

# Nouveaux outils pour lutter contre le goût de réduit

Partie 1/2

Bertrand Roger<sup>1</sup>, Jacques-Emmanuel Barbier<sup>1</sup>, Bertrand Robillard<sup>1</sup>, Yann Vasserotz

<sup>1</sup> Institut OEnologique de Champagne - Epernay - France.

<sup>2</sup> Laboratoire d'OEnologie - Faculté des Sciences UPRES EA 2069 - Reims - France.

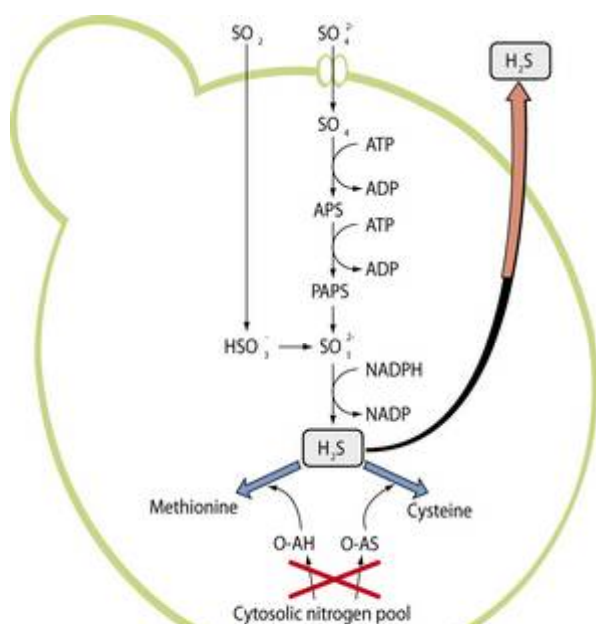
## Introduction

Les composés responsables des goûts de réduction dans les vins sont décrits pour être des composés soufrés. A ce jour, plus de 50 composés comportant l'élément soufre ont été décrits en oenologie. Les descripteurs associés à ces structures vont de l'oeuf pourri au gaz, en passant par l'ail et le chou, et de façon plus sympathique, de la noisette fraîche au grillé. Que ce soit pour des vins blancs ou rouges, tous les œnologues s'accordent à dire que les dérivés soufrés - initiateurs du goût de réduit - restent une des plaies de l'oenologie.

Un bon argument est sans doute le résultat des dégustations du Concours International qui se déroule à Londres (1). Depuis plus de 4 ans maintenant, de 9000 à plus de 13 000 vins du monde sont dégustés chaque année. L'ensemble des défauts oscillent entre 6 et 7%. Il est remarquable que ceux liés au phénomène d'oxydo-réduction avoisinent 50% et ceux relatifs à la réduction proprement dite (sulfides pour les auteurs) frôlent toujours les 30% (tableau 1).

Ces résultats démontrent l'ampleur du problème et que les techniques permettant de les éviter sont loin d'être systématisées ou pleinement efficaces.

■ **Figure 1** : Biosynthèse de l'H<sub>2</sub>S par la levure. Dans ce schéma, si l'azote vient à manquer, la synthèse de la cystéine ou de la méthionine est impossible et l'H<sub>2</sub>S alors en excès est excrété dans le milieu (J.H. Swiegers et I.S. Pretorius, 2007).



## Les principaux composés responsables des goûts de réduit

Il est admis que les substances responsables de ce défaut répondent aux formules de base suivantes :

**R – S – R'** avec R = R' ou  $\bar{R}'$  ou = H ou **R – S – S – R**

A l'origine de ceux-ci, seuls cinq composés naturellement présents dans la nature sont décrits : la cystéine, la méthionine, le glutathion, la thiamine et l'anion sulfate.

En oenologie, s'ajoute le dioxyde de soufre (2) que l'on rajoute au moût ou au vin et certains dérivés phytosanitaires qui - après transformation chimique - peuvent être à l'origine de dérivés soufrés volatils malodorants (3).

## Formation des composés responsables du goût de réduit

Les odeurs de réduction apparaissent principalement au cours de la fermentation alcoolique, mais peuvent aussi - dans une moindre mesure - se développer plus tard, lors de la fermentation malolactique ou d'un vieillissement sur lies. La formation de ces dérivés est donc multiple et complexe. Nous ne faisons ici que résumer les différentes origines.

Une importante synthèse sur les capacités de *Saccharomyces cerevisiae* à créer des dérivés soufrés comme H<sub>2</sub>S est visible dans le travail de Swiegers & Pretorius (4) (figure 1).

Celui-ci montre que la levure est capable - par manque d'azote - d'accumuler puis d'excréter l'H<sub>2</sub>S provenant du métabolisme des sulfates impliqués dans la synthèse de la méthionine ou de la cystéine.

Afin d'éviter cette dérive métabolique, il est donc nécessaire que :

- La quantité de précurseur azoté soit suffisante ; le précurseur étant principalement dérivé de l'azote assimilable du milieu plutôt que des stocks internes d'azote de la cellule, l'azote assimilable s'impose donc comme un facteur essentiel dans la régulation de la production d'H<sub>2</sub>S par les levures;

- La quantité d'H<sub>2</sub>S produite soit régulée par la cellule en fonction de ses besoins. Des travaux (5) tendent à montrer qu'une régulation existe sur le système enzymatique, permettant la réduction des sulfates en sulfites par la cellule mais dont le fonctionnement n'est pas encore clairement établi.

Ceci complète les travaux de Jiranek et al. (6) : la plus grosse partie de l'H<sub>2</sub>S formé est intimement liée au manque d'azote. Durant les phases de croissance de la levure, sulfites comme sulfate sont capables d'être des substrats pour générer H<sub>2</sub>S. Par contre, il semble que la sulfite réductase soit contrôlée par le système de synthèse de la Méthionine et de la Cystéine, ce qui n'est pas le cas quand le substrat est l'ion sulfite. Cette équipe

montre que – comme l'ammonium – la plupart des acides aminés sont capables de faire diminuer significativement les teneurs en H<sub>2</sub>S s'ils sont ajoutés à temps.

De nombreux essais ont clairement montré l'impact direct de la carence en azote assimilable sur la production d'H<sub>2</sub>S et la correction possible du problème par ajout de phosphate diammonique. Mais il semble bien que la composition qualitative de cet azote assimilable soit aussi fondamentale que sa quantité. Les travaux de Jiranek et al. (6) ont d'ailleurs montré que tous les acides aminés ne donnent pas la même réponse. Ainsi, si pour une souche donnée la plupart des acides aminés entraînent une réduction de la production d'H<sub>2</sub>S, on constate que certains acides aminés sont assez neutres voire aggravent le relargage d'H<sub>2</sub>S. C'était notamment le cas et de manière flagrante pour la cystéine mais aussi – dans une moindre mesure – pour l'acide aspartique, l'acide glutamique, la glycine, l'histidine, l'homosérine, la lysine, l'ornithine, la thréonine et la sérine.

Plus récemment (7), des tests ont montré que l'efficacité de l'addition de phosphate diammonique pour limiter la production d'H<sub>2</sub>S serait variable selon la quantité de méthionine dans le moût. Globalement, sur des moûts non carencés, l'ajout de méthionine diminue la production d'H<sub>2</sub>S mais sur des moûts carencés en azote, pour de faibles concentrations du moût en méthionine, l'effet de la supplémentation en azote sur la production d'H<sub>2</sub>S est limitée et pour des fortes teneurs en méthionine il y a augmentation de la production d'H<sub>2</sub>S.

Thomas et al. (8) ont montré que la production d' H<sub>2</sub>S se fait en 2 «moments» : le premier - de forte amplitude - en début de fermentation, l'autre de moindre ampleur en fin de fermentation. Chacun de ces pics semble apparaître indépendamment l'un de l'autre, ce qui tendrait à montrer que les mécanismes qui les génèrent sont distincts. Seung Park et al. (9) va plus loin en testant l'effet d'une carence azotée sur l'apparition de ces pics ; quelles que soient les conditions du milieu le premier se

■ **Tableau 1** : Synthèse des défauts résultant des dégustations organisées sur 3 années lors de l'International Wine Challenge, Londres (UK) (J. Goode et S. Harrop, 2008).

	2006	2007	2008
Total des défauts %	7,1	NA	5,9
Goût de bouchon	27,8	29,7	31,1
Brettanomyces	10,6	12,8	15,8
Défauts liés à l'oxydation	24,3	22,9	19,1
Défauts liés à la réduction	29,2	26,5	28,9
Autres	8,1	8,1	5,1

produit mais pour un milieu non carencé, le deuxième pic sera très faible, voir absent alors que pour un milieu carencé, le deuxième pic sera marqué. En fait, il semblerait que le dégagement gazeux intense durant la phase exponentielle de croissance permette d'évacuer une bonne partie de l'H<sub>2</sub>S produit lors du premier pic alors que ce ne serait pas le cas avec l'H<sub>2</sub>S produit en fin de fermentation (en phase stationnaire pour les levures).

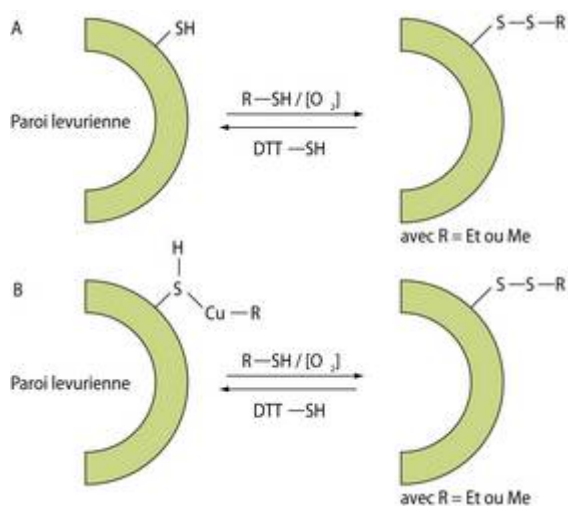
Park et al. (9) ont aussi mis en évidence une corrélation forte entre la carence en azote aminé et la formation de glutathion en fin de FA ; ce dernier ayant la possibilité de se transformer par la suite en composés soufrés volatils (type disulfures). Cette piste mérite d'être approfondie. Quelques données existent sur l'impact des vitamines présentes dans le moût : Rauhut (10) explique qu'une carence en pantothénate favorise la production d'H<sub>2</sub>S avec une valeur limite située entre 50 et 100 µg/L et ce, que le milieu soit ou non carencé en azote. De même, une carence en pyridoxine (<2 mg/L) se traduit par une surproduction d'H<sub>2</sub>S (11).

Enfin, la production d'H<sub>2</sub>S est directement liée à la souche de levure utilisée pour la fermentation. Il a été clairement établi (11) que sur un milieu identique, des différences considérables peuvent apparaître en fonction des souches de levures.

Si les données sur l'hydrogène sulfuré sont nombreuses, celles sur les substances de poids moléculaires plus élevés sont moins nombreuses : les mercaptans type méthanethiol ou éthanethiol sont très réactifs mais possèdent des points d'ébullition très bas (6°C pour le méthanethiol et 35°C pour l'éthanethiol). Ils contribuent souvent majoritairement aux odeurs de réduction type oeuf pourri. Le méthanethiol pourrait se former au cours de la fermentation à partir de la cystéine et de la méthionine. Quant à l'éthanethiol, il se formerait par combinaison d'H<sub>2</sub>S avec l'éthanal ou l'éthanol. En 94, Park et al. (12) montrent que – sur des vins caractérisés comme réduits - l'éthanethiol est souvent présent à des concentrations importantes sur des vins, blancs, issus de variétés de cépages rouges, dont le pinot noir.

C'est à l'équipe de Rauhut que revient majoritairement les études liées à la fermentation malo-lactique (10). Ces auteurs suspectent l'augmentation de pH après la FML pour être une cause d'apparition de goûts de réduits. Les réajustements de SO<sub>2</sub> post-fermentaires peuvent aussi expliquer le passage de composés disulfures

■ **Figure 2** : Fixation des dérivés soufrés sur les parois levuriennes par formation d'un pont disulfure en présence de cuivre.



Abréviation	Nom	Formule	Seuil de perception (µg/l)	Odeur	Vin déclaré réduit (µg/l)
H <sub>2</sub> S	Sulfure d'Hydrogène	H-S-H	0,8 - 1	Œuf pourri	16,3
MeSH	Methanethiol	CH <sub>3</sub> -SH	0,3	Croupi	5,1
EtSH	Ethanethiol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -SH	0,1	Oignon	18,1
DMS	Diméthylsulfure	CH <sub>3</sub> -S-CH <sub>3</sub>	5 - 160	Coing, truffe, asperge	2
CS <sub>2</sub>	Disulfure de Carbone	S=C=S	110	Caoutchouc	2,4
DES	Diéthylsulfure	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -S-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	0,9 - 18	Ail	
DMDS	Diméthyldisulfure	CH <sub>3</sub> -S-S-CH <sub>3</sub>	2,5 - 45	Coing, asperge	2
DEDS	Diéthylsulfure	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -S-S-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	4,3 - 40	Oignon	
EMS	Ethylméthylsulfure	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -S-CH <sub>3</sub>			

■ **Tableau 2 :** Les principales substances responsables du goût de réduit et quelques unes de leurs propriétés sensorielles.

en mercaptans parfois plus odorants que les dimères correspondant. En tout sens, *O. oeni* est capable de biosynthétiser le méthaneol, le diméthylsulfure ainsi que le méthionol et le méthionol à partir de la méthionine. Ces mêmes auteurs indiquent que la formation des dérivés sulfurés est intimement liée aux teneurs en méthionine mais aussi en glutathion et au pH. Finalement, il est clair que certaines souches malolactiques montrent plus ou moins la capacité à former ces dérivés sulfurés (13).

Les mercaptans étant très réactifs, ils s'oxydent facilement en disulfures parfois aussi malodorants. Ces derniers sont ensuite impossibles à éliminer par des techniques de type aération (l'oxydation est déjà faite !) ou de stripping (une purge classique par un gaz neutre ne suffit pas car la pression de vapeur de ces produits est souvent trop faible).

Volontairement, nous ne donnerons pas de détails sur les autres composés comme le méthionol (2), connus pour être vecteurs du goût de réduit, ni sur la génération de ces produits orientée par le process.

A la vue des défauts générés, bon nombre de techniciens tentent - avec plus ou moins de bonheur - à les annihiler. Les techniques les plus utilisées mettent en œuvre les sels cuivriques et l'aération ou encore, mais dans une moindre mesure, les tanins (14).

### Piégeage des composés sulfurés

Il est remarquable que si les levures sont tout à fait capables de générer ces molécules à défaut, en 1996, l'équipe de Dubourdieu (2) montrait que les lies avaient des capacités à diminuer de façon significative ces mêmes défauts.

Pour ces auteurs, le mécanisme incriminé dans la réaction lors d'une aération - en présence de levures - est la fixation directe du composé sulfuré par formation d'un pont disulfure (oxydation directe des groupements thiols). Ces liaisons seraient effectives sur les mannoprotéines constitutives des parois. La démonstration est effectuée par l'ajout d'un réducteur (dithiothréitol : DTT) qui permet effectivement la libération des composés fixés (figure 2a).

En 1997, Palacios et al. (15) montrent par addition d'EDTA comme complexant que les liaisons entre les dérivés sulfurés et les parois levuriennes doivent mobiliser un cation divalent comme le cuivre et que seuls les thiols sont susceptibles d'être éliminés. Pour ces auteurs, ce dernier mécanisme n'explique qu'en partie la fixation des sulfures sur les parois levuriennes. Ce travail a été repris par Maujean en 2001 (3) et un schéma synthétique (figure 2b) permet de visualiser le mécanisme proposé. Vasserot et al. (16) confirment le mécanisme proposé et montrent que l'oxygène moléculaire n'est pas nécessaire. Ces auteurs proposent un troisième mécanisme où le cuivre cuivreux peut être incriminé. La formation d'adduit où Cu<sup>+</sup> est impliqué avec des groupements thiols a d'ailleurs été démontrée dans les années 70 (17, 18). Des complexes insolubles de ce type sont tout aussi capables d'être adsorbés sur la paroi levurienne. A partir de ces derniers travaux et dans une seconde partie de ce mémoire, on présentera le développement de deux formulations qui s'en inspirent. On montrera leur efficacité sur les vins blancs ou rouges et l'on discutera sur les hypothèses qui expliquent leur comportement selon les vins.