

G R A N D P R I X 1 9 9 7

Valérie LAVIGNE-CRUEGE

RECHERCHE
sur les
composés soufrés
formés par
la levure au cours
de la vinification
et de l'élevage
des vins
blancs secs.

ACADEMIE  MORIM

PRÉFACE

Le Groupe Amorim, né du liège en 1870 au Portugal, a fondé les bases de son développement sur cette extraordinaire matière première, à travers la production de cet humble mais inséparable compagnon du Vin : le bouchon de liège.

Notre volonté de servir la cause du vin s'est toujours exprimée dans la recherche technologique sur la filière liège, base de notre activité.

En 1992, nous avons souhaité aller plus loin et nous engager davantage aux côtés des chercheurs en œnologie en créant l'Académie Amorim, un lieu de rencontre et d'échange entre œnologues, ingénieurs, professeurs, sommeliers, auteurs, artistes... tous animés d'une même passion du Vin. Chaque année, notre Académie encourage et soutient la recherche en œnologie par la remise d'un Prix à un chercheur ou à une équipe de chercheurs ayant fait paraître des travaux significatifs qui concourent à la défense et à la promotion de la qualité du Vin. Que soient ici saluées les personnalités, membres de cette Académie, qui contribuent si généreusement à cette mission.

Je formule le vœux que cette collection, dédiée aux Lauréats du Grand Prix de l'Académie, devienne, au fil des ans, une référence et la mémoire vivante des efforts et des travaux engagés dans le monde entier pour servir la noble cause du Vin.

Americo Ferreira de AMORIM

Président du Groupe Amorim

LAURÉATS DE L'ACADÉMIE AMORIM

Grand Prix 1992

Pascal CHATONNET
Institut d'Oenologie de Bordeaux
"Incidence du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins, applications technologiques".

Grand Prix 1993

Pierre-Louis TEISSEDE
Centre de Formation et de Recherche
en Oenologie de Montpellier.
"Le plomb, du raisin au vin".

Grand Prix 1994

Ziya GÜNATA
INRA Institut des Produits
de la Vigne de Montpellier
"Etude et exploitation par voie enzymatique des précurseurs d'arôme du raisin, de nature glycosidique".

Grand Prix 1995

Samuel LUBBERS
Institut de la Vigne et du Vin Jules GUYOT,
Université de Bourgogne
"Etude des interactions entre les macromolécules d'origine levurienne du vin et les composés d'arôme".

Mention d'Honneur du Jury 1995

P.L. TEISSEDE - A.L. WATERHOUSE
R.L. WALZEM - J.-B. GERMAN
E.N. FRANKEL - A.J. CLIFFORD
Université de Californie, Davis
"Composés phénoliques du raisin et du vin et santé".

Grand Prix 1996

Sylvie BIAU
Faculté d'Oenologie
Université Victor SEGALEN de Bordeaux 2
"Etude de la matière colorante des vins blancs de Bordeaux".

Prix Chêne-Liège 1996

Guillem ROIG I JOSA - Héctor RIU SAVALL
Josep SANCHO I VALLS
Département d'Industries Agro-Alimentaires
Escola Superior d'Agricultura de Barcelona
Universitat Politècnica de Catalunya
"Traitement des résidus de l'industrie du liège par la culture des champignons".

Grand Prix 1997

Valérie LAVIGNE-CRUEGE
Faculté d'Oenologie
Université Victor SEGALEN de Bordeaux 2
« Recherche sur les composés soufrés formés par la levure au cours de la vinification et de l'élevage des vins blancs secs. »

A l'aube du XXI^{ème} siècle, il est formidable et rassurant de constater combien l'innovation et la recherche restent des terrains riches et fertiles.

Voilà 5 ans que l'Académie Amorim récompense les travaux de jeunes chercheurs qui ont ainsi contribué à améliorer nos connaissances sur le vin. Chaque année, l'exercice final qui consiste à désigner le meilleur, nous paraît particulièrement difficile tant la qualité des travaux est grande et tant le champ d'expression autour du vin est large. Cette année encore, les ouvrages à caractère juridique et sociologique ont côtoyé des thèses de doctorat scientifiques et c'est grâce au caractère pluridisciplinaire de notre jury que nous avons pu sans difficulté désigner notre lauréate.

Valérie LAVIGNE-CRUEGE a mis en perspective une nouvelle méthode de vinification des vins blancs en cuve. Il s'agit là d'un excellent exemple d'application directe des résultats d'une recherche à caractère fondamental.

Bravo aux candidats de ce Grand Prix pour la qualité des travaux qu'ils nous ont présent et merci aux membres du jury pour la justesse et la pertinence de leurs observations."

Jacques Puisais
Président de l'Académie Amorim

RECHERCHE
sur les composés soufrés
formés par la levure
au cours de la vinification
et de l'élevage
des vins blancs secs.

*Synthèse de la thèse présentée pour obtenir
le grade de Docteur à la Faculté d'Oenologie
de l'Université Victor SEGALEN de Bordeaux 2*

Valérie LAVIGNE-CRUEGE

Introduction

Les vins blancs secs sont aujourd'hui, dans leur grande majorité vinifiés et conservés en cuve pour des raisons économiques facilement compréhensibles. Ainsi, seules les régions viticoles réputées pour leurs grands vins ont pu perpétuer le procédé traditionnel d'élaboration des vins blancs secs qui consiste, en une fermentation alcoolique et éventuellement malolactique en fût, suivie d'un élevage de plusieurs mois sur biomasse totale.

Les progrès récents de l'œnologie nous permettent aujourd'hui de comprendre en quoi ce mode de vinification, empiriquement établi, permet le plus souvent l'obtention de vins à la fois plus aromatiques et plus stables que ceux élaborés en cuve. Outre la présence du bois qui ajoute à la complexité aromatique et gustative du vin, les composés cédés par la levure au cours de l'élevage favorisent la stabilisation naturelle des vins vis à vis des casses tannique et protéique, ainsi que la protection des arômes contre l'oxydation.

Il est malheureusement très rare que les vins blancs secs vinifiés

en cuve puissent bénéficier des avantages associés à l'élevage sur lies. Les praticiens savent bien, en effet, qu'un vin blanc conservé en cuve sur ses lies développe inévitablement des odeurs nauséabondes, appelées « odeurs de réduction ». Ainsi, les vins blancs secs vinifiés aujourd'hui en cuve sont le plus souvent soutirés dès l'achèvement de la fermentation alcoolique, à l'occasion du sulfitage, en éliminant la biomasse sédimentée au fond des cuves.

Ces défauts de réduction, s'ils sont accentués par un élevage sur biomasse totale en cuve, peuvent également se manifester avant l'achèvement de la fermentation alcoolique. Dans ce cas, que les vins soient vinifiés en cuve ou en barriques, ils devront impérativement être séparés de leurs lies de levure ; le bon déroulement de leur élevage sera alors compromis. Ainsi, maîtriser l'élevage des vins blancs secs sur biomasse totale, objectif majeur de notre travail, suppose avant tout d'éviter l'apparition au cours de la fermentation alcoolique d'odeurs de réduction.

1- Maitrise des phénomènes de réduction au cours de la fermentation alcoolique.

1.1- Identification des principaux composés soufrés intervenant dans les odeurs de réduction.

Les méthodes analytiques que nous avons mises au point (CHATONNET et al, 1992 ; LAVIGNE et al., 1993), rapides et relativement simples à mettre en œuvre, nous ont permis d'identifier et de doser dans les vins les composés soufrés (sulfures et thiols) impliqués dans les défauts de réduction. Nous avons montré que parmi les nombreux composés soufrés rencontrés dans les vins seuls quelques uns interviennent significativement dans ce type de déviation. Il s'agit du méthionol pour les composés soufrés « lourds », de l'hydrogène sulfuré, du méthane-thiol et plus rarement de l'éthane-thiol pour les composés soufrés « légers ». Nous avons déterminé les seuils de perception de ces différents composés (Tableau I).

Substances	Seuil de perception (µg/l)	Descripteurs
Hydrogène sulfuré	0,8	œuf pourri
Méthane-thiol	0,3	croupi
Éthane-thiol	0,1	oignon
Méthionol	1 200	chou

Tableau I : Seuils de perception des composés soufrés intervenant dans les défauts de réduction.

La comparaison des valeurs obtenues aux concentrations rencontrées dans les vins nous permet d'évaluer l'incidence réelle de ces molécules sur les défauts de réduction.

Ces outils analytiques nous ont permis d'étudier les différents paramètres de la vinification qui favorisent l'apparition dans les vins de défauts olfactifs de réduction, étape incontournable de la maîtrise de l'élevage des vins blancs secs sur lies totales.

1.2- Importance du débourage sur la formation des composés soufrés volatils.

Nous montrons d'abord que l'ensemble des composés soufrés lourds dosés dans nos conditions analytiques, augmentent avec la turbidité des moûts (Tableau II).

L'écart le plus significatif porte sur le méthionol, composé soufré majeur des vins, qui constitue, comme nous l'avons vu précédemment, un marqueur de réduction. Il convient, par conséquent, pour éviter la formation dans les vins de teneurs anormalement élevées en méthionol, d'apporter un soin tout particulier au débourage. Pour les cépages bordelais, la turbidité des jus ne doit pas excéder 250 NTU

Substances	120 NTU	250 NTU	500 NTU	Seuil de perception (solution synthétique)
2-mercapto-éthanol	113	140	179	130
Méthyl-2-tétrahydro-thiophénone	102	131	191	70
Méthylthio-éthanol	61	61	66	250
Méthylthio-3-propanoate d'éthyle	1	2	2	300
Acétate de méthylthio-3-propanol-1	5	6	6	50
Méthylthio-3-propanol-1	1 097	1 958	3 752	1 200
Méthylthio-4-butanol-2	35	66	60	80
Diméthyl-sulfoxyde	363	728	1 448	inodore
Benzothiazole	28	26	29	50
Acide-3- méthylthiopropionique	85	178	310	50

Tableau II : Incidence de la turbidité des moûts sur les teneurs en composés soufrés des vins.

Si le précurseur de cette molécule étudiée dans un premier temps en brasserie par WAINWRIGHT (1972) puis dans le vin par SCHREIER (1979) est connu, il s'agit de la méthionine, la formation accrue de méthionol dans les moûts peu clarifiés n'avait jusqu'ici jamais reçu d'interprétation.

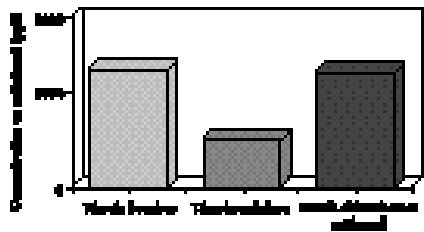
Etant donné la stabilité de ce composé au cours de l'élevage des vins et son rôle essentiel dans le développement d'odeurs désagréables, nous avons cherché à comprendre en quoi les bourbes pouvaient contribuer à l'enrichissement des vins en méthionol. Nous avons imaginé dans un premier temps que les bourbes puissent contribuer, soit directement par leur composition en acides aminés, soit indirectement par l'activité protéase qu'elles renferment, à l'enrichissement des moûts en méthionine. Or, quelles que soient les modalités d'extraction utilisées, en milieu aqueux ou hydroalcoolique, à chaud ou à froid, avec ou sans SO₂, nous n'avons pas pu libérer de méthionine à partir des bourbes.

Puisque les bourbes n'interviennent pas sur la formation de méthionol par un enrichissement du moût en méthionine, nous avons imaginé que les lipides qu'elles renferment puissent influencer le métabolisme de la méthionine par la levure.

Nous avons comparé pour vérifier cette hypothèse, les teneurs en méthionol de vins issus d'un même moût additionné de bourbes ou d'un extrait de bourbes. Les bourbes sont extraites par un mélange méthanol-chloroforme (2:1), solvant couramment utilisé pour extraire les lipides à partir des tissus végétaux. L'extrait chloroformique de bourbes a le même effet sur la production de méthionol que les bourbes fraîches (figure 1).

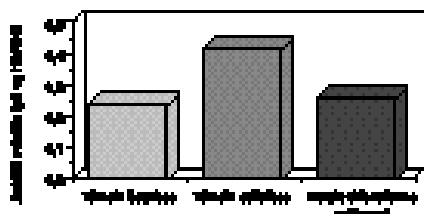
En accord avec les résultats de DELFINI et CERVITTI, 1992, nous

Figure 1. Incidence d'un extrait chloroformique de bourbes sur la formation de méthionol dans les vins.



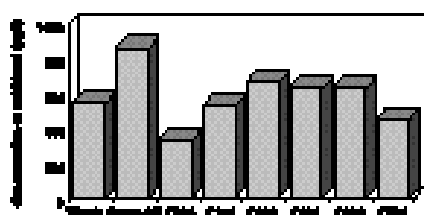
avons parallèlement constaté que l'acidité volatile des vins issus de bourbes ou de l'extrait chloroformique de bourbes était comparable, et beaucoup plus basse que celle du vin témoin, fermenté en présence de cellulose (figure 2).

Figure 2. Incidence d'extrait chloroformique de bourbes sur la production d'acidité volatile



Cette observation confirme notre hypothèse : les lipides et plus précisément les acides gras à longue chaînes interviennent dans la formation de méthionol par la levure. D'ailleurs, si on ajoute à un même moût additionné de cellulose les différents acides gras dosés dans les bourbes, on observe une augmentation significative de la teneur en méthionol des vins (figure 3).

Figure 3. Incidence d'une addition d'acides gras sur la formation de méthionol dans les vins



Nous avons ainsi montré que la production accrue de méthionol par la

levure dans les moûts peu clarifiés tient à la libération par les bourbes d'acides gras insaturés à longues chaînes, en particulier (C18 :1) et (C18 :2) qui favorisent l'assimilation par la levure de la méthionine, précurseur du méthionol (LAVIGNE et DUBOURDIEU, 1995). On peut raisonnablement imaginer que ces acides gras interviennent en modifiant la perméabilité membranaire de la levure.

Ainsi, connaître l'origine du méthionol dans les vins permet de mieux comprendre en quoi l'ajustement rigoureux de la turbidité des moûts entre 100 et 250 NTU est un paramètre essentiel de l'élaboration des vins blancs secs. En deçà de 100 NTU, le déficit en acides gras insaturés à longue chaîne, risque en effet d'induire une production excessive d'acidité volatile par la levure, au delà de 250 NTU, c'est au

contraire l'excès de ces mêmes acides gras qui conduira à la formation de teneurs trop élevées en méthionol.

Toutefois, le méthionol, s'il joue un rôle majeur dans les défauts olfactifs de réduction n'est pas seul responsable de ce type de déviation. Les teneurs en composés soufrés volatils légers du vin sont en effet également influencées par la turbidité des jus (figure 4).

Ainsi, les odeurs désagréables perçues par les dégustateurs dans le vin issu du moût fermenté à 500 NTU s'expliquent par la présence d'une teneur anormalement élevée en méthionol.

Ce composé, particulièrement malodorant déprécie l'arôme du vin dès que sa concentration dépasse le seuil de perception (0,3 µg/l).

Les autres composés soufrés légers dosés dans cet exemple ne peuvent être tenus pour responsable du défaut olfactif.

Figure 4 : Incidence de la turbidité des moûts sur la formation des composés soufrés dans les vins.

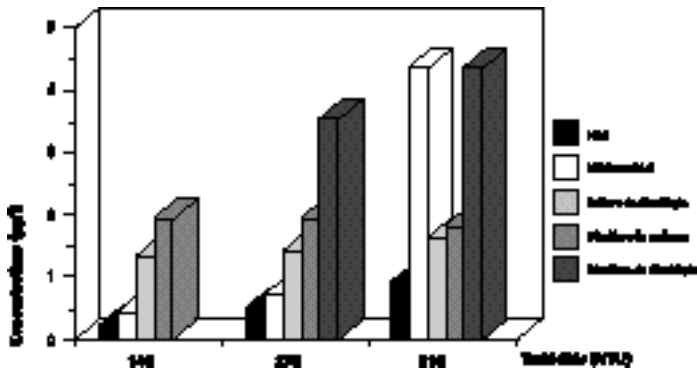
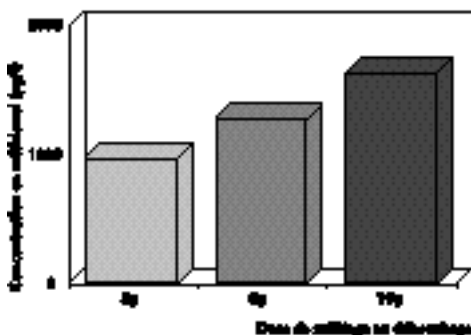


Figure 5 : Incidence de la dose de SO2 utilisée au débouillage sur la formation de méthionol dans les vins.



1.3- Incidence du sulfitage sur la formation des composés soufrés volatils.

Pour limiter la formation dans les vins de composés soufrés, le vinificateur doit également veiller à modérer les doses de SO_2 utilisées lors de l'extraction et de la clarification des jus. En effet, dans les moûts sulfités à 8 g/hl ou plus, la quantité de méthionol formée par la levure au cours de la fermentation alcoolique augmente significativement (figure 5).

Les teneurs en composés soufrés légers sont également influencées par la dose d'anhydride sulfureux utilisée lors du débouillage. Nous présentons ici, à titre d'exemple, l'augmentation des teneurs en H_2S dans des vins issus de moûts sulfités à 5, 8 ou 10 g/hl (figure 6).

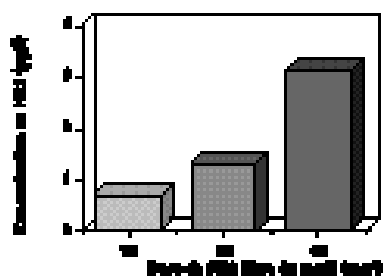


Figure 6 : Incidence de la dose initiale de SO_2 des moûts sur la formation d'hydrogène sulfuré dans les vins.

Ainsi, l'emploi de doses massives d'anhydride sulfureux dans les moûts est à proscrire pour éviter l'apparition de défauts de réduction. Cette pratique n'améliore d'ailleurs en rien la protection des moûts vis à vis de l'oxydation, puisque 5 g/hl d'anhydride sulfureux, ajoutés en une seule fois au moût, suffisent à détruire l'activité polyphénoloxydase du raisin sain (DUBERNET, 1974).

Dans le cas de vins blancs secs vinifiés en barriques, il convient également d'apporter un soin tout particulier à la préparation des fûts. En effet, des barriques conservées vides et régulièrement sulfitées par méchage, sont susceptibles de céder du SO_2 au

moût lors de son entonnage. Il en résulte une formation anormalement élevée d' H_2S au cours de la fermentation alcoolique conduisant à l'apparition d'odeurs de réduction (figure 7).

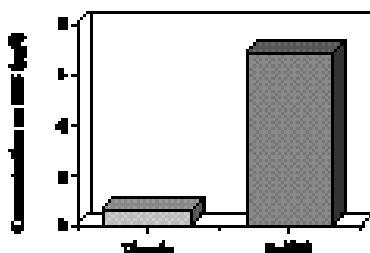


Figure 7 : Incidence d'un apport de SO_2 par les barriques méchées sur la formation d'hydrogène sulfuré dans les vins au cours de la fermentation alcoolique.

Par conséquent, les barriques doivent impérativement être remplies d'eau 48 heures avant leur utilisation pour l'élaboration des vins blancs. S'il s'agit de barriques neuves, il convient de s'assurer auprès du tonnelier qu'elles n'ont pas été méchées avant leur livraison.

L'apparition d'un défaut de réduction après l'achèvement de la fermentation alcoolique et en particulier à l'occasion du sulfitage, constitue le dernier écueil à éviter lors de la vinification des vins blancs secs. Ce risque concerne essentiellement les vins blancs secs pour lesquels la fermentation malo-lactique n'est pas recherchée.

Il est en effet fréquent que des vins sulfités prématurément en présence de lies présentent des teneurs excessives en H_2S . Pour limiter la formation de ce composé, il suffit toutefois de différer le sulfitage d'une dizaine de jours (figure 8).

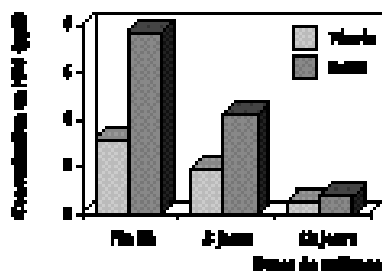
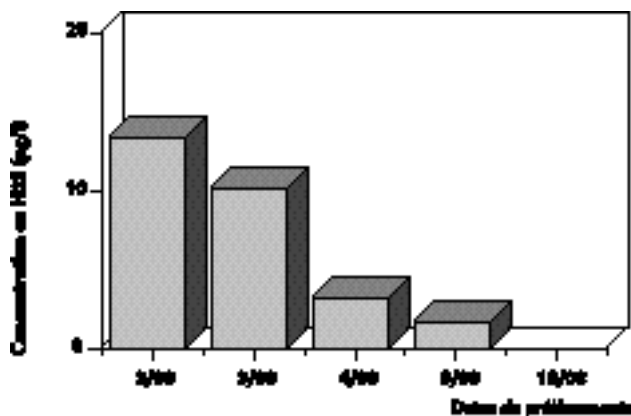


Figure 8 : Incidence de la date de sulfitage sur la formation d'hydrogène sulfuré dans les vins.

Figure 9 : Evolution de la teneur en H₂S due à l'activité sulfite réductase dans un vin blanc élevé sur lies totales.



Le dosage de l'activité sulfite réductase dans les vins apporte une explication. Dix jours après la fin de la fermentation alcoolique les quantités d'H₂S générées par cette enzyme en présence de SO₂ ne sont plus détectables dans nos conditions analytiques (figure 9).

Lorsque toutes ces précautions sont prises, l'apparition des défauts de réduction au cours de la fermentation alcoolique des vins blancs secs peut facilement être évitée (LAVIGNE et al., 1992). Leur élevage sur biomasse totale peut alors être envisagé.

2 - Maîtrise des phénomènes de réduction au cours de l'élevage des vins blancs secs sur lies totales en cuves et en barriques

2.1- Incidence des conditions d'élevage (cuves ou barriques), sur la formation des composés soufrés volatils.

Lorsqu'ils sont vinifiés en barriques, les vins blancs secs, sont le plus souvent conservés sur leurs lies de levures pendant toute la durée de l'élevage. En effet, dans ce type de vinification, si les défauts de réduction ne se sont pas manifestés au cours de la fermentation alcoolique, il est très rare qu'ils surviennent plus tard. On peut imaginer que la remise en suspension fréquente des lies par bâtonnage, traditionnellement pratiquée lors de l'élevage des vins blancs secs sur biomasse totale, ainsi que l'oxydation ménagée qui se produit à travers les douelles du fût, suffisent à éviter la formation dans les vins de composés soufrés nauséabonds. On observe ainsi dans un vin conservé en barriques une diminution progressive des thiols volatils du vin, H₂S et méthane-thiol dans cet exemple, normalement

présents dans les vins en fin de fermentation alcoolique (figure 10).

Cette diminution des teneurs en H₂S et méthane-thiol se manifeste d'ailleurs plus rapidement en barriques neuves, en raison, probablement d'une dissolution d'oxygène plus importante et de l'effet catalyseur des tannins du bois neuf vis à vis de l'oxydation (figure 11).

Toutefois, la maîtrise relativement aisée de l'élevage des vins blancs secs sur lies totales en barriques, n'autorise en rien le vinificateur à négliger les paramètres de la vinification qui favorisent la formation des composés soufrés.

Quel que soit le type de fût utilisé, barriques neuves ou usagées, si le vin présente un défaut de réduction en fin de fermentation alcoolique, il devra impérativement, pour diminuer significativement les teneurs en composés soufrés, être soutiré et séparé définitivement de ses lies (figure 12).

La qualité de son élevage sera alors largement compromise, plus

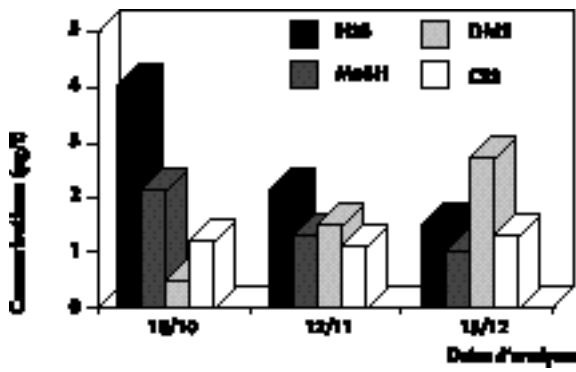


Figure 10 : Evolution des composés sulfurés dans un vin sans défaut élevé en barriques.

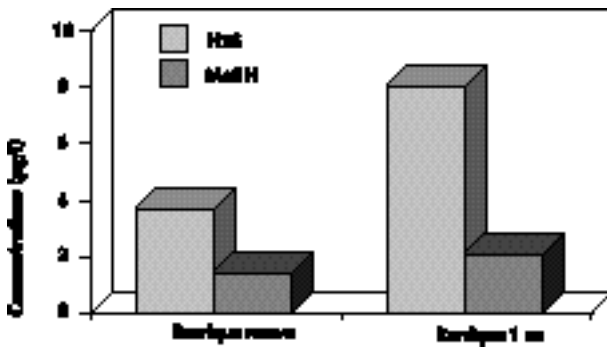


Figure 11 : Evolution des composés sulfurés d'un même vin en barrique neuve ou d'un an.

encore si l'élevage se poursuit en barrique neuve. En effet, en l'absence de lies, la protection des arômes vis à vis de l'oxydation n'est plus assurée. La maîtrise des défauts de réduction dans les vins blancs secs durant leur élevage en cuves de grand volume est

particulièrement délicate. Quelque soit leur état de réduction à la fin de la fermentation alcoolique, la présence des lies conduit inévitablement au développement d'odeurs de réduction, et ce dès le premier mois d'élevage (figure 13).

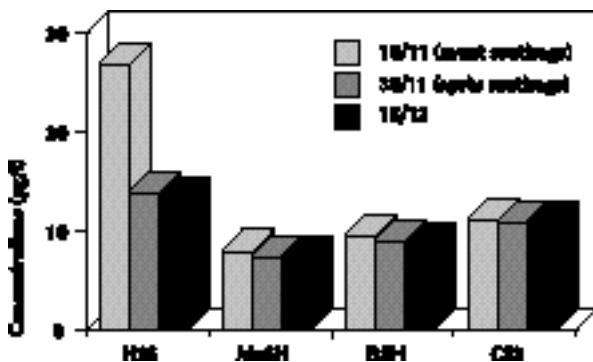


Figure 12 : Evolution des composés sulfurés légers dans un vin réduit soutiré avec ses lies.

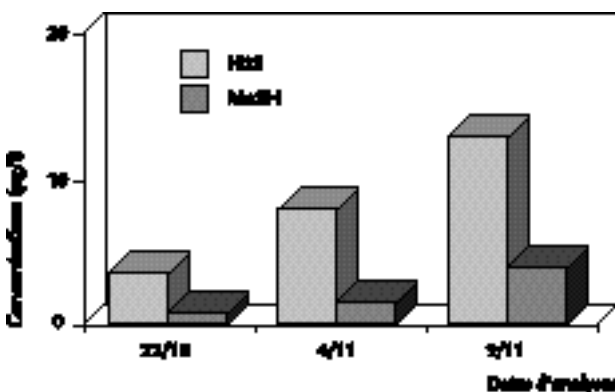


Figure 13 : Evolution des composés sulfurés légers dans un vin élevé en cuve sur lies totales.

On comprend alors que dans la grande majorité des cas, les vins blancs secs conservés en cuve soient systématiquement soutirés et séparés de leurs lies. Dans ces conditions, si l'élimination des lies intervient assez tôt,

c'est à dire avant que le défaut de réduction ne se soit manifesté, le vin pourra être conservé sur lies fines sans risque. Le soutirage précoce du vin permet en effet la stabilisation des teneurs en composés soufrés légers (figure 14).

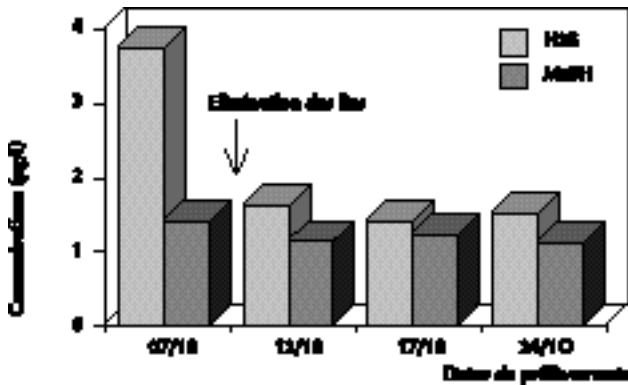


Figure 14 : Evolution des composés soufrés légers dans un vin élevé en cuve après élimination de ses lies.

2.2- Etude des paramètres favorisant la réduction des vins blancs élevés en cuve. Mise en évidence des propriétés fixatrices des lies de levures vis à vis de certains thiols volatils.

Il est clair que l'absence totale d'oxygène et la difficulté de remise en suspension des lies en cuve de grand volume interdisent à elles seules le maintien des vins blancs secs sur lies totales. Toutefois, un soutirage du vin avec aération, sans élimination de la biomasse ne suffit pas à éviter le développement d'odeurs désagréables (figure 15).

On observe dans un premier temps une diminution des teneurs en H₂S et méthaneithiol du vin, mais après un mois, c'est à dire lorsque les lies ont sédimenté au fond de la cuve, le défaut se manifeste à nouveau. Tout se passe comme si le degré de tassement des lies au fond des cuves influençait les phénomènes de réduction. En effet, si l'on compare les teneurs en composés soufrés d'un même vin conservé en cuve de 4 hl ou de 100 hl, elles sont semblables en fin de fermentation alcoolique, mais nettement plus élevées en cuve de 100 hl après un mois d'élevage (figures 16 et 17).

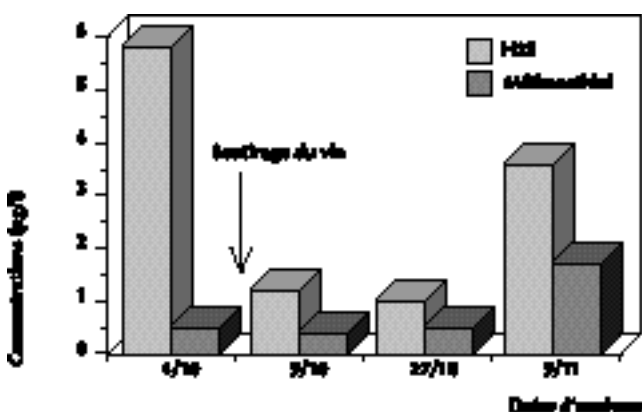


Figure 15 : Evolution des composés soufrés légers dans un vin élevé en cuve et soutiré avec ses lies.

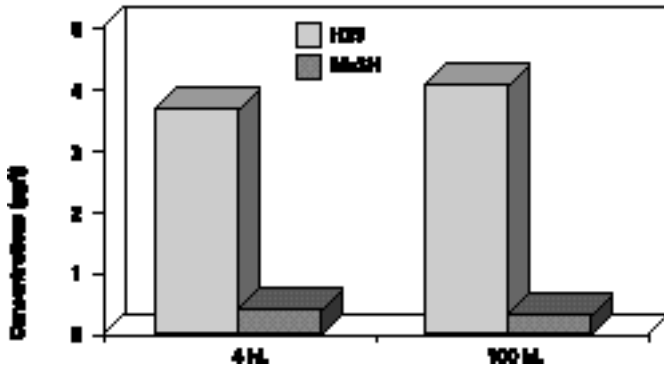


Figure 16 : Comparaison des teneurs en H₂S et méthane thiols d'un même vin vinifié en cuve de 4 hl et 100 hl, en fin de fermentation alcoolique.

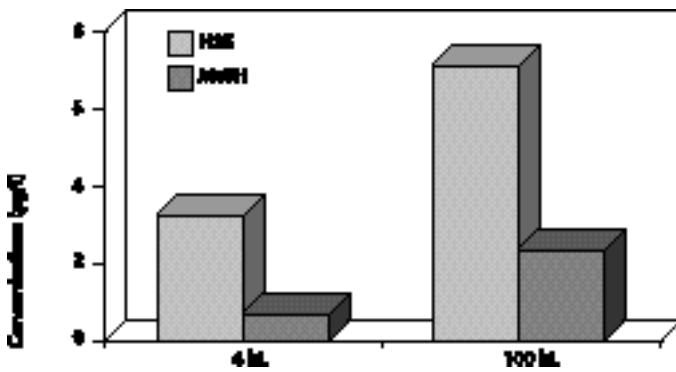


Figure 17 : Comparaison des teneurs en H₂S et méthane thiols d'un même vin vinifié en cuve de 4 hl ou de 100 hl, après 3 mois d'élevage.

Ces observations nous ont conduit à penser que la pression exercée sur les lies au fond des cuves de grand volume devait être prise en considération pour expliquer les phénomènes de réduction. Nous avons pu confirmer au laboratoire, en dosant les composés soufrés d'un même vin conservé sur lies à pression atmosphérique ou sous 800 g/cm² de pression d'azote, que ce paramètre favorise effectivement le développement des défauts de réduction (figure 18).

Les teneurs en H₂S et méthane thiols du vin maintenu sous 800 g de pression sont en effet extrêmement élevées. Il nous restait à comprendre le mécanisme de formation de ces thiols volatils au niveau des lies.

L'aptitude des levures à générer des composés soufrés nauséabonds, s'atténue progressivement au cours de l'élevage pour disparaître totalement après quelques mois. Ainsi, des lies prélevées dans un vin conservé depuis

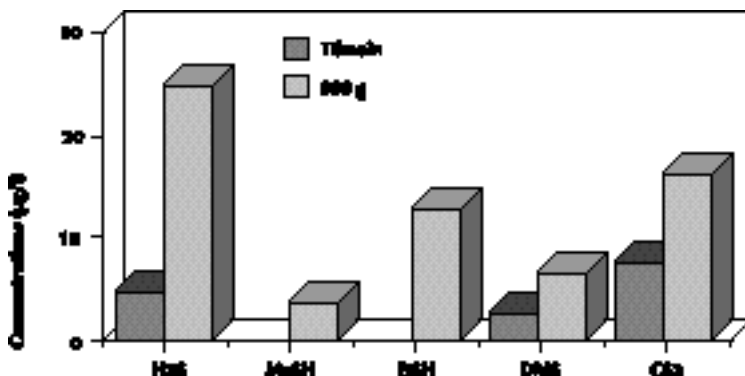


Figure 18 : Incidence de la pression exercée sur les lies sur la formation de composés soufrés légers dans les vins.

trois mois sur biomasse totale ne sont plus capables de produire de l' H_2S , quelles que soient les conditions de pression et de sulfitage auxquelles elles sont soumises (figure 19). La même expérience effectuée sur des lies prélevées en fin de fermentation alcoolique conduit au contraire à une production d' H_2S (figure 20).

Tout se passe, comme si la pression exercée sur les lies au fond des cuves de grand volume favorisait la formation d' H_2S en facilitant la réduction du SO_2 par l'activité sulfite réductase endocellulaire de la levure. On comprend alors facilement que les vins blancs secs vinifiés en cuves de grande capacité ne puissent être conservés sur leurs lies sans risque de développer des défauts de réduction, du moins tant que cette enzyme reste active dans le vin. En revanche, en séparant le vin de ses lies pendant ce laps de temps, il doit être possible de les réincorporer ensuite sans risque de générer de nouveaux composés soufrés. Les vins blancs vinifiés en cuve pourraient alors bénéficier des multiples avantages associés à la conservation sur biomasse totale.

Nous proposons dans ce but un procédé d'élevage des vins blancs sur lies en cuves de grande capacité. Il consiste dans un premier temps à soutirer le vin quelques jours après son sulfitage. Les lies sont alors logées séparément en barriques. Cette première étape de l'élevage permet de stabiliser les teneurs en composés soufrés du vin désormais conservé sur lies fines (figure 21), et d'éviter dans le même temps que les lies ne réduisent.

Nous avons en effet constaté que les teneurs en H_2S diminuent progressivement dans les lies conservées en barriques (figure 22), et, fait plus surprenant, que 24h seulement après avoir été séparées du vin, elles ne contiennent plus de méthane-thiol (figure 23).

Après environ un mois, les lies sont réincorporées au vin. A ce stade,

non seulement elles ne génèrent plus de composés soufrés, mais leur addition provoque une diminution sensible de la teneur en méthane-thiol du vin (figure 24).

2.3- Mécanisme d'absorption des thiols par les parois de levures.

L'utilisation de lies fraîches en oenologie est une pratique autorisée et utilisée le plus souvent pour corriger la couleur d'un vin blanc prématurément oxydé, mais à notre connaissance l'aptitude des lies à adsorber certains thiols volatils du vin n'avait jamais été signalée. Nous montrons que des levures additionnées à une solution modèle renfermant du méthane-thiol et de l'éthane-thiol sont capables d'adsorber ces thiols volatils (figure 25).

Le même effet peut être observé en utilisant des parois de levures, à condition toutefois qu'elles aient été préparées en présence d'un réducteur, ici le dithiothréitol (DTT) (figure 26). Dans le cas contraire, les parois obtenues n'ont aucun effet sur l'élimination du méthane-thiol et de l'éthane-thiol (figure 27).

Il est probable que, lors du broyage des levures en absence de réducteur, les thiols contenus dans la cellule viennent saturer les sites de fixation des parois, les rendant inefficaces. D'ailleurs, l'addition de dithiothréitol, à une solution synthétique contenant ces mêmes parois conduit à une libération importante de méthane-thiol et d'éthane-thiol (figure 28).

Cette expérience nous renseigne sur les mécanismes de fixation des thiols sur les parois de levure, il met en jeu la formation de ponts disulfures. On explique ainsi que les thiols soient relibérés dans le milieu par une addition de DTT. Compte tenu de l'organisation moléculaire de la paroi de la levure, nous avons envisagé que le groupement -SH libre de la cystéine

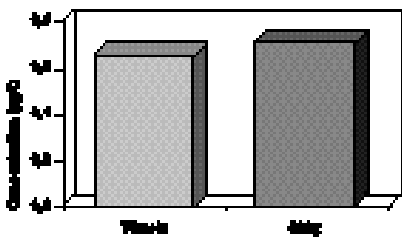


Figure 19 : Incidence de la pression exercée sur des lies après 3 mois d'élevage sur la formation d'hydrogène sulfuré.

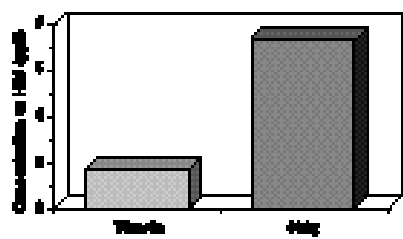


Figure 20 : Incidence de la pression exercée sur des lies en fin de fermentation alcoolique sur la formation d'H₂S.

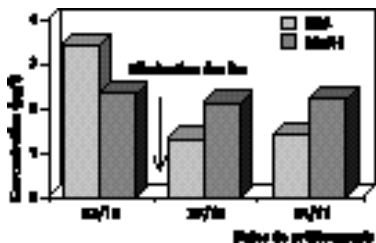


Figure 21 : Evolution des composés sulfurés légers dans un vin élevé en cuve après soutirage et séparation de ses lies.

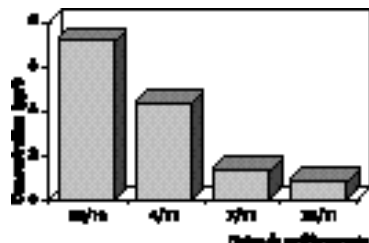


Figure 22 : Evolution de la teneur en H₂S dans des lies conservées en barriques.

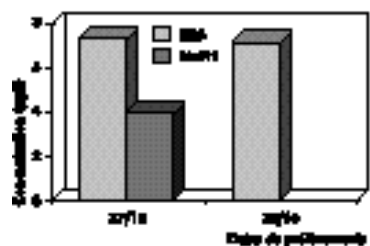


Figure 23 : Evolution des teneurs en H₂S et méthanthiol dans des lies après 24 heures de conservation en barriques.

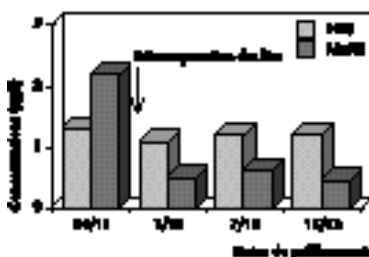


Figure 24 : Evolution des teneurs en H₂S et méthanthiol d'un vin blanc élevé en cuve après réincorporation de ses lies.

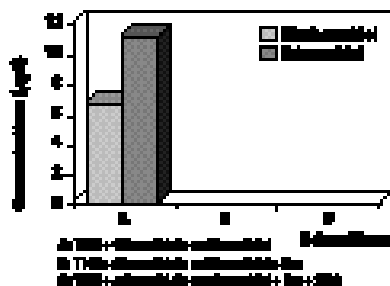


Figure 25 : Incidence d'une addition de lies sur la teneur en méthanthiol et éthanethiol du milieu.

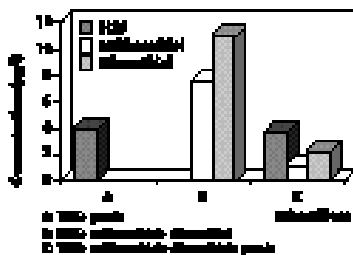


Figure 26 : Efficacité des parois de levures sur la fixation du méthanthiol et de l'éthanethiol.



*Figure 27 : Efficacité des parois de levures obtenues par broyage sans réducteur sur les teneurs en méthanthiol et éthanethiol d'un milieu modèle.

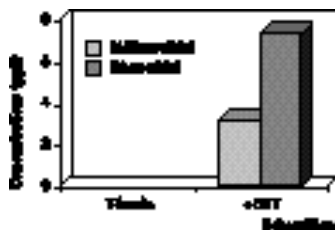


Figure 28 : Libération des thiols adsorbés sur la paroi par addition d'un réducteur.

constitutive des mannoprotéines de la paroi puisse former des pont disulfures avec le méthane-thiol et l'éthane-thiol. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons ajouté à un milieu synthétique renfermant des thiols volatils des parois ayant subi une hydrolyse enzymatique par une préparation de B-glucanases. Ce traitement enzymatique est destiné à débarrasser les parois de leur fraction mannoprotéique. On constate que dans

ce cas, les parois des levures n'adsorbent plus les thiols volatils du milieu (figure 29). *

Ainsi, la remarquable aptitude des lies à fixer certains thiols volatils sur leurs parois tient à la formation de ponts disulfures entre les groupements -SH de ces thiols et ceux de la cystéine contenue dans les mannoprotéines pariétales (LAVIGNE et DUBOURDIEU, 1996).

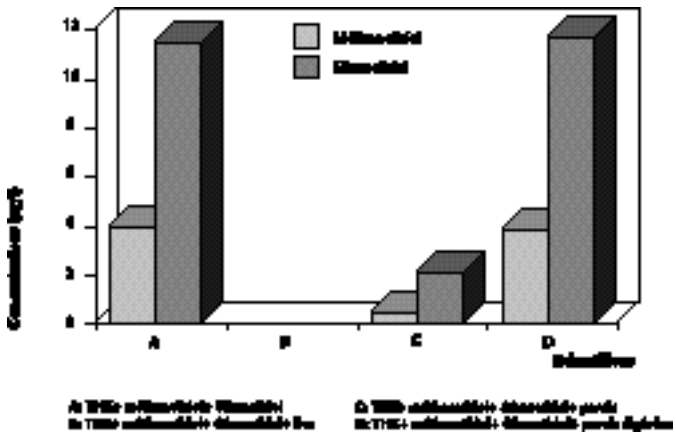


Figure 29 : Efficacité des parois de levures traitées au Glucanex sur la fixation du méthane-thiol et de l'éthane-thiol.

Conclusion

Notre travail sur les composés soufrés volatils des vins blancs secs avait pour origine le souhait des vinificateurs de bénéficier des avantages de l'élevage sur lies totales aussi bien en cuve qu'en barriques, sans risquer l'apparition dans les vins de défauts de réduction.

Les méthodes analytiques que nous avons mises au point, relativement simple à mettre en œuvre, et suffisamment sensibles et reproductibles nous ont permis de quantifier le dosage dans les vins des composés soufrés impliqués dans ce type de déviations, en particulier le méthionol pour les composés soufrés lourds, l' H_2S , le méthaneéthiol et plus rarement l'éthaneéthiol, pour les composés soufrés légers.

Ces méthodes analytiques nous ont également permis de préciser les principales causes d'apparition des défauts de réduction dans les vins blancs secs au cours de la fermentation alcoolique et les moyens préventifs à mettre en œuvre. Pendant la vinification, les moûts doivent être suffisamment clarifiés, en présence d'une dose modérée de SO_2 . La formation du méthionol est en effet largement accrue en présence de bourbes, les acides gras insaturés à longue chaîne qu'elles contiennent favorisant l'assimilation par la levure de la méthionine du moût. Il importe également, pour les vins vinifiés en barriques d'éviter tout apport de SO_2 par le bois lors de l'entonnage des moûts. Enfin, le sulfitage des vins en fin de fermentation alcoolique doit être différé pour éviter une formation excessive d'hydrogène sulfuré.

Lorsque ces précautions sont prises, les vins blancs élaborés en fûts peuvent facilement être maintenus sur biomasse totale sans réduire. En revanche, la prévention des problèmes

de réduction lors de l'élevage des vins blancs secs sur lies totales en cuve de grand volume nécessite la mise en œuvre d'un procédé particulier, consistant notamment à séparer temporairement le vin de ses lies après le sulfitage. Elles seront réintroduites ultérieurement dans le vin, après qu'elles aient perdu leur aptitude à générer de l' H_2S .

Nous montrons même, que dans certaines conditions, les levures présentent une aptitude particulière à fixer des mercaptans légers, comme le méthaneéthiol et l'éthaneéthiol, sur leur paroi. On peut parfaitement envisager que ce phénomène mette en jeu la formation de ponts disulfures entre les mannoprotéines et les thiols fixés.

Ainsi, résultat paradoxale de notre travail, les lies de levures ne constituent pas seulement une cause d'apparition de défaut de réduction dans les vins, mais peuvent aussi, dans certaines conditions, être utilisées pour éliminer des mercaptans nauséabonds.

Bibliographie

- ACREE T. E., SONOFF E. P. and SPLITTSTOESSER D. F., 1972. Effect of yeast strain and type of sulfur compounds on hydrogen sulfide production. *Am. J. Enol. Viti.*, 23, 6-9.
- ALEXANDRE H., NGUYEN VAN LONG T., FEUILLAT M. et CHARPENTIER C., 1994. Contribution à l'étude des bourbes: influence sur la fermentescibilité des moûts, *Rev. Fr. Œnol.*, cahiers scientifiques, 146, 11-20.
- ALEXANDRE H. et CHARPENTIER C., 1995. Influence de l'aération d'un milieu de fermentation sur la composition lipidique cellulaire et la production d'acides gras et d'acide acétique chez *Saccharomyces cerevisiae*. *Sci. Alim.*, 15, 6, 579-592.
- ANDERSON R. J. et HOWARD G. A., 1974. La production d'hydrogène sulfuré par la levure et par *Zymomonas anaerobia*. *J. Inst. Brewing*, 80, 3, 245-251.
- ANNESSE B. J. and BAMFORTH C. W., 1982. Dimethyl sulfide- a review. *Journal of the Institute of Brewing*, 88, 244-252.
- ANOCIBAR BELOQUI A., GUEDES de PINHO P. and BERTRANDA., 1995. Bis (2-Hydroxyethyl) Disulfide, a New Sulfur Compound Found in Wine. Its Influence in Wine Aroma. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46, n° 1, 1995.
- ANOCIBAR BELOQUI A., GUEDES de PINHO P. et 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, n° 1, 17-26.
- ASHWORTH M.R.F., 1976. The determination of sulphur-containing groups, 2, Academic Press London. New-York. San Francisco.
- BAMFORTH C.W., 1980. Dimethyl sulfoxide reductase of *Saccharomyces cerevisiae* spp. *FEMS Microbiology Letters*, 7, 55-59.
- BAMFORTH et ANNESSE B.J., 1981. The role of dimethyl sulphoxide reductase in the formation of dimethyl sulphide during fermentations. *J. Inst. Brew.*, 87, 30-34.
- BARWALD G. and KLIEM D., 1971. Ein Beitrag zum Methioninstoffwechsel der Hefe (*S. cerevisiae*). *Chemie Mikrobiologie Technologie der Lebensmittel*, 1, 27-32.
- BAUMES R., CORDONNIER R., NITZ S., DRAWERT F., 1986. Identification and determination of volatile constituents in wines from different cultivars. *J. Sci. Food Agric.*, 37, 927-943.
- BAUMES R., BAYONOVE C., BARILLERE J.-M., ESCUDIER J.-L., et CORDONNIER R., 1988, La macération pelliculaire dans la vinification en blanc. Incidences sur la composante volatile des moûts, *Conn. Vigne et vin*, 22, 3, 209-223.
- BELITZ H.D., GROSCHE W., 1985. Aromastoffe. In *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 2. Aufl., 264-313. Berlin : Springer-Verlag.
- BERTRAND A., 1968. Utilisation de la chromatographie en phase gazeuse pour le dosage des constituants volatils du vin. Thèse de 3e cycle, Bordeaux.
- BIDAN P. et COLON Y., 1985. Métabolisme du soufre chez la levure. *Bulletin de l'OIV*, 652-653, 545-563.
- BOIDRON J.N., CHATONNET P. et PONS Monique, 1988. Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins, *Conn. Vigne et vins*, 22, 275-294.
- BOOER C. D. and WILSON R. J. M., 1979. Synthesis of dimethyl sulfide during fermentation by a route not involving the heat-labile DMS precursor of malt.
- Journal of the Institute of Brewing, 85, 35-37.
- BRODY S.S. et CHANEY J.E., 1966. Flame photometric detector: the application of a specific detector to phosphorus and sulphur compounds sensitive to subnanogram quantities, *J. Gas Chromatogr.*, 4, 42-46.
- BURKHARDT R., 1978. Verschiedene geruchswirksame Verbindungen des Schwefels in Mosten und Weinen. *Der Deutsche Weinbau*, 28, 1281-1283.
- BURNETT C.H., ADAMS D.F., FARWELL S.O., 1978, Relative FPD responses for a systematic group of sulfur-containing compounds, *J. Chrom. Sc.*, 16, 68-73.
- CABRASP., MELONI M. and PIRISI F.M., 1983. The effect of clarifying substances on the content of some insecticides and fungicides in white wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 34, 103-107.
- CABRASP., MELONI M. and PIRISI F.M., 1987. Pesticide fate from vine to wine. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 99, 83-117.
- CABRASP., MELONI M. and PIRISI F. M., FARRIS G. A. and FATICHENTI F., 1988. Yeast and pesticide interaction during aerobic fermentation. *Applied Microbiology and Technology*, 29, 298-301.
- CHAPON L. et CHAPON S., 1977. Phénomènes d'oxydation catalytique dans les bières. *European Brewery Convention. Proceeding of the 16 th Congress*, Amsterdam.
- CHATONNET P., 1991. Incidences du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins. Applications technologiques, Thèse pour le Diplôme d'Etude et de Recherche de l'Université de Bordeaux II, n° 2, 229 p.
- CHATONNET P., DUBOURDIEU D. et BOIDRON J.N., 1992. Incidence des conditions de fermentation et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur constitution en substances cédées par le bois. *Sciences des Aliments*, 12, 665-680.
- CHATONNET P., LAVIGNE V., DUBOURDIEU D. et BOIDRON J.N., 1992. Identification et dosage de certains composés soufrés volatils lourds dans les vins par chromatographie en phase gazeuse et photométrie de flamme. *Sciences des Aliments*, 12, 513-532.
- CHATONNET P., DUBOURDIEU D., BOIDRON J. N. et LAVIGNE V., 1993 b. Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. *J. Sci. Food Agric.*, 62, 191-202.
- 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. Application à l'analyse sensorielle des vins, Ed. LAVOISIER, 121-149.
- CHEYNIER V., TROUSDALE E. K., SINGLETON V. L. SALGUES M. et WILE R., 1986. Characterization of 2-S-glutathionylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines. *J.Agric. Food Chem.*, 34, 217-221.
- CHESKIS S., ATAR E. et AMIRAV A., 1993. Pulsed-Flame Photometer : A Novel Gas Chromatography Detector. *Anal. Chem.*, 65, 539-555.
- CHUKWUDEBE A. C., HUSSAIN M. A. and OLOFFS P. C., 1984. Hydrolytic and metabolic products of Acepate in water and mouse liver. *Journal of Environmental Science and Health*, B19, 501-522.
- CHUNG S.H., 1986. Contribution à l'étude de la formation des composés volatils au cours de l'autolyse des levures en vinification, Thèse Doctorat 3e cycle biochimie-Sciences alimentaires, Université de Bourgogne.

- COLAGRANDE O., MAZZOLENI V. et 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, n° 3, Supplemento n° 4, 10-21.
- CORDONNIER R. et DUGAL A., 1968. Les activités protéolytiques du raisin. Ann. Technol. Agric., 17, 189-206.
- DARRIET P., LAVIGNE V., BOIDRON J.N. et DUBOURDIEU D., 1991. Caractérisation de l'arôme variétal des vins de sauvignon par couplage chromatographie en phase gazeuse-odométrie, J. Inter. Sci. Vigne et Vin, 25, 3, 167-174.
- DARRIET P., 1993. Recherches sur l'arôme et les précurseurs d'arôme du Sauvignon. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux II.
- DARRIET P., TOMINAGAT., LAVIGNE V., BOIDRON J. N. et DUBOURDIEU D., 1995. Identification of a Powerful Aromatic Component of Vitis vinifera L. var. Sauvignon Wines: 4-Mercapto-4-methylpentan-2-one. Flavour and Fragrance Journal, 10, 385-392.
- DE MORA S. J., ESCHENBRUCH R., KNOWLES S. J. and SPEDDING D. J., 1986. The formation of dimethyl sulfide during fermentation using a wine yeast. Food Microbiology, 3, 27-32.
- DE MORA S. J., KNOWLES S. J., ESCHENBRUCH R. and TORREY W. J., 1987. Dimethyl sulfide in some Australian red wines. Vitis, 26, 79-84.
- DE MORA S. J., LEE P., SHOOTER D. and ESCHENBRUCH R., 1993. The Analysis and Importance of Dimethylsulfoxide in Wine. Am. J. Enol. Vitic., 44, 3, 327-332.
- DELFINI C. et CERVETTI F., 1992. Study on metabolic and technological factors causing production of large amounts of acetic acid by yeasts during alcoholic fermentation. Biologia Oggi, 6, 217-234.
- DELFINI C., 1995. Scienza et tecnica di microbiologia enologica. "Il Lievito" Ed., Asti, Italie.
- DESCOUT J.-J. 1991. Observations pratiques sur les goûts de réduct. Revue des Œnologues, n° 60, 15-19.
- DU PLESSIS C. S. and LOUBSER G. J., 1974. The bouquet of "late harvest" wine. Agrochemophysica, 6, 49-52.
- DUBERNET M., 1974. Recherches sur la tyrosinase de Vitis vinifera et la laccase de Botrytis cinerea. Applications technologiques. Thèse de 3e cycle. Université de Bordeaux II.
- DUBOIS P. et BRULE G., 1970. Etude des phénols volatils des vins rouges, C.R. hebdomadaire Séances Acad. Agric., ser. D., 271, 1597-1598.
- DUBOIS P., 1983. Volatile Phenols in wines. In "Flavour of distilled beverages, origin and developments", PIFGOTT J. R., Ellis Horwood, Chichester, 110-119.
- DUBOURDIEU D. et LAVIGNE V., 1990. Incidence de l'hyperoxygénation sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins blancs secs du bordelais. Oxygène et Œnologie : Nouvelles Acquisitions. Rev. Fr. Œnol., 124, 58-61.
- DUBOURDIEU D., 1992. La vinification des vins blancs secs en barriques. Dans : Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie, numéro spécial du Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 137-145.
- DUBOURDIEU D. et MOINE V., 1995. Mise au point d'une préparation industrielle extraite de la levure, améliorant la stabilité protéique et inhibant les précipitations tartriques des vins. 5e Symposium International d'Œnologie, 15-17 Juin, Bordeaux.
- DULAU L., 1990. Recherches sur les protéines responsables de la casse protéique des vins blancs secs. Approche biochimique et génétique. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux II.
- ECKARDT J.-G., DENTON M.B., MOYERS J.-L., 1975. Sulfur FPD flow optimization and response normalization with a variable exponential device. J. Chromatogr. Sci., 13, 133-138.
- ESCHENBRUCH R., HASSBROCK F. S. ; and DE VILLIERS J.F., 1973. On the metabolism of sulfate and sulfite during the fermentation of grape must by Saccharomyces cerevisiae. Archives of Microbiology, 93, 259-266.
- ESCHENBRUCH R., 1974. Sulfite and sulfide formation during winemaking-A review. Amer. J. Enol Vitic., 25, 157-161.
- ESCHENBRUCH R., BONISH P. and FISCHER B.M., 1978. The production of H₂S by pure culture wine yeasts. Vitis, 17, 67-74.
- ESCHENBRUCH R., DE MORA S.J., KNOWLES, LEONARD W.K., FORRESTER T. et SPEDDING D.J., 1986. The formation of volatile sulphur compounds in unclarified grape juice, Vitis, 25, 53-57.
- FAIR R.W. et TRUSH B.A., 1969. Reaction of hydrogen atoms with hydrogen sulfide in the presence of molecular oxygen, Trans. Faraday Soc., 65, 1557-1569.
- FARWELL S.O. et RASMUSSEN R.A., 1976. Limitations of FPD and ECD in atmospheric analysis : a review. J. Chromatogr. sc., 14, 224-234.
- FLEET G. H., 1991. Cell Wall. In "The Yeasts", 4, yeasts organelles, 199-277, Academic Press, Londres.
- GONIAK O.J. et NOBLE A.C., 1987. Sensory study of selected volatile sulfur compounds in white wine, Am. J. Enol. Vitic., 38, 3, 223-227.
- GREER D.G. et BYDALEK T.J., 1973. Response characterization of the melpar flame photometric detector for hydrogen sulphide and sulphur dioxide, Envir. Sci. technol., 7, 153-155.
- GUEDES de PINHO P., 1994. Caractérisation des vins de la région de Vinhos Verdes au Portugal. Reconnaissance chimique et sensorielle des vins de cépages blancs non Vitis vinifera. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux II.
- GUNTERTM., BRUNINGR., EMBERGER R., KOPSEL M., KUHN W., THIELMANN T. and WERKHOFFP., 1990. Identification and Formation of Some Selected Sulfur-Containing Compounds in Various Meat Model System. J. Agric. Food. Chem. Soc., 38, 2027-2041.
- HARDING J.S. OWEN L.N., 1954. The alkaline hydrolysis of acetylated vicinal hydroxy-thiols. J. Chem. Soc., 1528-1536.
- HENSCHKE P. A. and JIRANEK V., 1991. Hydrogen sulfide formation during fermentation : effect of nitrogen composition in model grape musts. "International Symposium on Nitrogen in Grapes and Wine", American Society for Enology and Viticulture, 18-19 Juin, Seattle.
- HENSCHKE P. A. and ROSE A. H., 1991. Plasma membrane. In "The Yeasts", vol. 4, Yeasts organelles, 297-345, Academic Press, Londres.
- HEWLETT-PACKARD, 1986. HP-5890A accessory 19256A Flame Photometric Detector (FPD), Part N° 19256-90100, 58p.
- JAKOB L., 1961. Veränderungen von Thiuramen bei der alkoholischen Gärung. Wein- Wissenschaft, 16, 97-104.
- JOCELYN P.C., 1972. "Biochemistry of the SH Group". The occurrence, chemical properties, metabolism and biological function of thiols and disulfides. Academic Press, London.
- JOCELYN P. C., 1987a. Spectrophotometric Assay of Thiols. In "Methods in Enzymology", 143, Academic Press.
- JORDAN B. et SLAUGHTER J.-C., 1986. Sulphate availability and cysteine desulphhydration activity as influences on production of hydrogen sulphide by Saccharomyces cerevisiae during growth in a defined glucose-salt medium. Trans. Br. Mycol. SOC., 87 (4), 525-531.

- KATO S., KURATA T. and FUJIMAKI., 1973. Volatile compounds produced by the reaction of L-cysteine or L-cystine with carbonyl compounds. *Agricultural and Biological Chemistry*, 37, 539-544.
- KECK S., 1989. Untersuchungen zur Bedeutung flüchtiger phenolischer, schwefelhaltiger und stickstoffhaltiger Verbindungen für unerwünschte Aromastoffe des Weines mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie. Thesis, Universität Karlsruhe, Germany.
- KLIS F. M., 1994. Review : cell wall assembly in Yeasts, *Yeast*, 10, 851-869.
- LARUEF., GENEIX C., PARK M.K., MURAKAMI Y., LAFON-LAFOURCADE S. et RIBEREAU- GAYON P., 1985. Incidence de certains polysaccharides insolubles sur la fermentation alcoolique, *Conn. Vigne et Vin*, 19 (1), 41-52.
- LAVIGNEV., BOIDRON J.N. et DUBOURDIEU D., 1992. Formation des composés soufrés volatils lourds au cours de la vinification des vins blancs secs. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*.
- LAVIGNE V., BOIDRON J. N. et DUBOURDIEU D., 1993. Dosage des composés soufrés volatils légers dans les vins par chromatographie en phase gazeuse et photométrie de flamme. *J. Inter. Vigne Vin*, 27, n° 1, 1-12.
- LAWRENCE W.C. et COLE E.R., 1968. Yeast sulfur metabolism and the formation of hydrogen sulfide in brewing fermentations. *Wallerstein. Lab. Comm.*, 31, 95-115.
- LAWRENCE W.C. et COLE E.R., 1972. Isotope studies on the relationship between source and production of volatile sulfur compounds during brewing fermentations. *Proc. 12th Conv. Inst. Brew.*, 117-132.
- LE FUR Y., FEUILLAT M., ETIEVANT P.X., 1991. Analyse des composés soufrés de faible poids moléculaire dans les vins blancs issus de cépage Aligoté, *Rev. Fr (Enol., Cahier scientifique*, 128, 7-13.
- LEDOUX V., DULAU D. et DUBOURDIEU D., 1992. Interprétation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 26, 4, 239-251.
- LEPPÄNEN O., DENSLIOW J. et RONKAINEN P.P., 1980. Determination of thiolacetates and some other volatils sulphur compounds in alcoholic beverages, *J. Agric. Food Chem.*, 28, 359-362.
- LOYAUX D., 1981. Analyse des composés volatils du champagne-Etude de leur évolution au cours du vieillissement en présence de levures, Thèse de Docteur-ingénieur, Université de Dijon, 115 p..
- MAARSE H. et VISSCHER C.A., 1989. Volatile compounds in food-Alcoholic beverages, 1-194, TNO-CIVO, The Netherlands.
- MARAIS J., 1979. Effect of storage and temperature on the formation of dimethyl-sulphide and on wine quality, *Vitis*, 18, 254-260.
- MARSHALL W., 1977. Thermal decomposition of ethylenbisdithiocarbamate fungicide to ethylethiourea in aqueous media. *J.Agric. Food Chem.*, 25, 357-361.
- MASSELOT M. et de ROBICHON -SZULMAJSTER H., 1972. Nonsense mutation in the regulatory ETH2 involved in methionine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 71, 535.
- MATSUI S. and AMAHAM., 1981. Production of S-methyl thioacetate from methyl mercaptan by brewer's yeast. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45, 1341-1349.
- MAUJEAN A., 1978. Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de champagne, *Conn. Vigne et vin*, 12, 277-280.
- MAUJEAN A. et SEGUIN Nadine, 1983a. Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de champagne 3 : Les réactions photochimiques responsables des goûts de lumière dans les vins de champagne, *Sci. Alim.*, 3, 589-601.
- MAUJEAN A. et SEGUIN Nadine, 1983b. Contribution à l'étude des goûts de lumière dans les vins de champagne 4 : Approches à une solution œnologique des moyens de prévention des goûts de lumière, *Sci. Alim.*, 3, 603-613.
- MAUJEAN A., 1989. Goûts anormaux. *Revue des œnologues*, n° 535 (novembre), 31-32.
- MAUJEAN A., 1990. Influence d'agents extérieurs physico-chimiques à l'origine des goûts sulfhydriques et de réduction dans les vins. Moyens de prévention. Résumé des conférences Oenotech 90, 43-69, PALEXPO, (Genève).
- MAUJEAN A., NEDJMA M., VIDAL J.P., CANTAGREL R., LURTON L., 1993. Etude du comportement chimique et thermique des produits soufrés dans les vins et les eaux-de-vie. Elaboration et connaissance des spiritueux., ed. LAVOISIER Tec. et Doc., 110-122.
- MAURICIO J. C., 1989. Estudio de algunos factores que pueden favorecer el desarrollo y la supervivencia de las levaduras de vinificación en los mostos y vinos de crianza en "flor" de la zona Montilla-Moriles. Doctor es Ciencias, Universidad de Cordoba, Espana.
- MAW G.A., 1965. The role of sulfur in yeast growth and in brewing. *Wallerst. Lab. Comm.*, 28, 95, 49-70.
- Mc CREADY R.G.L. et DIN G.A. 1974. Active sulfate transport in *S.cerevisiae* var. *ellipsoidus*. *FEBS letters*, 38, 361-363.
- Mc GHIE T. K et HOLLAND P.T. 1987. Headspace gas chromatography of carbon disulfide in the determination of Dithiocarbamate fungicide residue. *Analist*, 112, July, 1075-1076.
- MEILGAARD M. C., 1981. Beer Flavour, Thesis, Technial University of Denmark, Ann Arbor, Michigan, USA, University Microfilms International.
- MEUSSDOERFFER F., TORTORA P. and HOLZER H., 1980. Purification and properties of proteinase from yeast. *J.Biol. Chem.*, 255, 12087-12093.
- MIZANY A.E., 1970. Some characteristics of the melpar flame photometric GC detector in the sulfur mode, *J.Chromatogr : sci*, 8, 151-154.
- MIZUSHINA K., TAKASHIMA K., TAKAHASHI T. et TOTSUKA A., 1990. Effects of middle and higher boiling sulfur compounds on wine flavour. *Nippon Jozo Kyokaiishi*, 85, n° 2, 120-126.
- MONK P. R., 1986. Formation utilization and excretion of hydrogen sulphide by wine yeast. *Wine Industry Journal*, Novembre, 10-16.
- MORTON I.D. et MACLEOD A.J., 1990. Food flavours-Part C : The flavour of fruits, 360 p., Elsevier, New-york.
- MULLER C.J., KEPNER R.E. et WEBB A. D., 1971. Identification of 3-(methylthio)-propanol as an aroma constituent in "Cabernet Sauvignon" and "Ruby Cabernet" wines, *Am. J. Enol. Vitic.*, 22, 156-160.
- NAIKI N., 1965. Some properties of sulfite reductase from yeast. *Plant and Cell. Physiol.*, 6, 179-194.
- NAIKI N. et YAMAGATA S., 1973. Isolation of o-acetyl homoserine from culture broth of a methionine auxotroph of *S. cerevisiae*. *Plant. Cell. Physiol.*, 6, 119.
- NEJMA M. et MAUJEAN A., 1995. Improved Chromatographic analysis of volatile sulfur compounds by the static headspace technique on water-alcohol solutions and brandies with chemiluminescence detection. *Journal of Chromatography A*, 704, 495-502.
- NIEFIND H. J. and SPATH G., 1971. Die Bildung flüchtiger von Aromastoffe durch Mikroorganismen. *European Brewing Convention Procceding 13th Congress*, Estoril, 459-468.
- NYLEN P. and OLSEN A., 1941. Thiol acids added to ethylene oxide. *Svensk Kem. Tidsk*, 53, 274-281.
- NYKANEN L. et SUOMALAINEN H., 1983. Sulphurs compounds in

- "Aroma of beer, wine and distilled alcoholic beverages", D. REIDEL Pub. Comp., Dordrecht Holland, 233-248.
- PECSAR R.E., et HARTMAN C.H., 1973. Automated gas chromatographic analysis of sulfur pollutants, *J. Chromatogr. Sci.*, 11, 492-502.
- PEPPARD T., 1988. In *Beer Analysis*, Linskens H.F. (ed.), 241-253, Springer-verlag, Berlin.
- PRZYJAZNY A., JANICKI W., CHRZANOWSKI W. and STASZEWSKI R., 1983. Headspace gas chromatographic determination of distribution coefficients of selected organosulphur compounds and their dependence on some parameters. *J. Chromat.*, 280, 249-260.
- RANKINE B.C., 1963, Nature origin and prevention of hydrogen sulphide aroma in wines, *J.Sc. Food and Agric.*, 2, 79-91 ;
- RANKINE B. C., 1968. The importance of yeasts in determining the composition and quality of wines. *Vitis*, 7, 22-49.
- RAPP A., GUNTERT M., ALMYJ., 1985. Identification and significance of several sulfur-containing compounds in wine, *Am. J. Enol. Vitic.*, 36, 3, 219-221.
- RAPP A. and GUNTERT M., 1986. Changes in aroma substances during the storage of white wines in bottle. In "the Shelf Life of Foods and beverages". Proceedings of the Fourth International Flavour Conference, Rhodes, Greece, 23-26 July, ed. G. CHARALAMBOUS, 141-167, Amsterdam : Elsevier Science Publishers.
- RAUHUT D., 1985. Versuche zum Nachweis extrem flüchtiger Schwefelverbindungen mit "Böckser-Wirkung". Diplomarbeit, Diplom-oenologie, Universität Gießen, Germany.
- RAUHUT D., SPONHOLTZ W. R. and DITTRICH H. H., 1986. Beeinflussen Pflanzenschutzmittel die Weizenqualität? *Der Deutsche Weinbau*, 16, 872-874.
- RAUHUT D., 1990. Trace analysis of sulphurous off-flavours in wine caused by extremely volatile-S-containing metabolites of pesticides e.g. Orthene. In RIBERAU-GAYON P. et LONVAUD Aline, *Actualités Œnologiques* 89, 482-487, Dunod., Paris.
- RAUHUT D., 1993. Yeasts-production of sulfur compounds. In "Wine microbiology and technology", GRAHAM FLEET ed., 183-223.
- RIBERAU-GAYON P., LAFON-LAFOURCADE S. et BERTRAND A., 1975. Le débourbage des moûts de vendange blanche, *Conn. Vigne et Vin*, 9 (2), 117.
- RIBERAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBERAU-GAYON P., 1976. In "Sciences et Techniques du Vin", T. III, DUNOD ed., Paris.
- RIBERAU-GAYON P. et LAFON-LAFOURCADE S., 1984. Utilisation des écorces de levure pour la prévention et le traitement des arrêts de fermentation en vinification, *CR Acad. Agric.*, 70 (8), 974-980.
- ROZES N., 1992. Contribution à l'étude du métabolisme lipidique de *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux II.
- SHEARER R. L., O'NEAL D.L., RIOS R., and BAKER M.D., 1990. Analysis of sulfur chemiluminescence detection. *J. Chromato. Sc.*, 28, 24-28.
- SCHMITT A., KOHLER H., MILTENBERGER R. and CURSCHMANNK., 1986 (a, b). Einflub von Pflanzenschutzmitteln auf Most and Wein. I und II. *Der Deutsche Weinbau*, 41, 323-329 (a), 365-369 (b).
- SCHMITT A., 1987. Untersuchung des chemischen Verhaltens von Tetramethylthiuram-disulfid in Lebensmitteln. Thesis, Universität Karlsruhe.
- SCHREIER P. et DRAWERT F., 1974a. Gaschromatographisch-Massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines II : Thioätherverbindungen des weinaromas, *Z. Lebensm. Unters-Forsch.*, 154, 279-284.
- SCHREIER P. et DRAWERT F., 1974b. Gaschromatographisch-Massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines I. Unpolare verbindungen des weinaromas, *Z. Lebensm. Unters-Forsch.*, 154, 273-278.
- SCHREIER P., DRAWERT F. et JUNKER A., 1974. Gaschromatographisch-Massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines V. mitteilung. alkohole, hydroxy-ester, lactones und andere polare komponenten des weinaromas, *Chem. Mikrobiol. Technol.*, 3, 154-160.
- SCHREIER P., DRAWERT F. et JUNKER A., 1975. Über die Biosynthese von Aromastoffen durch Mikroorganismen. I. Bildung von N-Acetyl-aminen durch *Saccharomyces cerevisiae*. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 158, 351-360.
- SCHREIER P., DRAWERT F. et JUNKER A., 1975. Gaschromatographisch-Massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines V. Nachweis sekundärer amide in wein, *Z. Lebensm. Unters-Forsch.*, 157, 34-37.
- SCHREIER P., DRAWERT F., JUNKERA, BARTON H et LEUPOLD G., 1976. Über die Biosynthese von Aromastoffen durch Mikroorganismen. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 162, 279-284.
- SCHREIER P., 1979. Flavor composition of wines : a review, *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 12, 59-111.
- SHANKARANAYANA M.L., RAGHAVAN B., ABRAHAM K.O. et NATARAJAN, 1982. Sulphur compounds in flavours. In MORTON I.D. et MACLEOD A.J. (ed.), *Food flavours-part A*, 169-282, Elsevier, New-York.
- SHAW P. E. and NAGY S., 1981. Analysis and flavour effects of volatile sulfur compounds in citrus juices. In "The Quality of Foods and Beverages". Chemistry and Technology ed. G. CHARALAMBOUS et G. INFLETT, 361-376, New-York: Academic Press.
- SHIMIZU J.I. et WATANABE M., 1982a. Volatile compounds identified in the acidic fraction of wines from Koshu and Zenkoi grapes, *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1377-1380.
- SHIMIZU J.I., WATANABE M., 1982b. Volatile compounds identified in the neutral fraction of wines from Koshu and Zenkoi grapes, *Agric. Biol. Chem.*, 46, 2353-2357.
- SIMPSON R. F., 1979. Aroma composition of bottle aged white wine. *Vitis*, 18, 148-154.
- SINGLETON V. L., ZAYA, TROUSDALE E. K., SALGUES M., 1984. Caftaric acid in grapes and the conversion to a reaction product during processing. *Vitis*, 23, 113-120.
- SOLES R. M., OUGHT C. S. and KUNKEF R.E., 1982. Ester concentration differences in wines fermented by various species of yeast, *Am. J. Enol. Viti.*, 33, 94-98.
- SOUFLEROS E. et BERTRAND A., 1979. Rôle de la "souche de levure" dans la production de substances volatiles au cours de la fermentation du jus de raisin. *Conn. Vigne Vin*, 3, 181-198.
- SPEEDING D. J., ESCHENBRUCH R. and PURDIE A., 1980. The distribution of dimethyl sulfide in some New Zealand wines. *Vitis*, 19, 241-245.
- SPEEDING D. J. and RAUT P., 1982. The influence of dimethyl sulfide and carbone disulfide in the bouquet of wines. *Vitis*, 21, 240-246.
- SPEEDING D.J., ESCHENBRUCH R. et MCGREGOR P.J., 1983. Sulphur compounds in the headspace of some New-Zealand commercial wines, *Food Technol Austr.*, 35, 1, 22-23.
- STERN D.J., GUADAGNI D. and STEVENS K.L., 1975. Aging of wine : Qualitative change in the volatile of Zinfandel wine during two years, *Amer. J. Enol. Vitic.*, 26, 208-213.
- STRATFORD M. and ROSE A. H., 1985. Hydrogen sulphide production from sulphite by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of General Microbiology*, 131, 1417-1424.

- STRATFORD M. and ROSE A. H., 1986. Transport of sulphur dioxide by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of General Microbiology*, 132, 1-6.
- STRATFORD M., 1994. Another brick in the wall? Recent developments concerning yeast cell envelope. *Yeast*, 10, 1741-1752.
- SUGIYAMA T., SUZUKI Y., TAKEUCHI T., 1973. Intensity characteristics of S2 emission for sulfur compounds with flame photometric detector. *J. Chrom. Sc.*, 11, 639-641.
- TANNER H., 1969. Der Weinböcker, Entstehung und Beseitigung. *Zeitschrift für Obst- und Weinbau*, 105, 78. Jhg, 252-258.
- TOMINAGA T., MASNEUF I et DUBOURDIEU D., 1995. Mise en évidence d'un S-conjugué de la cystéine, précurseur d'arôme du Sauvignon. *J. Inter. Vigne et Vin*, 29, n° 4, 227-232.
- VOS P. J. A., 1981. Assimilierbarer Stickstoff, ein Faktor, der die Weinqualität beeinflusst. In 6. Internationales Onologisches Symposium, 28 au 28 avril 1981, Mainz, Germany, edited by Lemperte E. and Frank J., 163-180. Breisach: Eigenverlag der Internationalen Interessengemeinschaft für moderne Kellertechnik und Betriebsführung.
- VOS P.J.A. et GRAY R.S. (1979). The origin and control of hydrogen sulfide formation during fermentation of grape must. *Am. J. Enol. Vitic.*, 30, n° 3, 187-197.
- WAINWRIGHT T., 1970. Hydrogen sulphide production by yeast under conditions of methionine, pantothenate or vitamin B6 deficiency. *J. Gen. Microbiol.*, 61, 107-119.
- WAINWRIGHT T., 1971. Production of H2S by yeast: role of nutrients. *J. Appl. Bact.*, 34, 161-171.
- WAINWRIGHT T., 1971. Effect of leucine on H2S production by yeast: relationship to methionine. *Brauwiss*, 24, 334-338.
- WAINWRIGHT T., 1972. Sulfur tastes and smells in beer, *Brewers digest*, July, 78-83.
- WAINWRIGHT T., MACMAHON J. F. and MACDOWELL J., 1972. Formation of methional and methanethiol from methionine. *J. Sci. Food Agri.*, 23, 911-914.
- WATERS E. J., WALLACE W. and WILLIAMS P. J., 1992. The identification of heat-unstable wine proteins and their resistance to peptidases. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1514-1519.
- WEBB A.D., KEPNER R. E. and GALETTO W.G., 1965. Volatile components of sherry wine. II. Isolation and identification of N-(2-phenyl)acetamide and N-isoamylacetamide. *Am. J. Enol. Vitic.*, 15, 1-19.
- WEBB A.D., 1977. Volatiles in grapes and wines. In *The proceedings of the fifth biennial codata conference*, DREYFUS B. (ed.), 101-108, Pergamon Press, Oxford.
- WENZEL K. and DITTRICH H. H., 1978. Zur Beeinflussung der Schwefelwasserstoff-Bildung der Hefe durch Trub, Stickstoffgehalt, molekularen Schwefel und Kupfer bei der Vergärung von Traubenmost. *Wein- Wissenschaft*, 33, 200-213.
- WENZEL K., DITTRICH H. H., SEYFARDT H. P. and BOHNERT J., 1980. Schwefel-rückstände auf Trauben und im Most und ihr Einflub auf die H2S-Bildung. *Wein-Wissenschaft*, 35, 414-420.
- WENZEL K. and DITTRICH H. H., 1983. Hydrogen sulfide (H2S) formation by yeasts during wine making. In *The 3rd. International Mycology Congress*, Tokyo, Japan, Abstract, 339.
- WILLENRADT H.L. et LEVIS M.J., 1969. Production of hydrogen sulphide by yeast. *Proc. Am. Soc. Brewing Chem.*, 108-113.
- WILSON L.G., ASAH I. T. et BANDURSKI R.S., 1961. I. Reduction of sulfate to sulfite. *J. Biol. Chem.*, 236, 1822-1829.
- YAMAGATA S., 1980. Occurrence of low molecular weight o-acetyl serine sulfhydrylase in the yeast *S. cerevisiae*. *J. Biochem.*, 88, 1419.
- YOSHIMOTO A. et SATO., 1968. Studies on yeast sulfite reductase. I. Purification and characterization. *Biochem. Biophys. Acta*, 153, 555-575.
- Y U N O M E H. NISHIMURA K., MASUDAM, ZENIBAYASHI Y. and OHKAWA E., 1981. Some neutral volatile compounds of botrytized wine. *Journal of Fermentation Technology*, 59, 177-184.
- ZLOTNIK H., FERNANDEZ M. P., BOWERS B. and CABIB E., 1984. *Saccharomyces cerevisiae* Mannoproteins Form an External Cell Wall Layer That Determines Wall Porosity. *Journal of Bacteriology*, 159, n° 3, 1018-1026.