionisation de flamme ;

— d'injecteurs munis d'inserts en pyrex.

Les colonnes sont préparées en utilisant un tube en acier inoxydable de 1/8 de pouce (diamètre intérieur 2,1 mm). Les principales caractéristiques des colonnes sont indiquées dans le tableau II.

La détermination de la concentration d'une substance s'effectue par comparaison des hauteurs de pics obtenus par injection du même volume de l'échantillon à analyser et de la solution de référence ou de leur extrait respectif ; la même quantité de la solution d'étalon (s) interne (s) a été rajoutée dans les milieux avant analyse.

La teneur (C) d'une substance présente dans le milieu fermenté est donnée par la formule suivante :

$$C = a \times \frac{h}{H} \times \frac{I}{i} \qquad \text{où}$$

a : concentration connue de la substance dans la solution de référence;

h : hauteur du pic de la substance dans l'échantillon;

H : hauteur du pic de la substance dans la solution de référence;

I : hauteur du pic de l'étalon interne dans la solution de référence;

i : hauteur du pic de l'étalon interne dans l'échantillon.

Les polyols, l'acétate d'éthyle, le lactate d'éthyle et les alcools supérieurs ont été dosés par injection directe du milieu fermenté dans le chromatographe. Les esters autres que l'acétate d'éthyle, présents à faibles teneurs, ont été préalablement concentrés par extraction du milieu (100 ml) par 3 fois 6 ml du mélange éther-hexane (2-1, v/v) et par évaporation sur plaque chauffante sans ébullition. Cette dernière méthode de dosage des esters a été mise au point pour cette étude.

Les milieux fermentés ou les extraits ainsi obtenus, suivant le cas, sont injectés dans les diverses colonnes (tableaux III, IV).

TABLEAU II

Caractéristiques des principales colonnes utilisées

PHASE STATIONNAIRE				SUPPORT		Longueur (m)	UTILISATION de la COLONNE
NOM	Nature chimique	Température maximum (°C)	Imprégnation (p. 100)	NOM	Granulométrie (mesh)		
Carbowax 400 + Hallcomid M. 180 I (C + H)	Polyéthylène glycol + Octadécène - 9 amide	120	4 + 1	Chromosorb W	60 — 80	8	Alcools volatils
CELANESE	Tripélargonate de Triméthyl-propane	200	10	Chromosorb W	60 — 80	7,5	Esters volatils
CELANESE	Tripélargonate de Triméthyl-propane	200	10	Chromosorb W	60 — 80	2	Esters volatils
CELANESE	Tripélargonate de Triméthyl-propane	200	10	Chromosorb W	60 — 80	1	Esters volatils
F.F.A.P.	Free Fatty acids	230	15	Gas Chrom. Q	80 — 100	2	Phényl-2 éthanol
D.E.G.S. + H_3PO_4	Succinate de diéthylène glycol + H_3PO_4	200	5 + 1	Gas Chrom. Q	80 — 100	4	Butanediol-2,3. Lactate d'éthyle
CHROMOSORB 101	Polymère du divinyle benzène	300	néant	—	60 — 80	1	Glycérol

TABLEAU III

Substances étudiées par chromatographie en phase gazeuse par injection directe

Substance dosée	Colonne	Température d'analyse
Ethanol	C + H	85 °C
Acétate d'éthyle	C + H	85 °C
Méthanol	C + H	85 °C
Propanol-1	C + H	85 °C
Méthyl 2 propanol-1	C + H	85 °C
Butanol-1	C + H	85 °C
Méthyl-2 butanol-1	C + H	85 °C
Méthyl-3 butanol-1	C + H	85 °C
Phényl-2 éthanol	F.F.A.P.	140 °C
Glycérol	Chromosorb 101	170 °C
Butanediol-2,3 (D (—) + méso)	D.E.G.S. + H_3PO_4	125 °C
Lactate d'éthyle	D.E.G.S. + H_3PO_4	125 °C

TABLEAU IV

Substances étudiées par chromatographie en phase gazeuse après extraction par solvants

Substance dosée	Colonne	Température d'analyse
Acétate de méthyl-3 butyle	Célanèse 7,5 m	135 °C
Acétate d'hexyle	Célanèse 7,5 m	135 °C
Acétate de phényl-2 éthyle	Célanèse 2 m	155 °C
Succinate de diéthyle	Célanèse 2 m	155 °C
Hexanoate d'éthyle	Célanèse 7,5 m	135 °C
Octanoate d'éthyle	Célanèse 2 m	155 °C
Décanoate d'éthyle	Célanèse 2 m	155 °C
Dodécanoate d'éthyle	Célanèse 1 m	175 °C
Tétradécanoate d'éthyle	Célanèse 1 m	175 °C

Les solutions synthétiques de référence ou leurs extraits, ont été injectés dans des conditions identiques.

Pour le dosage de l'acétate d'éthyle et des alcools supérieurs nous avons utilisé la solution de référence à 10 p. 100 d'éthanol contenant pour 1 litre : 50 mg d'acétate d'éthyle ; 100 mg de méthanol ; 25 mg de propanol-1 ; 100 mg de méthyl-2 propanol-1 ; 8 mg de butanol-1 ; 250 mg de méthyl-2 butanol-1 + méthyl-3 butanol-1.

L'étalon interne est le méthyl-4 pentanol-2 à 1 g/l dans une solution hydroalcoolique à 10 p. 100.

Pour le dosage des esters supérieurs nous avons utilisé une solution synthétique de référence à 10 p. 100 d'éthanol contenant pour 1 litre : 10 mg d'acétate de méthyl-3 butyle ; 5 mg d'hexanoate d'éthyle ; 3 mg d'acétate d'hexyle ; 5 mg d'octanoate d'éthyle ; 1 mg de succinate de diéthyle ; 3 mg d'acétate de phényl-2 éthyle ; 5 mg de décanoate d'éthyle ; 1 mg de dodécanoate d'éthyle ; 1 mg de tétradécanoate d'éthyle.

Comme étalons internes nous avons ajoutés l'hexanoate de méthyl-2 butyle à 100 mg/l, le méthyl-2 propionate de méthyl-2 propyle à 300 mg/l, le nonanoate de méthyl-2 butyle à 100 mg/l, en solution hydroalcoolique à 50 p. 100.

Pour le dosage des autres substances, nous avons utilisé comme étalons internes l'hydroxy-3 butyrate d'éthyle à 5 g/l pour doser le lactate d'éthyle, et le butanediol-2,3 ;

— le dodécanol-1 à 0,5 g/l pour le phényl-2 éthanol ;

— le butanediol-1,4 à 50 g/l pour doser le glycérol.

La reproductibilité de la méthode appliquée (extraction, concentration, injection) est satisfaisante puisque, pour la plupart des subtances, le coefficient de variation Zt.0,05 est de l'ordre de 3 à 10 p. 100. Pour ces calculs nous avons utilisé les formules statistiques s'appliquant à un petit nombre d'échantillons, puisque dix échantillons du même vin ont été analysés dans des conditions identiques.

En tout 20 substances ont été dosées.

RESULTATS - DISCUSSION

Nous avons étudié les variations des concentrations de chaque substance volatile dosée en fonction des propriétés particulières des souches de levures mises en œuvre.

1°) **Ethanol :**

La quantité d'éthanol formé par les levures (tableau V), varie beaucoup en fonction du genre ; elle est minimum (2,4 p. 100) pour *Hanseniaspora osmophila* et maximum (11,8 p. 100) pour *Saccharomyces cerevisiae.* Des différences peuvent également être importantes entre des espèces d'un même genre, ainsi *Saccharomyces pretoriensis* produit en moyenne 4,7 p. 100 d'éthanol, alors que *Saccharomyces cerevisiae* en produit 10 p. 100. Enfin, des variations sont également observées à l'intérieur de la même espèce ; à titre d'exemple les différentes souches de *Saccharomyces cerevisiae* forment de 8,5 à 11,8 p. 100 d'éthanol et les *Saccharomyces rosei* de 4,2 à 6,2 p. 100 d'éthanol.

En fonction de la production d'éthanol il est possible de classer les levures étudiées en trois groupes, comme cela a déjà été fait précédemment (RIBÉREAU-GAYON et *al.*, 1975).

— Les levures fortement alcoogènes, telles que *Saccharomyces cerevisiae, S. bayanus, S. chevalieri, S. prostoserdovii, S. italicus* et *S. heterogenicus.*

— Les levures moyennement alcoogènes, *Saccharomyces capensis, S. rosei, S. bailii, S. inconspicuus, S. pretoriensis, Torulopsis stellata et T. lactis condensi, Saccharomycodes ludwigii.*

— Les levures peu alcoogènes, *Pichia polymorpha, Hanseniaspora uvarum* et *H. osmophila.*

Nos résultats sont en accord avec ceux de PARK (1974), à l'exception de ceux concernant *Saccharomycodes ludwigii* et *Torulopsis stellata* qui semblent plus alcoogènes, et confirment ceux cités par RIBÉREAU-GAYON et *al.* (1975).

2°) **Alcools supérieurs :**

Pour la quasi totalité des levures, nous constatons que la teneur en alcools supérieurs est approximativement proportionnelle au degré alcoolique, *Saccharomycodes ludwigii* fait exception et forme parfois deux fois plus d'alcools supérieurs (218 mg/l) que la plupart des souches de levures alcoogènes. Ainsi, les teneurs en alcools supérieurs varient de 13,1 à 34,6 mg/l pour les levures peu alcoogènes, de 32 à 111 mg/l pour les levures moyennement alcoogènes et de 101 à 165 mg/l pour les levures alcoogènes. Parmi les levures du genre *Saccharomyces, S. heterogenicus* et *S. italicus* synthétisent des quantités d'alcools supérieurs légèrement plus élevées que *S. cerevisiae.*

Nos résultats, concernant les teneurs en alcools supérieurs, confirment ceux précédemment obtenus par BERTRAND (1968 et 1975) et par PARK (1974). Par contre, RANKINE (1967) donne des teneurs en alcools supérieurs beaucoup plus importantes que les nôtres.

TABLEAU V

Teneurs des alcools en fonction de la souche de levure

Les résultats sont exprimés en mg/l

Souches de levures	Ethanol p 100	Propanol-1	Méthyl-2 propanol-1	Butanol-1	Méthyl-2 butanol-1 · méthyl-3 butanol-1	Phenyl-2 éthanol
Saccharomyces cerevisiae						
MF 39	10.70	48.6	16.2	4.6	69.7	9.6
V 40	10.10	34.2	14.6	2.5	63.9	17.3
V 11	11.80	28.2	12.1	1.0	52.0	17.7
V 21	10.00	34.7	9.9	2.8	54.4	13.8
MF 12	9.30	30.1	9.4	2.0	46.8	26.1
MF 36	11.10	35.1	8.8	3.4	42.5	18.5
FF 40	9.60	39.5	10.6	2.4	56.6	21.3
S 27	9.70	32.6	8.6	2.6	52.6	26.1
V 12	10.30	30.9	16.6	1.5	46.4	26.2
V 24	9.40	29.9	10.9	2.0	47.2	23.8
V 42	8.50	22.2	8.6	1.0	51.4	24.5
MF 22	9.90	32.1	14.0	2.7	65.0	21.1
Saccharomyces bayanus						
DF 40-(1975)	10.80	27.0	15.0	1.6	54.1	17.1
MF 31-(1975)	9.00	45.3	15.6	2.7	45.9	14.3
V 23-(1975)	9.22	37.1	13.6	1.0	25.7	23.3
Saccharomyces bailii						
V 14	5.47	34.5	13.9	1.4	28.6	16.0
DF 10	5.85	10.4	11.7	-	31.4	12.6
DF 16	5.67	27.9	15.5	-	45.5	21.6
Saccharomyces chevalieri						
DF 48	10.80	40.6	14.0	2.7	73.2	17.9
DF 60	10.90	21.5	15.4	1.4	61.5	23.1
FF 60	9.66	29.5	13.9	2.8	55.0	22.5
V 43	9.46	39.7	32.2	3.0	71.8	18.5
Saccharomyces capensis						
AE 53	4.80	27.2	8.6	1.3	35.7	6.6
DF 79-(1975	5.70	19.3	17.4	1.9	44.3	7.8
Saccharomyces rosei						
AE 15-(1976)	4.20	7.7	3.3	-	16.5	12.4
AE 31-(1975)	4.55	5.3	3.3	-	15.7	7.5
DF 59-(1975)	6.50	19.0	3.0	1.7	32.3	10.9
Saccharomyces pretoriensis						
AE 49-(1975)	3.83	23.4	7.5	1.2	27.2	7.9
AE 26	5.56	12.9	7.2	3.3	29.8	10.0
Saccharomyces prosteserdovii						
V 42	11.20	47.4	21.4	1.1	66.5	10.5
V 44	10.50	44.8	22.9	-	71.1	16.4
Saccharomyces italicus						
S 12-(1975)	10.40	48.2	24.1	2.3	67.3	14.1
Saccharomyces heterogenicus						
V 39-(1975)	10.95	34.9	17.9	0.7	54.7	15.1
V 40-(1975)	10.95	37.3	17.9	0.3	46.3	15.1
Saccharomyces insconspicuus						
DF 24	4.93	7.4	4.5	-	24.1	10.5
Saccharomycodes ludwigii						
DF 47	7.90	10.9	22.9	-	82.1	15.3
DF 51	8.97	22.7	38.5	1.3	129.4	25.9
Pichia polymorpha						
R 73	3.44	3.8	13.4	-	11.1	6.0
Torulopsis stellata						
R 24	6.45	6.9	16.4	-	12.5	8.0
R 26	4.62	6.1	13.4	-	9.5	6.0
R 37	5.64	7.2	26.7	2.2	26.3	10.4
AE 21	5.73	9.5	31.2	-	36.0	10.9
DF 12	5.64	8.1	20.8	-	14.7	11.2
Torulopsis lactis-condensi						
DF 44	4.08	2.8	7.7	-	9.5	4.2
Hanseniaspora uvarum						
R 31	2.90	1.7	2.4	1.4	8.1	3.6
AE 24	2.44	2.7	7.4	-	19.0	1.5
DF 22	2.98	1.3	2.4	-	6.3	2.3
Hanseniaspora osmophila						
AR 22	2.37	1.9	2.4	-	7.3	4.2
DF 29	2.80	1.3	2.4	-	7.3	5.4

+ Teneurs trop faibles pour être estimées quantitativement.

ROSET et *al.* (1971) observent que les alcools supérieurs sont formés surtout par *Saccharomyces cerevisiae* et très peu par *Kloeckera apiculata* ce qui est également confirmé par nos résultats. GORANOV (1976) montre que le méthyl-3 butanol-1 ne se forme qu'après la fermentation de 30 p. 100 environ du sucre initial, donc les *Hanseniaspora,* qui ne dépassent pas cette limite, n'en produisent que des quantités très faibles.

Les alcools amyliques (méthyl-2 butanol-1 et méthyl-3 butanol-1), qui constituent environ la moitié des alcools supérieurs totaux, sont synthétisés en teneurs élevées par *Saccharomyces cerevisiae, S. bayanus, S. chevalieri, S. prostoserdowii, S. italicus, S. heterogenicus et Saccharomycodes ludwigii.*

Le phényl-2 éthanol est élaboré par *Hanseniaspora uvarum* et *H. osmophila* en quantités très faibles, ce qui est en contradiction avec les résultats donnés par SPONHOLZ et DITTRICH (1974). Par contre, *Saccharomyces cerevisiae, S. chevalieri* et *Saccharomycodes ludwigii* forment les quantités les plus élevées. Ces deux dernières forment également des teneurs importantes de méthyl-2 propanol-1.

3°) **Acétate d'éthyle :**

L'acétate d'éthyle est l'ester le plus abondant formé par les levures ; à partir d'une certaine dose il joue un rôle défavorable sur la qualité du vin qui justifie une étude séparée.

Nos résultats indiqués dans les tableaux VI, VII montrent que parmi les levures étudiées, nous pourrions distinguer 3 groupes :

— Les levures apiculées élaborent les plus grandes quantités d'acétate d'éthyle. Ces teneurs sont comprises entre 36 et 125 mg/l pour les levures du genre *Hanseniaspora* et entre 431 et 508 mg/l pour *Saccharomycodes ludwigii.*

— Les levures du genre *Saccharomyces* produisent des teneurs en acétate d'éthyle inférieures à celles du groupe précédent et proportionnelles à celles de l'alcool ; (de 12 à 66 mg/l).

— *Pichia polymorpha, Torulopsis stellata* et *T. lactis-condensi* produisent de faibles quantités d'acétate d'éthyle (1,5 à 24,3 mg/l).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par PARK (1974) ; SPONHOLZ et DITTRICH (1974). Par contre, dans un travail ancien BERTRAND (1968) n'a pas obtenu pour *Saccharomycodes ludwigii* des teneurs plus élevées que pour *Saccharomyces cerevisiae.*

Parmi les levures que nous avons étudiées, seules les *Saccharomycodes* et *Hanseniaspora* sont capables d'exercer une influence défavorable sur l'odeur du vin en produisant des quantités d'acétate d'éthyle qui dépassent le seuil de perception organoleptique de cet ester (180 à 200 mg/l, RIBÉREAU-GAYON et *al.,* 1972).

TABLEAU VI

Teneurs des esters en fonction de la souche de levure

Les résulats sont exprimés en mg/l.

Souches de levures	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	Dodécanoate d'éthyle	Tétradécanoate d'éthyle	Esters* supérieurs totaux
Saccharomyces cerevisiae												
MF 39	29,2	3,51	0,20	0,90	13,1	0,09	1,43	1,40	0,90	0,17	+	8,60
V 40	24,1	2,50	0,23	0,97	+	0,13	0,90	0,98	0,77	0,19	+	6,67
V 11	57,4	1,43	0,12	0,65	+	0,15	0,74	0,96	0,72	0,09	+	4,86
V 21	36,5	1,82	0,16	0,61	+	0,14	0,74	0,95	0,63	0,10	+	5,15
MF 12	47,6	1,52	0,40	0,88	1,0	0,37	0,99	0,58	1,61	+	+	6,35
MF 36	48,6	1,43	0,29	0,67	+	0,36	0,96	0,83	1,08	+	+	5,62
FF 40	57,2	1,53	0,20	0,90	+	0,50	0,75	0,79	1,16	+	+	5,83
S 27	44,8	1,16	0,09	0,60	+	0,29	0,75	1,11	0,94	+	+	4,94
V 12	63,0	1,51	0,12	0,60	3,1	0,29	0,83	1,02	0,72	+	+	5,09
V 24	47,4	1,24	0,25	0,69	4,6	0,36	1,49	0,92	0,97	+	+	6,66
V 42	43,2	1,48	0,25	0,94	7,3	0,18	1,64	0,96	0,98	0,23	+	5,92
MF 22	52,6	1,73	0,15	0,77	4,8	0,35	0,78	0,71	1,04	0,08	+	5,61
Saccharomyces bayanus												
DF 40-(1975)	49,5	1,38	0,15	0,38	+	0,31	0,84	0,95	0,80	0,17	+	4,98
MF 31-(1975)	45,2	1,59	0,13	0,54	+	0,24	1,05	0,98	1,01	+	+	5,54
V 23-(1975)	49,4	0,85	0,08	0,38	2,4	0,26	0,67	0,82	1,22	0,42	+	4,70
Saccharomyces bailii												
V 14	52,5	0,51	0,05	0,31	371	0,13	0,16	0,07	0,41	0,06	+	1,70
DF 10	22,8	0,07	+	0,06	87,1	0,04	0,01	+	0,23	+	+	0,41
DF 16	35,7	0,38	0,03	0,27	516	0,11	0,04	+	0,44	+	+	1,27
Saccharomyces chevalieri												
DF 48	30,9	3,68	0,27	1,00	3,7	0,12	1,23	1,31	0,78	0,18	+	8,57
DF 60	50,8	1,82	0,20	0,60	+	0,15	0,74	1,00	1,02	0,27	+	5,80
FF 60	46,6	1,47	0,12	0,50	+	0,26	0,70	0,92	0,80	0,81	+	5,58
V 43	62,1	2,17	0,13	0,70	17,4	0,43	0,78	1,17	1,50	0,41	+	7,29
Saccharomyces capensis												
AE 53	12,7	0,13	0,03	+	309	+	0,03	0,03	0,43	0,04	+	0,69
DF 79-(1975)	35,0	0,65	0,12	0,02	345	0,24	0,22	0,04	1,17	0,05	+	2,51
Saccharomyces rosei												
AE 15-(1976)	31,7	0,82	0,12	0,05	+	0,07	0,24	0,13	0,43	+	+	1,86
AE 31-(1975)	15,8	0,17	+	0,04	+	0,12	0,07	0,01	0,36	0,05	+	0,82
DF 59-(1975)	39,4	0,08	+	0,04	+	0,18	0,07	0,06	0,64	+	+	1,07
Saccharomyces pretoriensis												
AE 49-(1975)	11,7	0,13	+	0,02	223	+	0,12	0,03	0,19	+	+	0,49
AE 26	33,5	0,10	+	0,02	+	0,08	0,06	0,03	0,33	+	+	0,62

+ Teneurs trop faibles pour être estimées quantitativement.

* L'acétate d'éthyle et le lactate d'éthyle n'y sont pas compris.

4°) **Lactate d'éthyle :**

Nous observons que les teneurs en lactate d'éthyle sont très différentes suivant la souche levurienne, tableaux VI, VII. Elles varient de quantités trop faibles pour être estimées quantitativement jusqu'à des quantités qui nous paraissent exceptionnellement élevées.

D'une manière générale nous constatons que les souches qui forment de grandes quantités de lactate d'éthyle sont peu ou très peu alcoogènes, alors que les levures alcoogènes en synthétisent peu ; ce résultat n'est pas en accord avec les observations de ROSET et *al.* (1971).

5°) **Esters supérieurs :**

Les quantités synthétisées par les différentes souches varient de :

— 3,9 à 8,6 mg/l pour les levures fortement alcoogènes ;

— 0,41 à 2,51 mg/l pour les levures moyennement alcoogènes, à l'exception d'une souche de *Saccharomycodes ludwigii* (4,72 mg/l) ;

— 0,39 à 1,24 mg/l pour les levures peu alcoogènes.

Parmi les esters supérieurs, l'acétate de méthyl-3 butyle représente généralement à lui seul de 30 à 50 p. 100 du total. L'acétate de phényl-2 éthyle, l'hexanoate d'éthyle, l'octanoate d'éthyle et le décanoate d'éthyle, en concentrations approximativement équivalentes, constituent un ensemble variant de 50 à 70 p. 100 du total.

Cependant, les levures peu alcoogènes forment principalement de l'acétate de méthyl-3 butyle et du décanoate d'éthyle.

L'acétate d'hexyle et le dodécanoate d'éthyle sont très peu synthétisés et à peine détectés.

De façon générale, les esters supérieurs totaux (tableaux VI, VII) sont produits par les différentes souches de levures en teneurs proportionnelles au pouvoir alcoogène.

Nos résultats complètent ceux cités dans la littérature (SPONHOLZ et DITTRICH, 1974 ; NYKANEN et *al.*, 1977 ; BERTRAND, 1968 et 1975 ; PARK, 1974) et montrent qu'il existe des différences importantes entre les concentrations respectives des différents esters supérieurs formés par les souches de levures ; plus précisément les concentrations relatives de certains esters entre eux sont très variables d'une souche à une autre. De telles différences peuvent s'expliquer en principe par des pouvoirs estérogènes spécifiques variables suivant les espèces de levures (PARK, 1974), mais également par une rétention plus ou moins grande de ces esters à l'intérieur des cellules levuriennes en fonction des souches (NYKANEN et *al.*, 1977). Ces différences doivent intervenir sur l'arôme des vins qui n'est pas exclusivement fonction du pouvoir alcoogène de la souche de levure.

TABLEAU VII

Teneurs des esters en fonction de la souche de levure

Les résultats sont exprimés en mg/l

Souches de levures	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	Dodéca-noate d'éthyle	Tétradé-canoate d'éthyle	Esters* supérieurs totaux
Saccharomyces prostoserdovii												
V 42	35,2	2,28	0,07	0,49	+	0,08	1,04	1,25	0,98	0,10	+	6,29
V 44	26,6	1,92	0,19	0,32	10,0	0,19	1,15	1,17	0,64	0,13	+	5,71
Saccharomyces italicus												
S 12	34,3	3,22	0,27	0,62	+	0,18	1,05	1,48	1,04	0,14	+	8,00
Saccharomyces heterogenicus												
V 39-(1975)	65,7	1,30	0,13	0,28	24,8	0,10	0,59	0,95	0,80	0,08	+	4,23
V 40-(1975)	50,6	0,91	0,15	0,36	58,2	0,13	0,59	0,69	1,00	0,07	+	3,90
Saccharomyces insconspicuus												
DF 24	23,3	0,12	+	0,03	+	0,13	0,06	0,03	0,40	+	+	0,78
Saccharomycodes ludwigii												
DF 47	508	0,95	+	0,14	206	0,09	0,16	0,09	0,51	0,07	+	2,01
DF 51	431	2,31	0,07	0,13	296	0,11	0,37	0,30	0,59	0,84	+	4,72
Pichia polymorpha												
R 73	3,10	0,65	0,04	0,01	237	0,04	0,07	0,01	0,24	—	—	1,06
Torulopsis stellata												
R 24	7,90	0,20	+	+	247	0,09	0,03	+	0,45	+	+	0,77
R 26	6,70	0,29	0,04	+	208	0,06	0,07	0,01	0,37	+	+	0,84
R 37	24,3	0,34	+	+	254	0,08	0,09	+	0,44	+	+	0,95
AE 21	12,9	0,34	0,07	0,03	195	0,07	0,15	0,01	0,39	+	+	1,06
DF 12	8,80	0,07	+	+	181	0,04	0,03	0,01	0,24	+	+	0,39
Torulopsis lactis-condensi												
DF 44	1,54	0,40	+	0,01	212	0,12	0,09	0,01	0,51	+	+	1,14
Hanseniaspora uvarum												
R 31	60,5	0,30	+	0,13	208	0,08	0,03	0,004	0,19	+	+	0,73
AE 24	41,1	0,29	+	0,12	158	0,09	+	+	0,23	0,25	+	0,98
DF 22	35,7	0,18	+	0,07	138	0,11	+	+	0,31	0,05	+	0,72
Hanseniaspora osmophila												
AR 22	125,1	0,27	+	0,13	121	0,08	+	0,01	0,20	0,08	+	0,77
DF 29	75,7	0,43	0,11	0,17	152	0,07	0,12	0,003	0,23	0,11	+	1,24

+ Teneurs trop faibles pour être estimées quantitativement.

* L'acétate d'éthyle et le lactate d'éthyle n'y sont pas compris.

TABLEAU VIII

Teneurs en polyols en fonction de la souche de levure

	Glycérol g/l	Butanediol-2,3 mg/l
Saccharomyces cerevisiae		
MF 39	5,9	511
V 40	6,4	834
V 11	5,3	721
V 21	4,1	793
MF 12	5,9	683
FF 40	5,9	826
S 27	6,6	984
V 12	7,1	1068
V 24	6,2	1115
V 42	6,9	909
MF 22	5,0	416
MF 36	6,0	745
Saccharomyces bayanus		
DF 40-(1975)	5,6	387
MF 31-(1975)	4,9	526
V 23-(1975)	5,5	834
Saccharomyces bailii		
V 14	6,9	16
DF 10	4,0	142
DF 16	7,0	256
Saccharomyces chevalieri		
DF 48	4,5	511
DF 60	5,4	728
FF 60	4,3	465
V 43	6,2	1090
Saccharomyces capensis		
AE 53	4,2	196
DF 79-(1975)	3,8	159
Saccharomyces rosei		
AE 15	3,0	137
AE 31-(1975)	3,6	287
DF 59-(1975)	3,5	72

6°) **Polyols :**

Le glycérol est formé en quantités élevées (tableaux VIII et IX) par *Saccharomyces heterogenicus* et *Saccharomycodes ludwigii* (entre 7,3 et 8,5 g/l) ; les autres levures alcoogènes produisent des teneurs comprises entre 4 et 7,8 g/l. Les levures moyennent alcoogènes et peu alcoogènes en synthétisent de 1,1 à 5 g/l.

Dans tous les cas les variations observées restent moins importantes que celles enregistrées pour les autres produits secondaires. Ceci pourrait s'expliquer soit par le fait que les 2/3 environ du glycérol sont formés au début de la fermentation alcoolique (DUBERNET, 1974) et donc sa

TABLEAU IX

Teneurs en polyols en fonction de la souche de levure

	Glycérol g/l	Butanediol-2,3 mg/l
Saccharomyces pretoriensis		
AE 49-(1975)	3,3	290
AE 26	2,0	155
Saccharomyces prostoserdovii		
V 42	7,8	1311
V 44	6,8	1146
Saccharomyces italicus		
(1) S 12-(1975)	5,4	943
Saccharomyces heterogenicus		
V 39-(1975)	8,2	647
V 40-(1975)	7,8	1373
Saccharomyces inconspicuus		
DF 24	3,5	273
Saccharomycodes ludwigii		
DF 47	8,5	+
DF 51	7,3	57
Pichia polymorpha		
R 73	2,5	152
Torulopsis stellata		
R 24	2,6	151
R 26	3,0	180
R 37	5,0	245
AE 21	4,5	265
DF 12	4,5	253
Torulopsis lactis-condensi		
DF 44	3,3	98
Hanseniaspora uvarum		
R 31	4,1	58
AE 24	3,0	69
DF 22	3,3	88
Hanseniaspora osmophila		
AR 22	1,1	59
DF 29	2,3	79

teneur est relativement indépendante du pouvoir alcoogène des levures. Par ailleurs, la production du glycérol est favorisée par une fermentation lente (SPONHOLZ et *al.*, 1974, a, b), ce qui était le cas pour notre expérimentation.

En ce qui concerne le butanediol-2,3 [D (—) et méso] les teneurs enregistrées varient considérablement d'une souche à une autre (tableaux VIII et IX) sans permettre une explication rationnelle.

CONCLUSIONS

Au cours de cette étude nous avons observé que la formation des produits volatils est très variable d'une souche levurienne à un autre. Cependant, ces différences restent le plus souvent limitées pour les souches appartenant à la même espèce ou à des espèces proches du point de vue de la classification.

En fonction des produits volatils formés il est possible de classer les levures étudiées en 4 groupes :

— Les levures alcoogènes notamment *Saccharomyces cerevisiae* forment les teneurs les plus élevées en alcools supérieurs et esters supérieurs ; ces substances sont en majeure partie responsables de l'arôme secondaire des vins, mais les concentrations relatives des différents esters sont variables en fonction des souches qui pourraient ainsi imprimer un caractère particulier à l'arôme des différents vins.

— Les levures moyennement alcoogènes produisent des quantités relativement faibles de substances volatiles. De plus elles ne jouent pas un rôle très important au cours de la fermentation alcoolique.

— Les levures peu alcoogènes, surtout les *Torulopsis* et les *Hanseniaspora* forment des quantités très faibles de produits volatils à l'exception de l'acétate d'éthyle qui est synthétisé par ces dernières en teneurs élevées. Ces levures doivent être éliminées par sulfitage de moûts avant la fermentation.

— Les levures pathogènes *(Pichia, Saccharomycodes ludwigii)* forment beaucoup d'acétate d'éthyle ; il faut donc absolument éviter leur développement à tous les stades de la vinification de la conservation du vin.

Manuscrit reçu le 5 juillet 1979.

RESUMÉ

L'étude par chromatographie en phase gazeuse des produits volatils formés par 50 souches de levures d'espèces diverses, isolées de la région NAOUSSA (Grèce) a montré que les levures les plus alcoogènes forment le plus de substances, en particulier d'esters, favorables à la qualité du vin.

SUMMARY

Investigation, by gas chromatography, on volatile products formed by 50 various yeast strains isolated in NAOUSSA vineyard (Greece) shows that the most alcohogene strains synthesize these substances, and particularly esters, in a greatest extent, this is favourable to the quality of the wine.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchung im Gaschromatogramm der flüchtigen Stoffe, die durch 50 Hefestämme diverser Arten gebildet werden, die in der Gegend von NAOUSSA (Griechenland) isoliert worden sind, hat gezeigt, dass die am meisten alkoholgenen Hefen die meisten flüchtigen Stoffe bilden, ganz besonders die Ester, welche die Qualität des Weines begünstigen.

RESUMEN

Se han estudiado, por cromatografia de gases, los productos volátiles formados por 50 cepas de distintas especies de levadura, aisladas en la régión de NAOUSSA (Grecia). Las levaduras más alcoholígenas forman mayor cantidad de dichas sustancias, sobre todo ésteres, favorables a la calidad del vino.

RIASSUNTO

Lo studio con cromatografia in fase gassosa dei prodotti volatili formati da cinquanta cloni di lieviti di qualità diverse, separati della regione di NAOUSSA (Grècia), ha dimostrato che i lieviti più alcoogeni formano il più grande numero di sostanze specialmente esteri favorevoli alla qualità del vino.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERTRAND A., 1968. Utilisation de la chromatographie en phase gazeuse pour le dosage des constituants volatils du vin. *Thèse 3e cycle,* Université de Bordeaux.

BERTRAND A., 1975. Recherches sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse. *Thèse doctorat ès Sciences,* Université de Bordeaux II.

BERTRAND A., MARLY-BRUGEROLLE C. et SARRE Ch., 1978. Influence du débourbage des moûts et du sulfitage sur les teneurs en substances volatiles des vins et des eaux-de-vie. — I. Etude des vins. *Connaissance Vigne Vin,* **12**, n° 1, 35-48.

CASTELLI T., 1973. L'écologie des levures. Colloque International d'Œnologie. Arc-et-Senans ; *Vignes et vins,* n° spécial (mai), 19-25.

DUBERNET M.O., 1974. Application de la chromatographie en phase gazeuse à l'étude des sucres et des polyols du vin. *Thèse 3e cycle,* Université de Bordeaux II.

GALZY P., 1973. Génétique des levures en œnologie. Colloque International d'Œnologie, Arc-en-Senans ; *Vignes et vins,* n° spécial (mai), 11-18.

GORANOV N., 1976. Dynamik der Bildung von Aromastoffen währenderalkoholishen Gärung von Traubenmost. Mitt. Rebe Wein obstbau Früchtevenwertg, Osterr. **26**, n° 11, 27-42.

LIEBICH H.M., KOENIG W.A. et BAYER E., 1970. Analysis of the flavor of Rum by Gas-liquid chromatography and Mass spectrometry. *J. Chromatogr.,* **8**, N° 9, 527-533.

NYKANEN L., NYKANEN I. et SUOMALAINEN H., 1977. Distribution of esters produced during sugar fermentation between the yeast cell and the medium. *J. Inst. Brewing,* **83**, 32-34.

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.

PARK Y.H., 1974. Contribution à l'étude des levures de Cognac. *Thèse 3e cycle,* Université de Bordeaux II.

PLESSIS C.S. (Du), 1975. Des substances dues à la fermentation et leur influence sur la qualité du vin. *IV Symposium International d'Œnologie,* Valence (Espagne), 397-413.

RANKINE B.C., 1967. Formation of higher alcohols by wine yeasts and relationship to taste thresholds. *J. Sci. Food Agricult.,* **18**, 583-589

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1972. Sciences et Techniques 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.

ROSET M., MARGULIS H. et BORGES F., 1971. Sur quelques levures dites « sauvages » et les substances volatiles qu'elles produisent dans un jus de raisin. *Ind. Alim. Agric.,* **88**, mai, 647-653.

SALO P., NYKANEN L. et SUOMALAINEN H., 1972. Odor tresholds and relative intensities of volatile aroma components in an artificial beverage imitating whisky. *J. Food Sci.,* **37**, N° 3, 394-398.

SOUFLEROS E., PANERAS E. et SAPIS-DOMERCQ S., 1979. Etude écologique de la microflore levurienne de la région viticole de Naoussa. *Connaissance Vigne Vin,* **13**, N° 2, 137-148.

SPONHOLZ W.R. et DITTRICH H.H., 1974. Die Bildung von SO_2 — bindenden Gärungs. Nebenproducten, höherer Alkoholen und Estern bei einigen Reinzuchthefestämmen und bei einigen für die weinbereitung wichtigen « wilden » Hefen. *Wein Wiss.,* **6**, 301-314.

SPONHOLZ W.R., DITTRICH H.H., et STRECKER H., 1974. Die Gärungs Nebenproduckt Bildung einiger für die weinbereitung wichtiger Hefen. *Zbl. Bact. Abt. H.*, **129**, N°7, 610-616.

SUOMALAINEN H., 1971. Yeast and its effect on the flavour of alcoholic beverages. *J. Inst. Brewing.*, **77**, 164-177.