

Incidence des conditions de conservation des vins blancs sur leur teneur en composés soufrés volatils

S. KARAGIANNIS et P. LANARIDIS

Institut du Vin d'Athènes (N.AG.RE.F.), Lykovrissi, Athènes, Grèce

Résumé

Dans ce travail, nous avons étudié l'incidence de quelques paramètres de conservation des vins issus des cépages blancs grecs, Batiki et Rhoditis, sur leur teneur en composés soufrés volatils. Il est démontré que le stade du sulfitage des vins nouveaux joue un rôle important sur la formation de ces substances, ainsi que l'aération qui entraîne leur diminution. De plus, la conservation des vins en barrique ou en cuve, avec les lies ou non, influence d'une manière différente la teneur des vins en substances soufrées volatiles.

Influence of white wine conservation conditions on the levels of volatile sulphur compounds

S u m m a r y : In the present study, the effects of various parameters of white wine conservation on the level of volatile sulphur compounds were examined. Wines from the Greek white cvs Batiki and Rhoditis were fermented. H_2S was analysed colorimetrically, the more volatile sulphur compounds by headspace-gas chromatography (GC) coupled with flame photometry detection (FPD) and the less volatile sulphur compounds by liquid extraction-GC/MS. The best time to sulphurize a young wine is 5-6 d after the end of alcoholic fermentation in order to avoid the accumulation of sulphur substances, especially in wines intended to age on lees. Aeration of wine causes a notable decrease of the more volatile sulphur compounds, whereas the diminution is less important for the less volatile sulphur compounds. Furthermore, the amount of volatile sulphur compounds is affected by the conservation of wines in barriques or in stainless tanks, the duration of contact of wine with its lees, as well as the duration of conservation.

Key words : conservation, sulphur compounds, hydrogen sulfide, Greek wines.

Introduction

Parmi les défauts organoleptiques des vins, ceux dus aux composés soufrés volatils sont les plus importants pour

deux raisons. D'une part, ces composés possèdent, le plus souvent des odeurs caractéristiques et nauséabondes, et d'autre part, leur seuil de perception olfactive est particulièrement bas. Les composés soufrés impliqués dans des défauts olfactifs peuvent être répartis en deux catégories, en fonction de leur point d'ébullition: les composés soufrés "lourds" ou "supérieurs" (point d'ébullition supérieur à 90 °C) et les composés soufrés "légers" (point d'ébullition inférieur à 90 °C) (CHATONNET *et al.* 1992; LAVIGNE *et al.* 1992, 1993; ANOCIBAR-BELOQUI *et al.* 1995; BAYONOVE *et al.* 1998; RAUHUT *et al.* 1999).

En ce qui concerne les origines de ces substances, cinq, au moins, sont à envisager. Il s'agit des composés soufrés volatils "naturels" des moûts (ESCHENBRUCH *et al.* 1986), des composés soufrés volatils dont l'origine est en relation avec les traitements phytosanitaires (MAUJEAN 1989; NEDJMA 1995), des composés soufrés volatils d'origine thermique (COLAGRANDE *et al.* 1988), des composés soufrés volatils d'origine fermentaire (BAYONOVE *et al.* 1998) et des composés soufrés volatils qui se développent au cours de la conservation (MAUJEAN et SEGUIN 1983; LAVIGNE 1995).

La majorité de ces substances apparaît lors de la fermentation alcoolique. La composition du milieu fermentaire a une grande influence sur leurs voies de biosynthèse. En particulier, la carence de certains moûts en azote facilement assimilable est un paramètre fréquemment cité dans la littérature pour expliquer la production accrue d'hydrogène sulfuré (VOS et GRAY 1979; STRATFORD et ROSE 1985; MONK 1986; JIRANEK *et al.* 1995). Toutefois, l'interprétation des mécanismes de cette formation diffère selon les auteurs.

L'incidence des paramètres de la vinification sur la formation de composés soufrés volatils dans les vins a déjà été signalée (CHATONNET *et al.* 1992; LAVIGNE *et al.* 1992, 1993; ANOCIBAR-BELOQUI *et al.* 1995; RAUHUT *et al.* 1995; LAVIGNE-CRUÈGE 1996; KARAGIANNIS et LANARIDIS 1999; RAUHUT *et al.* 1999; KARAGIANNIS *et al.* 2000). Un niveau de trouble (turbidité) élevé dans le moût ainsi qu'une température de fermentation élevée entraînent une augmentation des teneurs en ces substances dans le vin. Leur concentration est aussi augmentée lorsque le niveau de sulfitage des moûts est élevé. Enfin, d'autres paramètres tels que la teneur en soufre résiduel dans le moût résultant de traitements phytosanitaires du vignoble, la durée de macération, le fractionnement des jus, la souche de levure qui

réalise la fermentation alcoolique et malolactique interviennent également dans la formation de composés soufrés volatils.

L'incidence des conditions de conservation des vins sur leur teneur en composés soufrés volatils a été moins étudiée. Il a été montré que le séjour des vins sur lies, la pression exercée sur celles-ci et la géométrie des cuves influencent la quantité de certains composés soufrés volatils (LAVIGNE 1995; LAVIGNE-CRUÈGE 1996). L'aptitude des lies fraîches ou des parois des levures à fixer certains thiols volatils a aussi été examinée (LAVIGNE et DUBOURDIEU 1996).

Dans ce travail, nous avons étudié l'influence de certains paramètres de la conservation des vins de Batiki et Rhoditis sur la formation de composés soufrés volatils légers et lourds. Il s'agit de choix technologiques tels le stade du sulfitage des vins nouveaux, la conservation en barriques ou en cuves, l'aération des vins ou leur séjour sur lies totales de levures.

Matériel et Méthodes

1. Protocole expérimental

Les essais sont effectués sur des vins des cépages blancs Batiki et Rhoditis, issus de raisins récoltés et vinifiés en 1998 à l'Institut du Vin d'Athènes.

Incidence du stade de sulfitage des vins sur la teneur en composés soufrés volatils : Dans cet essai, un moût du cépage Batiki (120 l), qui a été sulfité à 80 mg l⁻¹ et dont la turbidité a été ajustée à 200 NTU, a fermenté à température située entre 20 et 22 °C. Dès l'achèvement de la fermentation alcoolique, la moitié de la quantité du vin a été soutirée et divisée en 4 lots de même volume (1^{er} groupe). Le reste, avec les lies, a été homogénéisé et puis divisé également en 4 lots de même volume (2^{ème} groupe). Un vin de chaque groupe a été sulfité à la dose de 50 mg l⁻¹ immédiatement, un autre 2 jours après et un troisième 6 jours après la fin de la fermentation alcoolique. En outre, un vin de chaque groupe n'a pas été sulfité. Dix jours après le sulfitage, on a dosé les composés soufrés légers et lourds.

Incidence du mode de conservation et d'aération sur la teneur en composés soufrés volatils : Dans cet essai, un moût du cépage Rhoditis (465 l), sulfité à 100 mg l⁻¹ a fermenté à température entre 24 et 28 °C. Cinq jours après la fin de la fermentation alcoolique, le vin a été soutiré, sulfité à 40 mg l⁻¹ et puis divisé en 4 lots placés dans des récipients différents: Une quantité (90 l) dans une cuve inox, deux autres (2 x 90 l) dans deux barriques, et le reste (80 l), après addition de 10 l de lies grosses, dans une autre barrique.

Les vins sont conservés pendant 2 mois sous les mêmes conditions de température et d'humidité. Un des vins soutirés, a été aéré une fois, à l'aide d'une pompe, 15 jours après la mise en barrique. A la fin de chaque mois on a dosé les composés soufrés volatils.

2. Méthodes d'analyse

Dosage de l'hydrogène sulfuré (H₂S) : Le dosage de l'hydrogène sulfuré a été réalisé par la méthode décrite par ACREE *et al.* (1971). Les caractéristiques de cette méthode colorimétrique ont été rapportées par THOMAS *et al.* (1993). Le coefficient de variation, estimé par 10 analyses du même vin blanc sec contenant 11,8 µg l⁻¹ de H₂S, est de 4,2 %. Dans nos conditions opératoires la limite de dosage se situe autour de 1,0 µg l⁻¹ bien que ACREE *et al.* (1971) ont calculé cette limite à 0,1 µg l⁻¹.

Dosage des composés soufrés légers : Les composés soufrés légers disulfure de carbone (CS₂), sulfure de diméthyle (DMS) et disulfure de diméthyle (DMDS) ont été extraits par la technique de l'espace de tête statique et dosés par chromatographie en phase gazeuse. Des méthodes de dosage des composés soufrés volatils dans les vins qui utilisent cette technique ont été publiées (DE MORA *et al.* 1987; CHATONNET 1993; LAVIGNE *et al.* 1993; VIDAL *et al.* 1996). Le principe de la technique d'espace de tête en mode statique a été décrit par CHATONNET (1993). Le vin (370 ml), additionné de 1 ml d'étalon interne (thiophène à 1,7 mg l⁻¹), est placé dans un flacon de 500 ml, hermétiquement fermé à l'aide d'un bouchon de silicone (volume d'espace de tête: 130 ml). Après une équilibration entre les deux phases pendant 2 h à 60 °C et à l'obscurité, on prélève 2 ml de gaz à l'aide d'une syringe (gas tight-SGE) pour l'injecter au chromatographe (Varian 3300).

La séparation des composés s'effectue sur une colonne Chrompack (4 m x 1/8" x 2 mm) remplie d'un support (Chromosorb WHP, 80-100 mesh) imprégné à 10 % de la phase stationnaire Silicone DC-200. Le gaz vecteur est l'azote (pression en tête de colonne: 38 psi, flux: 30 ml min⁻¹). La programmation de température débute par un isotherme de 5 min à 45 °C. On élève ensuite la température à raison de 6 °C min⁻¹ jusqu'à atteindre 100 °C. L'injecteur est maintenu à 115 °C.

Le chromatographe est équipé d'un détecteur à photométrie de double flamme (365 nm). Le détecteur est ajusté à 200 °C et il est alimenté d'hydrogène (flux: 145 ml min⁻¹) et d'air (flux 1: 80 ml min⁻¹, flux 2: 170 ml min⁻¹) suivant les indications du fabricant.

Les courbes de réponse du détecteur en fonction de la concentration sont déterminées par injections successives de volumes gazeux de solutions hyalocooliques 12 % vol. (acide tartrique 5 g l⁻¹ et NaOH 2 N pour ajuster le pH 3,5) de concentrations connues en composés soufrés légers. Les solutions de référence de CS₂, DMS et DMDS ont été procurées par Aldrich Co.

Dosage des composés soufrés lourds : L'extraction des composés soufrés lourds a été effectuée selon la méthode décrite par CHATONNET *et al.* (1992), LAVIGNE *et al.* (1992), CHATONNET (1993), et LAVIGNE-CRUÈGE (1996). Après clarification par centrifugation à 5000 g pendant 15 min, 50 ml de vin sont extraits par 10, 5, 5 ml de dichlorométhane (agitation pendant 5 min) en présence d'un antioxydant (di-tert-butyl-paracresol: 4 mg l⁻¹). On ajoute 0,2 ml d'étalon interne

(isothiocyanate d'allyle à $50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Les phases organiques sont séparées par décantation statique dans une ampoule à décanter, réunies, déshydratées à Na_2SO_4 et puis lentement concentrées sous courant d'azote, jusqu'à environ $600 \text{ } \mu\text{l}$.

Les composés sont dosés par le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CPG/SM) comme il est décrit par KARAGIANNIS et LANARIDIS (1999): $2 \text{ } \mu\text{l}$ de l'extrait sont injectés en mode splitless de $0,7 \text{ min}$ dans un chromatographe HP 6890, couplé à un spectromètre de masse HP 5972. La colonne utilisée est de type Innowax: $25 \text{ m} \times 0,2 \text{ mm} \times 0,2 \text{ } \mu\text{m}$ (épaisseur du film). La température initiale du four est de $50 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 5 min puis elle est programmée avec un incrément de $3 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ jusqu'à $185 \text{ }^\circ\text{C}$. Le gaz vecteur est l'hélium (pression en tête de colonne: $17,2 \text{ psi}$, flux: $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$) et l'injection est pratiquée à $220 \text{ }^\circ\text{C}$. Le spectromètre de masse travaille en impact électronique (énergie d'ionisation: 70 eV , température de la source: $195 \text{ }^\circ\text{C}$). L'identification des composés est réalisée par comparaison des spectres de masse et des temps de rétention relatifs par rapport à des composés de référence. Quand les solutions de référence n'étaient pas disponibles, l'identification a été effectuée par comparaison des spectres à celles données par RAPP *et al.* (1985) ou par la bibliothèque des spectres de masse NBS54k. Pour le dosage nous avons utilisé le mode de sélection d'ions SIM (Selected Ion Monitoring). Les solutions de référence étaient disponibles pour méthionol, acide-3-méthylthiopropionique, 2-méthylthio-éthanol (Aldrich Co) et 3-méthylthio-propanoate d'éthyle (Vioryl Co). La teneur en 2-méthyl-tétrahydro-thiophén-3-one a été estimée en utilisant comme référence le tétrahydro-thiophén-3-one (Aldrich Co) et les *cis* et *trans* 2-méthyl-thiophan-3-ol ont été évaluées par la variation du rapport $(\text{SP}/\text{SEI}) \times 100$ où SP désigne la surface du pic considéré (Surface du Pic) et SEI celle de l'étalon interne (Surface d'Etalon Interne; RAUHUT *et al.* 1995). Les courbes d'étalonnage sont tracées en utilisant des solutions hydralcooliques $12 \text{ } \%$ vol. (acide tartrique 5 g l^{-1} et NaOH 2 N pour ajuster le pH $3,5$).

Avant de procéder aux dosages de composés soufrés volatils, nous avons testé la répétabilité des méthodes d'analyse et la récupération d'ajouts dosés dans un vin blanc. Tab. 1 reprend les analyses de 7 échantillons du même vin blanc sec (concentrations/coefficients de variation) et les pourcentages de récupérations des ajouts qui sont satisfaisantes.

Résultats et Discussion

Incidence du stade de sulfitage des vins : Tab. 2 présente la variation de teneur en hydrogène sulfuré (H_2S) et en autres composés soufrés volatils légers par rapport au stade du sulfitage des vins de cépage Batiki. Le vin soutiré et non sulfité sert de témoin.

Parmi les vins soutirés, celui qui a été sulfité immédiatement après l'achèvement de la fermentation alcoolique présente une concentration en H_2S élevée qui appro-

che son seuil de perception (WENZEL *et al.* 1980). Si le sulfitage a lieu 2 jours après, cette teneur est particulièrement faible et elle ne varie pas par rapport à celle du témoin. Parmi les vins non soutirés, celui qui a été sulfité juste après la fermentation alcoolique avait la teneur la plus élevée en H_2S ($0,6 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Ce vin a donné des odeurs très désagréables, caractéristiques de l'œuf pourri. Au contraire, les vins sulfités 2 et 6 jours après l'achèvement de la fermentation alcoolique présentent des concentrations en H_2S remarquablement diminuées. De plus, il n'y a presque aucune différence entre les teneurs en H_2S des vins séparés et non séparés de leurs lies et dont le sulfitage a été effectué 6 jours après la fin de la fermentation. Nos observations confirment les résultats obtenus par LAVIGNE-CRUÈGE (1996) et LAVIGNE et DUBOURDIEU (1997) qui montrent qu'un sulfitage effectué immédiatement après la fin de la fermentation alcoolique, sur biomasse totale, entraîne par rapport au témoin non sulfité, une augmentation importante de la teneur en H_2S des vins de Sémillon. En revanche, lorsque le sulfitage est différé, la formation d' H_2S diminue pour devenir quasi nulle au delà d'une dizaine de jours.

Ces résultats montrent clairement que l'activité de la sulfite réductase, enzyme des levures (YOSHIMOTO et SATO 1968), est capable de former des concentrations importantes en H_2S , même après la fermentation alcoolique. Ces quantités peuvent approcher et même dépasser le seuil de perception de H_2S dans le vin et générer ainsi des odeurs nauséabondes. Il semble que la sulfite réductase cesse d'être active 2-6 jours après l'achèvement de la fermentation. D'après LAVIGNE-CRUÈGE (1996), l'activité sulfite réductase dans un vin blanc élevé sur lies totales n'est pas détectable 10 jours après la fin de la fermentation alcoolique.

En plus, la teneur en disulfure de carbone (CS_2) est élevée dans les vins sulfités immédiatement après la fin de la fermentation et surtout dans le vin maintenu sur lies totales. Comme dans le cas de H_2S , on observe une diminution de la quantité de CS_2 quand l'addition de SO_2 s'effectue 2 ou 6 jours après l'achèvement de la fermentation alcoolique. Cependant, la concentration en CS_2 reste considérablement élevée dans tous les vins qui sont conservés sur lies totales par rapport à ceux qui sont soutirés. Ce phénomène pourrait être expliqué par la dégradation de certaines substances de la matière végétale (ESCHENBRUCH *et al.* 1986), qui sont présentes dans les lies grossières et qui conduisent à la formation de CS_2 .

En ce qui concerne le sulfure de diméthyle (DMS), sa concentration reste invariable dans les vins soutirés et sulfités à différents moments. Au contraire, dans le cas des vins non soutirés, celui qui a été sulfité juste après la fin de la fermentation alcoolique contient une quantité de DMS très élevée ($70 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), notablement supérieure au seuil de perception ($25 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$), estimé par GONIAK *et al.* (1987). Cependant, la teneur en ce composé n'est pas influencée si le sulfitage se réalise 2 ou 6 jours après la fin de la fermentation.

La concentration en disulfure de diméthyle (DMDS) demeure presque invariable dans tous les vins, soutirés ou non, à l'exception du vin qui n'a pas été sulfité et dont la concentration est assez élevée. On peut penser que la pré-

Tableau 1

Répétabilité des analyses et récupération d'ajouts dosés dans un vin blanc
 Repeatability of analyses and recovery of known amounts in a white wine

Composés soufrés légers (a) et lourds (b)	Concentration ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Coefficient de variation (%)	Quantité initiale ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Quantité ajoutée ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Quantité retrouvée ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Récupération (%)
(a) CS ₂	1,8	3,3	1,3	0,5	1,6	89
DMS	1,1	4,1	4,0	2,3	6,1	97
DMDS	0,7	5,8	0,5	0,4	0,7	73
(b) Méthionol	1912	2,1	1721	528	2375	106
Acide 3-méthylthio-propionique	63	4,9	57	42	97	98
3-Méthylthio-propanoate d'éthyle	2,9	2,8	2,6	4,4	7,6	109
2-Méthylthio-éthanol	167	4,6	150	19	183	108

CS₂: disulfure de carbon; DMS: sulfure de diméthyle; DMDS: disulfure de diméthyle.

Tableau 2

Variation des teneurs en composés soufrés légers des vins ($\mu\text{g l}^{-1}$) du cépage Batiki en fonction du stade de sulfitage après fermentation alcoolique. CS₂, DMS, DMDS: voir Tab. 1

Influence of time of SO₂ addition to Batiki wines after alcoholic fermentation on levels of light sulphur compounds

Date du sulfitage des vins	H ₂ S	CS ₂	DMS	DMDS
Vins soutirés				
Fin de la fermentation	51	4,4	0,7	0,7
2 jours après	15	3,0	0,6	0,8
6 jours après	13	2,6	0,6	1,0
Sans SO ₂ (témoin)	14	1,9	0,6	3,0
Vins non soutirés				
Fin de la fermentation	607	17,3	70	0,5
2 jours après	22	5,9	0,9	0,5
6 jours après	15	4,9	1,0	0,7
Sans SO ₂	15	4,0	0,7	1,2

sence du SO₂ dans le vin au cours de la conservation, empêche l'oxydation de méthane-thiol en disulfure de diméthyle. Néanmoins, les concentrations en DMDS rapportées au Tab. 2, sont significativement inférieures au seuil de perception ($29 \mu\text{g l}^{-1}$; GONJAC *et al.* 1987).

La variation des teneurs des vins en composés soufrés volatils lourds en fonction du moment de leur sulfitage est donnée dans Tab 3. On observe que l'influence de la date de sulfitage sur la quantité des composés soufrés lourds des vins soutirés est limitée. Toutefois, le vin sulfité 2 jours après la fin de la fermentation alcoolique présente des teneurs en ces composés relativement élevées tandis que

celui sulfité juste après la fin de la fermentation a les teneurs les plus basses. On peut penser que l'addition de SO₂, immédiatement après la fin de la fermentation, limite la biosynthèse du méthionol et de ses dérivés (méthionol, acide-3-méthylthiopropionique, 3-méthylthio-propanoate d'éthyle) à partir de la méthionine par les enzymes des levures (ANOCIBAR-BELOQUI *et al.* 1995). De même, il paraît que la transformation du méthionine en 2-méthyl-tétrahydrothiophén-3-one et en *cis* et *trans* 2-méthylthiophan-3-ol (BAYONOVE *et al.* 1998) se limite quand le sulfitage se réalise immédiatement après la fin de la fermentation alcoolique. Néanmoins, on observe que les teneurs en ces composés sont aussi diminuées aux vins sulfités 6 jours après l'achèvement de la fermentation ou pas du tout. En ce qui concerne le 2-méthylthio-éthanol, puisque le mécanisme de sa formation n'est pas précisé, nous ne sommes pas capables de fournir une interprétation de la variation de sa concentration. Il paraît donc que le sulfitage des vins soutirés doit être effectué 5-6 jours après l'achèvement de la fermentation alcoolique afin d'éviter un accroissement possible des quantités des composés soufrés lourds.

De même, pour les vins non soutirés, on constate que ceux qui ont été sulfités juste après la fin de la fermentation contiennent les concentrations les plus basses en ces composés par rapport aux autres. En plus, on n'observe pas de différences significatives aux teneurs en ces substances, quand on sulfite 2 ou 6 jours après la fermentation alcoolique ou pas du tout. Il semble donc que l'addition immédiate de SO₂ après la fermentation, limite la formation des composés soufrés volatils lourds par les enzymes des levures, en opposition avec ce qui se passe dans le cas des H₂S, CS₂ et DMS.

De plus, on observe que l'acide-3-méthylthio-propionique et son ester éthylique se forment en quantités supérieures dans le cas des vins non soutirés par rapport à ceux soutirés. On peut faire l'hypothèse que la transfor-

Tableau 3

Variation des teneurs en composés soufrés lourds des vins du cépage Batiki en fonction du stade de sulfitage après fermentation alcoolique

Influence of time of SO₂ addition to Batiki wines after alcoholic fermentation on levels of heavy sulphur compounds

Date du sulfitage des vins	Méthionol (mg l ⁻¹)	Acide-3-méthylthiopropionique (µg l ⁻¹)	3-Méthylthio-propanoate d'éthyle (µg l ⁻¹)	2-Méthylthio-éthanol (µg l ⁻¹)	2-Méthyl-tétrahydrothiophén-3-one (µg l ⁻¹)	<i>cis</i> 2-méthylthiophan-3-ol *	<i>trans</i> 2-méthylthiophan-3-ol *
Vins soutirés							
Fin de la fermentation	2,1	102	1,2	153	117	3,5	3,4
2 jours après	2,8	145	2,0	210	141	4,6	4,5
6 jours après	2,2	109	1,6	150	111	3,7	3,7
Sans SO ₂ (témoin)	2,2	110	1,7	156	113	3,8	3,6
Vins non soutirés							
Fin de la fermentation	2,2	122	2,5	156	117	4,3	3,9
2 jours après	2,8	159	3,2	200	129	5,8	5,4
6 jours après	2,8	152	3,7	201	127	6,0	5,3
Sans SO ₂	2,7	147	3,2	202	137	6,0	5,2

* évaluées par la variation du rapport (SP/SEI)x100 où SP designe la surface du pic considéré et SEI celle de l'étalon interne.

mation de méthionine en acide-3-méthylthiopropionique (ANOCIBAR-BELOQUI *et al.* 1995), par les enzymes des levures est favorisée par la présence de lies totales.

Incidence du mode de conservation et d'aération : Tab. 4 regroupe les teneurs en composés soufrés volatils légers des vins du cépage Rhoditis au cours des deux premiers mois de conservation.

La conservation du vin soutiré en cuve ou en barrique ne présente aucune influence à la quantité de H₂S. En outre, au bout du deuxième mois de conservation on observe une diminution de la concentration en H₂S et ceci indépendamment du récipient. D'après LAVIGNE-CRUÈGE (1996), les teneurs en H₂S des vins blancs soutirés et puis élevés sur lies fines en cuve ou en barrique demeurent presque invariables pendant les premières semaines d'élevage. La concentration en CS₂ est augmentée pendant la conservation du vin en cuve, tandis qu'au vin maintenu en barrique elle reste stable, du moins pendant les deux premiers mois. On ne peut pas exclure que l'oxygène qui pénètre le bois ou les substances extraites du bois limitent l'accumulation de CS₂. LAVIGNE-CRUÈGE (1996), a aussi observé que la teneur en CS₂ se stabilise lors de l'élevage d'un vin soutiré en barrique.

La concentration en DMS est légèrement supérieure dans le vin conservé en barrique par rapport à celle du vin conservé en cuve. Cependant, dans tous les cas, la quantité de DMS augmente considérablement pendant la conservation du vin. D'ailleurs, MARAIS (1979) a montré que la concentration en DMS dans les vins blancs embouteillés, augmente en fonction du temps. Selon DE MORA *et al.* (1986), le précurseur directe du DMS dans les vins est la cystéine,

Tableau 4

Variation des teneurs en composés soufrés légers des vins (µg l⁻¹) du cépage Rhoditis au cours de conservation. CS₂, DMS, DMDS: voir Tab. 1

Variation of light sulphur compounds in wines during conservation (cv. Rhoditis)

Temps de conservation des vins	H ₂ S	CS ₂	DMS	DMDS
Fin de la fermentation	4,0	1,2	0,8	0,4
1 mois				
Barrique (Témoin)	4,0	1,3	1,8	0,8
Cuve	4,0	1,8	1,6	0,5
Barrique + aération	2,8	1,0	1,3	0,6
Barrique + lies	7,5	4,9	1,9	1,0
2 mois				
Barrique (Témoin)	3,5	1,3	3,7	0,8
Cuve	3,5	2,1	3,2	0,6
Barrique + aération	2,5	1,2	3,1	0,6
Barrique + lies	10,5	8,7	3,9	1,1

en particulier lorsqu'ils sont conservés sur lies. La teneur en DMDS est plus élevée dans le vin conservé en barrique. En même temps on constate qu'elle s'accroît pendant le

premier mois de conservation et ensuite reste presque invariable. L'aération du vin conservé en barrique a conduit à la diminution de la concentration en composés soufrés légers comparée à celle du vin élevé en barrique sans aération (témoin). En effet, les teneurs en H₂S ont diminué de 30 % tandis que celles en CS₂, DMS et DMDS ont diminué de 20-30 %.

Le séjour du vin en barrique, en contact avec ses lies totales, a conduit à des teneurs en H₂S, CS₂ et DMDS plus élevées par rapport au témoin. En outre, ces teneurs augmentent pendant le deuxième mois d'élevage, tandis que dans le cas du témoin, les concentrations en CS₂ et DMDS demeurent invariables et celle du H₂S diminue. Il faut noter que la teneur en CS₂ du vin conservé sur ses lies totales pour deux mois, est presque 7 fois plus élevée que celle du vin séparé de ses lies. Ces résultats confirment l'observation déjà discutée, que le séjour d'un vin sur lies totales conduit à l'augmentation de la concentration en CS₂. En revanche nos résultats pour H₂S et CS₂ ne sont pas en accord avec ceux de LAVIGNE (1995) et LAVIGNE-CRUÈGE (1996) montrant que au cours du premier mois d'élevage des vins de Sauvignon blanc en barrique sur lies totales, la teneur en H₂S reste stable aux vins réduits ou diminue aux vins non réduits tandis que celle en CS₂ est toujours stable.

Les quantités de DMS ne présentent pas de différences remarquables entre le vin élevé en barrique sur lies totales et le témoin. Il semble donc que la teneur en DMS

s'accroît pendant la conservation d'une manière pareille, indépendamment du récipient et de la présence ou non de lies. Les travaux de DE MORA *et al.* (1986) ont montré que la conservation prolongée des vins sur lies favorise l'accumulation de DMS. LAVIGNE-CRUÈGE (1996) a aussi observé que la concentration en DMS augmente pendant le séjour des vins de Sauvignon blanc en barriques sur lies totales.

Les teneurs en composés soufrés volatils lourds des vins issus du cépage Rhoditis pendant les deux premiers mois d'élevage sont données au Tab 5. On constate que les teneurs en ces composés sont presque les mêmes quel que soit le récipient (cuve, barrique). Les petites différences des valeurs de ces concentrations sont statistiquement insignifiantes, du moins pendant le premier mois d'élevage. Entre le premier et le deuxième mois, les quantités de l'acide-3-méthylthiopropionique, du 2-méthylthio-éthanol (des vins conservés en cuve ou en barrique) et des composés hétérocycliques (seulement du vin conservé en barrique) diminuent tandis que la teneur en méthylthio-3-propanoate d'éthyle augmente considérablement, surtout dans le vin élevé en barrique. Il semble que l'estérification de l'acide-3-méthylthiopropionique avec l'éthanol se réalise constamment pendant la conservation des vins.

L'aération provoque la diminution des composés soufrés lourds bien que la majorité de ces substances ait des points d'ébullition assez élevés. La diminution est aussi

Tableau 5

Variation des teneurs en composés soufrés lourds des vins du cépage Rhoditis au cours de conservation

Variation of heavy sulphur compounds in wines during conservation (cv. Rhoditis)

Temps de conservation des vins	Méthionol (mg l ⁻¹)	Acide-3-méthylthiopropionique (µg l ⁻¹)	3-Méthylthio-propanoate d'éthyle (µg l ⁻¹)	2-Méthylthio-éthanol (µg l ⁻¹)	2-Méthyl-tétrahydro-thiophén-3-one (µg l ⁻¹)	<i>cis</i> 2-méthylthiophan-3-ol *	<i>trans</i> 2-méthylthiophan-3-ol *
Fin de la fermentation	2,7	147	1,1	92	164	3,6	3,7
1 mois							
Barrique (Témoin)	2,7	163	1,3	101	162	4,1	4,0
Cuve	2,7	166	1,4	102	166	4,0	3,8
Barrique + aération	2,4	144	1,0	88	134	3,5	3,5
Barrique + lies	2,7	168	1,4	101	165	4,0	3,9
2 mois							
Barrique (Témoin)	2,5	135	1,8	94	151	3,6	3,7
Cuve	2,6	142	1,5	96	172	4,1	3,9
Barrique + aération	2,3	124	1,2	87	131	3,2	3,3
Barrique + lies	2,6	157	2,7	102	161	3,9	3,9

* évaluées par la variation du rapport (SP/SEI)x100 où SP désigne la surface du pic considéré et SEI celle de l'étalon interne.

apparente à l'acide-3-méthylthiopropionique qui est la moins volatile de ces substances sulfureuses. Malheureusement, il est très probable que l'aération entraîne aussi la diminution des composés volatils (terpénols, alcools supérieurs, esters éthyliques d'acides gras) qui ont une influence positive sur l'arôme du vin et dont les points d'ébullitions sont proches de ceux des composés soufrés lourds. Toutefois la diminution des composés soufrés volatils lourds est seulement de 10 à 13 %, ce qui indique que ces substances continuent à influencer l'odeur du vin. Enfin, il n'y a aucune variation aux teneurs en composés soufrés lourds entre le vin élevé en barrique sur lies et le témoin, pendant le premier mois d'élevage, tandis que pendant le deuxième mois ces quantités sont légèrement supérieures dans le cas du vin conservé sur lies, excepté le 3-méthylthio-propanoate d'éthyle, dont la teneur est sensiblement augmentée.

Conclusion

Le moment du sulfitage le plus convenable pour les vins nouveaux, en particulier pour ceux qui sont en contact avec leur lies, afin d'éviter l'apparition des odeurs sulfureuses, semble être 5-6 jours après la fin de la fermentation alcoolique. Le maintien des vins soutirés immédiatement après la fin de la fermentation alcoolique et conservés en cuve ou en barrique, n'entraîne pas la formation des odeurs de réduction pendant les deux premiers mois de conservation. Au contraire le séjour des vins en barrique sur lies totales, pour le même temps, entraîne une augmentation significative aux teneurs en ces composés et peut conduire à l'apparition des défauts olfactifs. On peut toujours diminuer les quantités des substances soufrées les plus volatiles, en utilisant l'aération bien que cette opération peut compromettre la qualité aromatique du vin.

Remerciement

Ce travail a été financé par la Division des Affaires Scientifiques de l'OTAN dans le cadre du programme "Science for Stability".

Références bibliographiques

- ACREE, T. E.; SONOFF, E. P.; SPLITTSTOESSER, D. F.; 1971: Determination of hydrogen sulfide in fermentation broths containing SO₂. *Appl. Microbiol.* **22**, 110-112.
- ANOCIBAR-BELOQUI, A.; GUEDES DE PINHO, P.; BERTRAND, A.; 1995: Importance de la N-3-(méthylthiopropyl)acétamide et de l'acide 3-méthylthiopropionique dans les vins. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **29**, 17-26.
- BAYONOVE, C.; BAUMES, R.; CROUZET, J.; GÜNATA, Z.; 1998: Arômes. Dans: *Oenologie. Fondements Scientifiques et Technologiques*, 193-196. Lavoisier TEC & DOC, Paris.
- CHATONNET, P.; 1993: Analyse des phénols volatils et des composés soufrés des vins par chromatographie en phase gazeuse. Dans: *Les Acquisitions Récentes en Chromatographie du Vin*, 121-149. Porto 31 Mars - 3 Avril 1992. Lavoisier TEC & DOC, Paris.
- ; LAVIGNE, V.; BOIDRON, J. N.; DUBOURDIEU, D.; 1992: Identification et dosage de sulfures volatils lourds dans les vins par chromatographie en phase gazeuse et photométrie de flamme. *Sci. Alim.* **12**, 513-532.
- COLAGRANDE, O.; MAZZOLENI, V.; SILVA, A.; 1988: Genesi degli odori e sapori anomali dei vini. Seminario su: Odori e Sapori Anomali dei Vini. *Rassegna Economica della Provincia di Alessandria*, no. 3, Supplemento no. 4, 10-21.
- DE MORA, S. J.; ESCHENBRUCH, R.; KNOWLES, S. J.; SPEDDING, D. J.; 1986: The formation of dimethyl sulphide during fermentation using a wine yeast. *Food Microbiol.* **3**, 27-32.
- ; KNOWLES, S. J.; ESCHENBRUCH, R.; TORREY, W. J.; 1987: Dimethyl sulphide in some Australian red wines. *Vitis* **26**, 79-84.
- ESCHENBRUCH, R.; DE MORA, S. J.; KNOWLES, S. J.; LEONARD, W. K.; FORRESTER, T.; SPEDDING, D. J.; 1986: The formation of volatile sulphur compounds in unclarified grape juice. *Vitis* **25**, 53-57.
- GONIAK, O. J.; NOBLE, A. C.; 1987: Sensory study of selected volatile sulfur compounds in white wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **38**, 223-227.
- JIRANEK, V.; LANGRIDGE, P.; HENSCHKE, P. A.; 1995: Regulation of hydrogen sulfide liberation in wine-producing *Saccharomyces cerevisiae* strains by assimilable nitrogen. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 461-467.
- KARAGIANNIS, S.; LANARIDIS, P.; 1999: The effect of various vinification parameters on the development of several volatile sulfur compounds in Greek white wines of the cultivars Batiki and Muscat of Hamburg. *Am. J. Enol. Vitic.* **50**, 334-342.
- ; --; TOULOUPIS, K.; 2000: Determination of some light and heavy volatile sulfur compounds in Greek white wines. The role of various winemaking practices on their production. Dans: A. LONVAUD-FUNEL (Ed.): VI. Symp. Int. d'Oenologie, Bordeaux 10-12 Juin 1999, 309-313. Lavoisier TEC & DOC, Paris.
- LAVIGNE, V.; 1995: Interprétation et prévention des défauts olfactifs de réduction lors de l'élevage sur lies totales. *Rev. Fr. Oenol.* (155), 36-39.
- ; BOIDRON, J. N.; DUBOURDIEU, D.; 1992: Formation des composés soufrés lourds au cours de la vinification des vins blancs secs. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **26**, 75-85.
- ; --; --; 1993: Dosage des composés soufrés volatils légers dans les vins par chromatographie en phase gazeuse et photométrie de flamme. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **27**, 1-12.
- LAVIGNE, V.; DUBOURDIEU, D.; 1996: Mise en évidence et interprétation de l'aptitude des lies à éliminer certains thiols volatils du vin. *J. Int. Sci. Vigne Vin* **30**, 201-206.
- ; --; 1997: Recherche sur les composés soufrés formés par la levure au cours de la vinification et de l'élevage des vins blancs secs. *Rev. Oenol.* **24** (85), 23-30.
- LAVIGNE-CRUÈGE, V.; 1996: Recherches sur les composés soufrés volatils formés par la levure au cours de la vinification et de l'élevage des vins blancs secs. Thèse Doc., Univ. Bordeaux II.
- MARAI, J.; 1979: Effect of storage time and temperature on the formation of dimethyl sulphide and on white wine quality. *Vitis* **18**, 254-260.
- MAUJJEAN, A.; 1989: Goûts anormaux dans les moûts et les vins en relation avec la présence de produits soufrés volatils. *Rev. Oenol.* (53 S), 31-32.
- ; SEGUIN, N.; 1983: Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de Champagne 3 - Les réactions photochimiques responsables des goûts de lumière dans le vin de Champagne. *Sci. Alim.* **3**, 589-601.
- MONK, P. R.; 1986: Formation, utilization and excretion of hydrogen sulphide by wine yeast. *Wine Ind. J.* (November), 10-16.
- NEDJMA, M.; 1995: Etude par chromatographie en phase gazeuse des comportements chimique, thermique et photochimique de résidus de produits phytosanitaires soufrés de traitements de la vigne dans les vins et les spiritueux. Thèse Doc., Univ. Reims Champagne-Ardenne.
- RAPP, A.; GÜNTERT, M.; ALMY, J.; 1985: Identification and significance of several sulfur containing compounds in wine. *Am. J. Enol. Vitic.* **36**, 219-221.
- RAUHUT, D.; KÜRBEL, H.; DITTRICH, H. H.; GROSSMANN, M.; 1995: Properties and differences of commercial yeast strains with respect to their formation of sulfur compounds. In: LALLEMAND (Ed.): *The Composition of Musts. Influence of Stuck Fermentations*, 65-70. Geisenheim.
- ; --; LÖHNERTS, O.; DITTRICH, H. H.; GROSSMANN, M.; 1999: Ursachen der Böckserbildung (Formation des substances sulfurées provoquant le développement des défauts d'odeur). In: E. LEMPERLE (Ed.): *12. Symp. Int. d'Oenologie*, 31.5.-2.6.1999, Montréal, 97-133.
- STRATFORD, M.; ROSE, A. H.; 1985: Hydrogen sulphide production from sulphite by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Genet. Microbiol.* **131**, 1417-1424.
- THOMAS, C. S.; BOULTON, R. B.; SILACCI, M. W.; GUBLER, W. D.; 1993: The effect of elemental sulfur, yeast strain, and fermentation medium on hydrogen sulfide production during fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.* **44**, 211-216.

- VIDAL, J. P.; ESTREGUIL, S.; SNAKKERS, G.; CANTAGREL, R.; 1996: Optimisation de l'analyse des composés soufrés volatils des vins et des eaux-de-vie par la technique de l'espace de tête, 587-592. V. Symp. Int. d'Oenologie, Bordeaux 15.-17.6.1995. Lavoisier TEC & DOC, Paris.
- Vos, P. J. A.; Gray, R. S.; 1979: The origin and control of hydrogen sulfide during fermentation of grape must. *Am. J. Enol. Vitic.* **30**, 187-197.
- WENZEL, K.; DITTRICH, H. H.; SEYFFARDT, H. P.; BOHNERT, J.; 1980: Schwefelrückstände auf Trauben und im Most und ihr Einfluss auf die H₂S-Bildung. *Die Weinwissenschaft* **35**, 414-420.
- YOSHIMOTO, A.; SATO, R.; 1968: Studies on yeast sulfite reductase. I. Purification and characterisation. *Biochem. Biophys. Acta* **153**, 555-575.

Reçu le 29 Novembre, 1999