

Zeitschrift: Bulletin de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 35 (1943)

Artikel: Le sort de l'acide sulfureux dans les liquides fermentescibles et l'intoxication sulfureuse
Autor: Hutter, Suzanne
Kapitel: Le sort du SO₂ dans les liquides fermentescibles
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099461>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

BaCl₂ est à son tour précipité par une solution de chromate de K correspondante (couleur jaune).

$$\frac{\text{K}_2\text{SO}_4}{\text{BaCl}_2} = \frac{x}{nt} \quad \begin{array}{l} t = \text{titre BaCl}_2 \\ n = \text{cc. K}_2\text{CrO}_4 \\ x = \text{p. K}_2\text{SO}_4 \text{ dans la prise.} \end{array}$$

IV. — TERMINOLOGIE EMPLOYÉE

Disparition : diminution du SO₂ libre initial. (Ce terme peut englober les deux suivants.)

Fixation : Portion disparue du SO₂ mais *recupérable* par l'alcalinisation (SO₂ combiné).

Destruction : Portion disparue du SO₂ *non recupérable* par alcalinisation et pouvant être retrouvée sous forme de sulfates.

« Cette convention terminologique n'est pas seulement destinée à la clarté du texte mais doit encore servir de critique appliquée aux travaux antérieurs.

LE SORT DU SO₂ DANS LES LIQUIDES FERMENTESCIBLES

A. — CAUSES ABILOGIQUES DES TRANSFORMATIONS DU SO₂

1. Partie bibliographique

Introduction : Il nous a été assez difficile de rassembler les données concernant le sort de l'acide sulfureux dans les milieux de culture, éparses dans diverses revues locales. Il n'existe pas de vue d'ensemble suffisante sur les quarante dernières années et chaque auteur a plus ou moins cherché à donner une explication générale, sans toujours ajouter un fait précis. La difficulté première de cette bibliographie vient du fait qu'elle est adressée généralement au praticien, c'est-à-dire au viticulteur. En effet, pour ne pas perdre de vue ce but, les auteurs ont presque toujours travaillé dans des conditions analogues à celles de la pratique mais qui deviennent

complexes quand il s'agit de les interpréter scientifiquement. C'est pourquoi, pour nous faciliter la tâche, nous avons nettement séparé dans notre travail les causes abiologiques des causes biologiques des transformations de l'acide sulfureux.

Nous entendons par les premières, l'étude des éléments du milieu de culture responsables du sort de l'acide sulfureux avant l'introduction de la levure, et par les dernières, les causes dues à la présence de la levure et transformant le milieu par la fermentation qu'elle déclenche. Cette séparation, très nette dans notre travail, l'est moins quand on l'applique à la bibliographie car, comme nous le disons plus haut, certains auteurs, pour être proches des conditions de la pratique, n'ont pas toujours stérilisé leur milieu et leurs observations sont difficilement attribuables au milieu seul.

Le terme même « causes abiologiques » est relatif puisque nous comprenons également les éléments apportés au moût avant la fermentation par d'autres organismes que la levure (oxydases, Botrytis). Il nous a paru cependant nécessaire d'adopter cette séparation pour le regroupement de ces données diverses, afin de mieux comprendre le problème du sort de l'acide sulfureux.

Dans un milieu de culture, l'acide sulfureux « disparaît », c'est-à-dire qu'il échappe au dosage : une partie peut être retrouvée par alcalinisation sous forme combinée, c'est la « fixation », et l'autre n'est pas retrouvée, c'est la « destruction » (voir Terminologie). Nous avons tenté de regrouper les données bibliographiques selon ces termes pour éviter toute confusion.

1. Problème de l'équilibre de l'acide sulfureux libre et combiné. — Nous savons qu'une partie de l'acide sulfureux « disparu » se retrouve après traitement par l'alcalinisation. C'est l'acide sulfureux dit combiné ou « fixé ».

Ce fait, remarqué depuis longtemps, a été l'objet de nombreuses hypothèses et interprétations. Nous verrons plus loin à quels éléments du milieu, l'acide sulfureux est ainsi susceptible de se combiner.

Laborde (1916) le premier, a remarqué qu'il existait un état d'équilibre entre l'acide sulfureux libre et combiné :

« Les combinaisons sont réglées par des états d'équilibre « et par conséquent varient avec la composition du milieu. »

Il donne les chiffres du rapport de l'acide sulfureux combiné sur le total et constate que l'acide sulfureux combiné diminue en même temps que l'acide sulfureux libre. Celui-ci disparaît un peu plus facilement au début, mais à mesure que la dose de SO₂ total décroît le rapport $\frac{\text{SO}_2 \text{ combiné}}{\text{SO}_2 \text{ total}}$ ne conserve pas sa valeur primitive. Il augmente, au contraire, et jusqu'à 100%.

« De sorte que les variations sont en sens inverse de celles « que nous avons vues se produire quand on ajoute à un moût « des quantités croissantes d'acide sulfureux. Cette réversi- « bilité de la réaction prouve bien qu'elle est liée à l'établis- « sement d'un état d'équilibre entre l'acide sulfureux libre « et combiné qui dépend de la dose d'acide sulfureux total « et aussi de la constitution du milieu. »

Musso remarque que si on admet la réaction de combinaison comme étant principalement aldéhydo-sulfitique entre l'acide sulfureux et le sucre, il ne devrait pas y avoir de SO₂ libre dans le milieu.

« Or, la réaction se produit en laissant toujours une notable proportion d'acide sulfureux libre... »

Si on ajoute du SO₂ à un milieu arrivé à son état d'équilibre, la réaction se poursuit et l'SO₂ combiné augmente à nouveau jusqu'à un nouvel état d'équilibre. Au contraire, si dans un milieu, on supprime d'un coup la partie libre par un procédé artificiel (H₂O₂ par ex.), une réaction inverse se produit et l'SO₂ libre prend peu à peu naissance aux dépens du combiné.

« Ce n'est pas à vrai dire un phénomène de combinaison « donnant naissance à des produits stables. C'est principa- « lement un phénomène comparable à la dissociation et qui « tend vers un état d'équilibre variable selon les conditions « du milieu. »

Ribereau-Gayon étudient l'effet de la température sur l'établissement de cet équilibre :

« Il y a donc pour un vin donné, entre la teneur en SO_2 libre et SO_2 combiné, un équilibre dont l'état, régi par la loi d'action des masses est bien défini pour une teneur donnée en SO_2 total. Dans ces conditions, on conçoit bien que cet équilibre dépende de la température et qu'une élévation de température augmente la dissociation des combinaisons du SO_2 . »

C'est en se basant sur l'établissement de cet équilibre que Moreau et Vinet ont cherché à déterminer une « constante de combinaison » et ont établi des règles pour la détermination de la capacité de combinaison de chaque moût.

« On peut estimer dans tous les cas, qu'au bout de quatre jours de contact, la combinaison est achevée. » (Moreau et Vinet.)

Ils établissent leur constante de combinaison :

« Le même moût et le même vin, dans des conditions d'expérience identiques, combinent toujours les mêmes proportions de SO_2 . »

Ils remarquent qu'il existe une limite aux combinaisons totales et établissent « l'indice T » correspondant à la dose de SO_2 nécessaire à cette combinaison totale. Au delà de cette dose, le milieu ne combine plus que partiellement l'acide sulfureux offert. Cette combinaison partielle n'a pas de limite définie ; cependant Moreau et Vinet ont tenté de la déterminer en calculant les doses de SO_2 restant libre qui sont en progression arithmétique lorsqu'on augmente de 100 en 100 mg. les quantités supplémentaires à « l'indice T ». Ils appellent la raison de cette progression « indice R » qui peut être déterminée lorsque la combinaison est achevée, c'est-à-dire après quatre jours de contact¹. Ces règles sont applicables lorsque les conditions sont constantes (éléments du milieu, température de stérilisation et de pasteurisation), et quand les chances de perte par évaporation et par oxydation sont faibles.

¹ On trouvera le détail expérimental de ces règles de Moreau et Vinet dans la thèse de Loos, p. 37 et suiv.

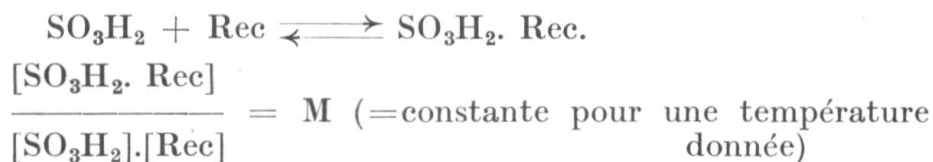
Moreau et Vinet ne tiennent pas assez compte de la « destruction » du SO₂ par oxydation qui « sauf exception, est lente à se produire ».

Nous verrons par nos dosages quotidiens qu'il est difficile d'établir une constante de combinaison pour les raisons suivantes :

1. Les combinaisons sont dissociables.
2. L'oxydation et l'évaporation se poursuivent et pour maintenir l'état d'équilibre, font varier les doses de combiné et de libre.
3. Si, dans le milieu, on observe un phénomène d'oxydation violente dû à la présence d'une substance la déterminant, la combinaison est pour ainsi dire inexistante car le premier phénomène est plus rapide que le second et l'équilibre entre le « combiné » et le « libre » ne peut s'établir.

D'ailleurs Moreau et Vinet eux-mêmes déclarent en 1937 que les « propriétés de combinaisons d'un moût ou d'un vin « sont dissociables à la température ordinaire. Elles sont en « équilibre avec l'acide sulfureux libre ».

Ils donnent la formule de cet équilibre en exprimant par le terme « récepteur » (Rec.) les corps organiques qui combinent l'acide sulfureux sous cette forme dissociable :



2. Documents sur la fixation. — Comme nous le constaterons également dans nos expériences, le moût de raisin non fermenté fixe une part importante de l'acide sulfureux total. Ce fait reconnu par tous les auteurs a été le point de départ de nombreuses théories sur les combinaisons bisulfuriques des éléments de ce moût.

Rappelons sommairement la composition du moût de raisin¹.

¹ D'après Pacottet. Vinification. 1904, p. 4 et suiv.

C'est un liquide sirupeux de densité supérieure à celle de l'eau. Elle varie de 1060 à 1120 et est surtout fonction de la richesse saccharine du moût. La proportion d'eau est considérable : 75 à 80% de son poids. Le sucre de raisin (15-20%) est le principal de ses éléments. Il est surtout formé de glucose (dextrose et lévulose en quantités à peu près égales à maturité) et d'une faible proportion de saccharose. L'acidité est donnée par l'acide tartrique et malique (0,4%), le bitartrate de K (0,5%) et un faible pourcentage d'acides volatils (0,040% acide acétique). Normalement le tanin n'existe pas dans le moût de raisin, cependant on en trouve des traces (0,020%) provenant des pépins, pellicules et rafles. La pulpe du raisin renferme les matières azotées (0,25%) :

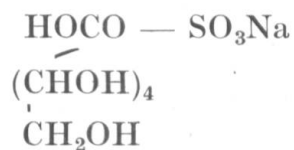
1. à l'état d'albuminoïdes peu solubles et de matières albuminoïdes solubles (peptones) ;
2. à l'état d'amides voisins des peptones ou plus dégradés encore, se rapprochant de l'ammoniaque.

Les substances salines minérales dans le moût sont des sulfates, des phosphates, des chlorures combinés aux alcalis, potasse, soude et chaux. Le fer et le manganèse existent aussi en faibles proportions très solubles sous forme de tartrates et de malates.

Il existe encore 3-5% de matières solubles ou en suspension sur la nature desquels on est fort mal renseigné. Il faut citer les gommés, mucilages et matières pectiques. En outre le moût contient des diastases nombreuses ; la matière colorante provient de la pulpe et les substances sapides qui constituent la saveur spéciale des moûts, de la couche interne de la pellicule du raisin.

Prenons le premier de ces éléments du moût : le sucre qui en constitue les 15-25%. A première vue, il semble qu'il n'y ait point de combinaison bisulfite possible, car elle devrait se faire par le groupe aldéhydique du glucose que l'on sait non fonctionnel par la présence d'un pont oxydique entre les carbones 1 et 5 (pyrane) ou 1 et 4 (furane). D'autre part, si le groupe aldéhydique était fonctionnel, il ne serait pas possible de conserver une part aussi importante d'acide

sulfureux libre, même en admettant la combinaison glucose-acide sulfureux très dissociable en raison de la grande disproportion des quantités de glucose et d'acide sulfureux mis en présence. Cependant Kerp, déjà en 1904, a réussi à obtenir une combinaison glucose-bisulfite. Il a isolé des cristaux en aiguilles épaisses, enchevêtrées, solubles dans l'eau qu'il précipite par l'alcool. Il établit la formule de ce complexe :



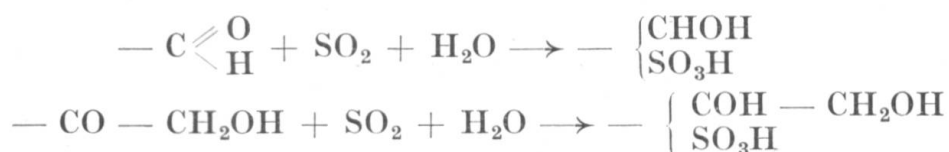
Il faut noter que cette combinaison n'est apparue qu'après des semaines de contact dans une solution de 100 gr. de sucre de raisin et 26,7 gr. de Na₂CO₃, dans 200 cc. d'eau.

L'auteur donne dans une autre communication les constantes de dissociation des différents composés aldéhydo-sulfureux et constate que l'acide glucose-sulfureux a des constantes de dissociation de 311.10⁻³ en solution normale ; 220.10⁻³ en N/10 ; 124.10⁻³ en N/30 alors que l'acide acétaldéhyde-sulfureux a des constantes de 2,84.10⁻⁶ ; 2,26.10⁻⁶ et 2,06.10⁻⁶ pour les mêmes solutions. L'acide glucose-sulfureux serait donc 10⁴ fois plus dissocié que l'acide acétaldéhyde-sulfureux.

En 1907, Kerp et Baur étudient la cinétique de la formation et de la précipitation du complexe par iodométrie et par polarimétrie car ils ont remarqué que la formation de ce complexe correspond à un changement de pouvoir rotatoire du glucose (2 complexes stéréoisomériques optiquement actifs résultant de la fixation de NaHSO₃ sur le glucose qui ne sont pas entre eux inverses optiques).

Ils constatent également qu'en présence simultanée d'acétaldéhyde et de glucose, le SO₂ agit d'abord sur l'acétaldéhyde et après complètes transformations sur le glucose. L'acide glucose-sulfureux d'autre part mis en présence d'acétaldéhyde est transformé en acide aldéhydo-sulfureux et glucose. Fait qui s'explique théoriquement par les constantes de dissociation.

Cette combinaison très dissociable, lente à se former et dans des conditions de concentration particulières, ne jouerait donc pas un rôle primordial dans la fixation de l'acide sulfureux dans le moût. Toutefois, un grand nombre d'auteurs et jusqu'à nos jours, l'ont considérée comme essentielle et même comme seule combinaison importante de l'acide sulfureux dans le moût. (Sabrazès-Mercandier, Dupont, Gaillard, Rocques, Musso, Benvegnin-Capt). Martinand fait le bilan : une partie se dissocie : c'est l'acide libre, l'autre est combinée aux sucres à chaîne aldéhydique libre. Laborde considère le lévulose comme inactif et base sur le rapport glucose-lévulose les différentes capacités de fixation des moûts. Bertin, en rapportant les expériences du Prof. Musso sur des moûts frais constate que la richesse saccharine du moût est un grand facteur du rapport $\frac{\text{SO}_2 \text{ libre.}}{\text{SO}_2 \text{ comb.}}$. Ventre donne même les formules de combinaisons aldéhydiques et cétoniques des sucres avec l'acide sulfureux.



Les groupements aldéhydiques et cétoniques étant transformés en alcools secondaires et tertiaires.

Moreau et Vinet écrivent en 1937 :

« L' SO_2 libre s'unit d'abord et rapidement aux sucres puis se dissocie peu à peu sous l'action de la levure, prend une nouvelle forme de combinaison stable (acide paraldéhyde-sulfureux) qui ne gêne pas la fonction du ferment. »

Warcollier-Le Moal, ainsi que Müller-Thurgau et Osterwalder puis Widmer-Braun-Kalberer ont tenu compte du peu d'importance de cette combinaison de Kerp en soulignant que les sucres par un procédé d'attaque chimique (W. Le M. : mélange oxydant : sulfate ferreux ammoniacal et H_2O_2) ou biologique (action des diastases) peuvent être rendus susceptibles de se combiner à l'acide sulfureux par leur transformation en forme aldéhydique fonctionnelle.

Neuberg avance que le bisulfite qui prend naissance à partir du sulfite au sein du milieu de fermentation s'unit d'abord au glucose (ou au fructose) pour former un complexe suffisamment peu stable pour que d'autres substances comme l'aldéhyde acétique, qui possèdent pour ce même bisulfite une affinité plus grande, s'en emparent et donnent finalement un complexe stable.

Il est donc sage de tenir compte de la possibilité de la combinaison de Kerp, en prenant soin de ne pas la considérer comme essentielle, mais accessoire. Il faut tenir compte de cette combinaison lorsque dans un milieu synthétique l'on augmente la teneur en glucose : ainsi dans le milieu S.P.U. à 15% de glucose, nos courbes montrent une fixation de SO₂ plus accentuée. Cette augmentation de fixation de l'acide sulfureux est fonction de la teneur en glucose.

Des essais de combinaison de glucose avec SO₂ à froid et après stérilisation ont montré que cette combinaison s'effectuait de façon négligeable par rapport à la masse du glucose, mais visible par rapport à l'ac. sulfureux offert. D'autre part la courbe A de la fig. 4 (milieu SO₂ sans glucose) ne montre aucun phénomène de fixation : les courbes de SO₂ total et SO₂ libre se confondent.

A quels autres éléments du moût faut-il alors impliquer cette capacité de combiner l'acide sulfureux ?

Müller-Thurgau et Osterwalder pensent aux tanins car ils remarquent une plus forte combinaison dans des jus provenant de poires à teneur plus élevée en tanins.

Widmer, Braun et Kalberer écrivent en 1932 :

« On ne fera pas d'erreur si on comprend également les « tanins frais dans les combinaisons bisulfitiques. En fait, « les jus à grande teneur en tanin montrent une très grande « capacité de combinaison, abstraction faite de l'acide aldé- « hyde-sulfureux formé. »

Moreau et Vinet en 1937 citent encore cette éventuelle combinaison avec les tanins. Rappelons cependant la faible teneur en tanin des moûts de raisin.

Warcollier et Le Moal constatent que les jus de pommes pourries qui combinent plus d'acide sulfureux que les jus normaux sont plus riches en matières pectiques et mucilages. Sur ces premières, ils essaient leur mélange oxydant qu'ils supposent analogue à l'action des diastases oxydantes, et arrivent ainsi à une combinaison de 50% d'acide sulfureux. Ces matières pectiques, comme les sucres, subiraient une transformation en corps à fonction aldéhydique, aptes à fixer de plus grandes quantités d'acide sulfureux.

Laborde, en remarquant une grande différence dans la capacité de combinaison de l'eau de levure faite à froid ou à chaud (23 mg. contre 93 mg. à chaud), dit que « les matières albuminoïdes, l'albumine de l'œuf ou la gélatine absorbent très peu d'acide sulfureux mais que la peptone qui en dérive en absorbe beaucoup ».

Martinand signale une combinaison entre les matières colorantes et le bisulfite de K :

« Le bisulfite de K dissout la matière colorante des raisins rouges. Cette dissolution croît avec la dose de métabisulfite mais à partir de 300 mg. la quantité de matière colorante dissoute croît très peu. »

Cela donne une combinaison incolore à l'état neutre, rouge en présence des acides et bleue en présence des alcalis.

Évidemment, beaucoup d'auteurs s'accordent à parler de la liaison bisulfitique des aldéhydes des vins et des moûts en fermentation, qui est l'essentielle combinaison de l'acide sulfureux ; mais dans le moût non fermenté, il est reconnu qu'il ne s'en trouve pas.

Laborde écrit à ce propos :

« La recherche de l'aldéhyde dans les moûts avant toute fermentation, n'a donné que des résultats négatifs à Seifert d'abord, et Martinand ensuite n'en a obtenu que des traces en soumettant des raisins à une fermentation intracellulaire de 48 heures. »

C'est en se basant sur ces préfermentations intracellulaires, que, Müller, Thurgau, Osterwalder et plus tard Widmer, Braun et Kalberer ont expliqué leurs constatations de com-

binaisons plus intenses dans des jus provenant de fruits très mûrs ou blets. De même, Warcollier et Le Moal expliquent l'action des diastases oxydantes dans ces jus, action analogue à celle de son mélange oxydant.

Nous voyons par l'ensemble de ces indications que la question de la combinaison de l'acide sulfureux est loin d'être résolue. Il ne semble pas permis d'attribuer à un seul élément la responsabilité de ces fixations. Il faut plutôt songer à une action d'ensemble, une action synergétique de tous ces facteurs, dont chacun à lui seul paraît insuffisant. Ne perdons en outre pas de vue, que ces combinaisons ne sont pas stables, mais réglées par des états d'équilibre.

3. Documents sur la « destruction ». — Comme nous venons de le voir, les auteurs se sont beaucoup préoccupés du sort de l'acide sulfureux et se sont surtout attachés à la question de la « fixation ». Cependant une part importante de l'acide sulfureux disparu ne se retrouve plus sous la forme combinée. C'est ce que nous avons appelé la « destruction » (voir Terminologie). Que devient dans le milieu l'acide sulfureux qu'on ne retrouve plus après l'alcalinisation ?

Une part est évaporée : faible pourcentage. (Moreau et Vinet : « Très faible et très négligeable »). Une autre part importante est oxydée en sulfates. Nous avons peu de renseignements quant au mécanisme de cette oxydation. Sabrazès et Mercandier en 1907 la signalent déjà : « ... une part s'oxyde, « forme des sulfates, enrichit le vin en sulfates de K... ».

Martinand en 1909, en constatant une différence dans la disparition de l'acide sulfureux entre des moûts bisulfités immédiatement ou après 24 heures de repos, suppose « qu'il « existe donc dans le moût des corps fixant l'oxygène de l'air « et si l'on vient à ajouter de l'acide sulfureux, une fois l'oxygène fixé, il est transformé en partie par l'oxygène fixé sur « ce moût ». Et plus loin encore : « ... en stérilisant le moût, « les agents provoquant la transformation de l'acide sulfureux disparaissent et au bout de peu de temps la teneur « d'acide sulfureux libre devient invariable ».

Nous reviendrons sur cette question de l'effet de la température de stérilisation en relatant nos propres expériences.

Martinand remarque également que les composés solides du moût favoriseraient la disparition de l'acide sulfureux (moût trouble).

Gaillard en 1911 cite aussi cette oxydation sous forme de sulfates alcalino-terreux. Saillard fait une étude des catalyseurs qui retardent l'oxydation des sulfites alcalins : « L'oxydation des sulfites alcalins dissous est ralentie par la présence de saccharose, de sucre inverti, de non-sucre en bloc, de l'oxalate d'ammoniaque, de la glycérine, des alcalis libres ou carbonés, de l'asparagine, de l'acide glutamique, du lactate de K ». (Voir propriétés physico-chimiques.)

Haller donne une indication sur le mécanisme des catalyseurs négatifs. Ceux-ci agiraient non pas sur l'acide sulfureux, mais indirectement sur les catalyseurs positifs (surtout les sels de Cu et de Fe) avec lesquels ils formeraient des composés non ionisables.

Saillard donne également les limites de température optimale pour cette oxydation : 15°-90° C. et affirme que l'oxydation marche plus vite si la température s'élève, et plus lentement si la teneur en sucre augmente.

Laborde écrit que si l'on ne prend pas les précautions pour la conservation du moût à l'abri de l'air, quand la quantité d'acide sulfureux est faible, celui-ci finit par disparaître complètement par oxydation.

Müller, Thurgau et Osterwalder remarquent déjà que si un moût part en fermentation plus tôt qu'un autre, l'oxydation de l'acide sulfureux en sulfates est moins rapide et, par conséquent, le moût sera finalement plus chargé en acide sulfureux, mais sous forme combinée. Nous reviendrons plus loin sur ce paradoxe que nous avons mis en évidence au cours de nos recherches.

Widmer, Braun et Kalberer retrouvent l'acide sulfureux oxydé en faisant le bilan des sulfates après la fermentation. Dans les faibles quantités, ils en retrouvent plus même qu'ils ne le prévoyaient et attribuent le surplus à une formation

d'acide sulfurique, lors de l'attaque des albumines par la levure. Mais dans les grandes quantités, ils constatent une perte due probablement à l'entraînement de l'acide sulfureux par le CO₂ au cours de la fermentation.

Cette oxydation de l'acide sulfureux dans les moûts peut-elle être attribuée uniquement à la circulation d'air, inévitable certes mais que l'on peut modérer par des précautions, ou est-elle activée par certains catalyseurs ignorés dans le moût ? (Voir propriétés physico-chimiques.) Cette seconde hypothèse nous paraît plus probable en raison de la « destruction » considérable de l'acide sulfureux. La littérature ne nous donne que peu de renseignements à ce propos.

Nous avons trouvé une référence d'une note de Zay, en 1924, selon laquelle l'acide sulfureux serait simplement oxydé en sulfates par les tanins. Ce fait serait en contradiction avec les suppositions de Rocques, Warcollier, Le Moal, Müller, Thurgau et Osterwalder, Widmer, Braun et Kalberer et Moreau et Vinet sur la combinaison éventuelle de ces tanins à l'acide sulfureux. Nous n'avons pu malheureusement consulter l'article de Zay en raison des circonstances actuelles et nous avons dû nous contenter de cette unique indication.

2. Partie expérimentale

1. Mode opératoire et formules des milieux employés. — Pour cette étude du sort de l'acide sulfureux dans les milieux de culture nonensemencés, nous avons choisi des flacons cylindriques à surface d'évaporation comparable, contenant 1 litre du liquide à étudier. Nous avons stérilisé ces flacons pleins, bouchés au coton, 20 minutes à 110° C. à l'autoclave. Nous les avons bisulfités ensuite à l'aide d'une solution concentrée et titrée de KHSO₃ ou NaHSO₃ à raison de 0,100 à 0,150 gr./l. de SO₂. Une titration de contrôle a toujours été faite immédiatement après le bisulfitage. Les flacons ont été portés à l'étuve à 25° C. et nous avons fait les dosages d'acide sulfureux libre et total (voir Méthodes analytiques) sur des prélèvements stériles quotidiens.

Nous avons obtenu ainsi un contrôle de la progression de la « fixation » et de la « destruction » de l'acide sulfureux.

Nous avons d'abord étudié le moût de raisin. Nous avons utilisé le moût de raisin pasteurisé en 1941 à notre laboratoire. Pour l'étude de l'effet de la température sur les capacités de « combinaison » et de « destruction », nous avons pressé des raisins de l'automne 1942 fraîchement cueillis de la vigne.

Nous avons ensuite composé un milieu synthétique fermentescible par la levure afin d'être certains des éléments de notre milieu. Nous l'avons nommé milieu S.P. Nous avons dû le modifier par la suite en milieu S.P.U.

Voici les formules de ces deux milieux :

Milieu S.P. : Il se compose de deux liquides qui doivent être stérilisés séparément, afin d'éviter des cristallisations de sels, et mélangés stérilement après refroidissement.

Solution S : Nitrate d'ammonium	2 gr.
Asparagine	2 gr.
Glucose	100 gr.
Sulfate de Mg. crist.	1 gr.
Sulfate de Fe. crist.	0,050 gr.
Sulfate de Zn. crist.	0,050 gr.
Sulfate de Mn. crist.	0,050 gr.
Eau distillée q.s.	1000 cc.

Solution P : Phosphate monopotassique	1 gr.
Biomalt	0,5 gr.
Eau distillée q.s.	1000 cc.

Milieu S.P.U : Ce milieu est de même composition que le milieu S.P. sauf que l'on a remplacé l'asparagine (2 gr.) par de l'urée (2 gr.). Nous avons préféré joindre cette urée à la solution P. afin d'éviter une caramélisation du glucose pendant la stérilisation.

En outre, pour l'étude du comportement de l'acide sulfureux, nous avons repris chacun des éléments de ce milieu séparément, en solution dans de l'eau distillée, dans les mêmes concentrations que dans le milieu complet.

2. Comportement de l'acide sulfureux dans le moût de raisins. — Les dosages quotidiens d'acide sulfureux libre et total dans du moût de raisin pasteurisé de 1941 puis stérilisé 20 min. à 110° C., nous ont montré que le moût « fixe » une part importante d'acide sulfureux ($\frac{1}{3}$ environ de la dose initiale) et qu'une part non moins grande ($\frac{1}{2}$ environ de la dose initiale) est « détruite ».

L'équilibre s'établit au bout de deux jours. La fixation est presque instantanée puisqu'à la titration de contrôle immédiatement après le bisulfitage, on n'a que 0,037 gr./l. d'acide sulfureux libre. En suivant la courbe de SO₂ total on peut suivre la marche de la destruction (voir fig. 1). En effet, nous partons d'une dose de 0,153 gr./l., au bout de 24 heures, elle est de 0,126 gr./l. et dès 48 heures, elle se maintient autour de 0,070 gr./l. acide sulfureux total, tandis que l'acide sulfureux libre reste constant entre 0,01 et 0,02 gr./l.

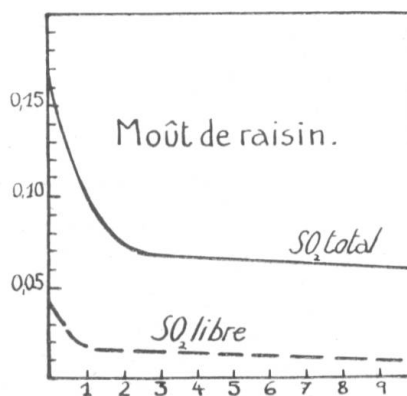


FIGURE 1

Axe des abscisses : nombre des jours

Axe des ordonnées : SO₂ gr./l.

Nous avons ensuite étudié l'influence de la température sur les capacités de « fixation » et de « destruction » du moût de raisin.

Nous avons utilisé un moût pressé au laboratoire, de raisins fraîchement cueillis à la vigne (pour éviter tout contact étranger). Nous avons séparé ce jus en quatre parties que nous avons toutes stérilisées à froid :

Partie A : filtrée à la bougie Chamberland, liquide clair.

Partie B : filtrée à la bougie Chamberland, chauffée à 80° C. pendant ½ h. (bain-marie), liquide légèrement trouble.

Partie C : filtrée à la bougie Chamberland, chauffée à 100° C. pendant ½ h. (autoclave), liquide très trouble.

Partie D : filtrée à la bougie Chamberland, chauffée à 120° C. pendant ½ h. (autoclave), liquide clair mais avec de gros dépôts coagulés.

Détruirait-on les diastases oxydantes de Warcollier-Le Moal ? Si c'était le cas, la température devrait diminuer la « fixation », puisque les diastases détruites par la chaleur ne pourraient plus transformer les sucres et matières pectiques en substances à fonction aldéhydique.

D'après Martinand, nous pourrions nous attendre plutôt à une diminution de la « destruction », puisque les agents provoquant la transformation de l'acide sulfureux en l'oxydant disparaissent, selon lui, par la stérilisation.

Le bisulfite (2 gr./l. SO₂) de ces quatre liqueurs nous ont donné les quatre courbes de la fig. 2.

Nous voyons que les moûts A, B, C ont la même capacité de « fixation ». L'hypothèse de Warcollier et Le Moal ne semble pas vérifiée. Le traitement à 120° augmente fortement la « fixation ». Le chauffage à 120° aurait contribué à la création de substances fixatrices.

La « destruction » grandit jusqu'à 100°. Le facteur de destruction n'est donc en aucun cas de nature enzymatique ou biologique. Le seul fait observé parallèle à cette destruction progressive jusqu'à 100° C. est une accentuation du trouble dans le milieu. A 120° la destruction est même moindre que dans le moût non chauffé (A)¹. Le liquide D est clair et contient de gros coagulums sédimentés. On peut expliquer ce phénomène par deux hypothèses :

¹ Les dosages des sulfates effectués dans les flacons A, B, C, D après 15 jours, nous ont donné : A : 0,2875 gr./l. ; B : 0,3587 gr./l. ; C : 0,3998 gr./l. ; et D : 0,2875 gr./l. K₂SO₄.

1. La forte combinaison constatée soustrait le SO₂ libre à l'oxydation. La stérilisation à 120° C. aurait un effet analogue à celui observé plus loin dans un moût inoculé (paradoxe de conservation de l'acide sulfureux).

2. La coagulation a supprimé l'effet colloïdal propice peut-être à l'oxydation.

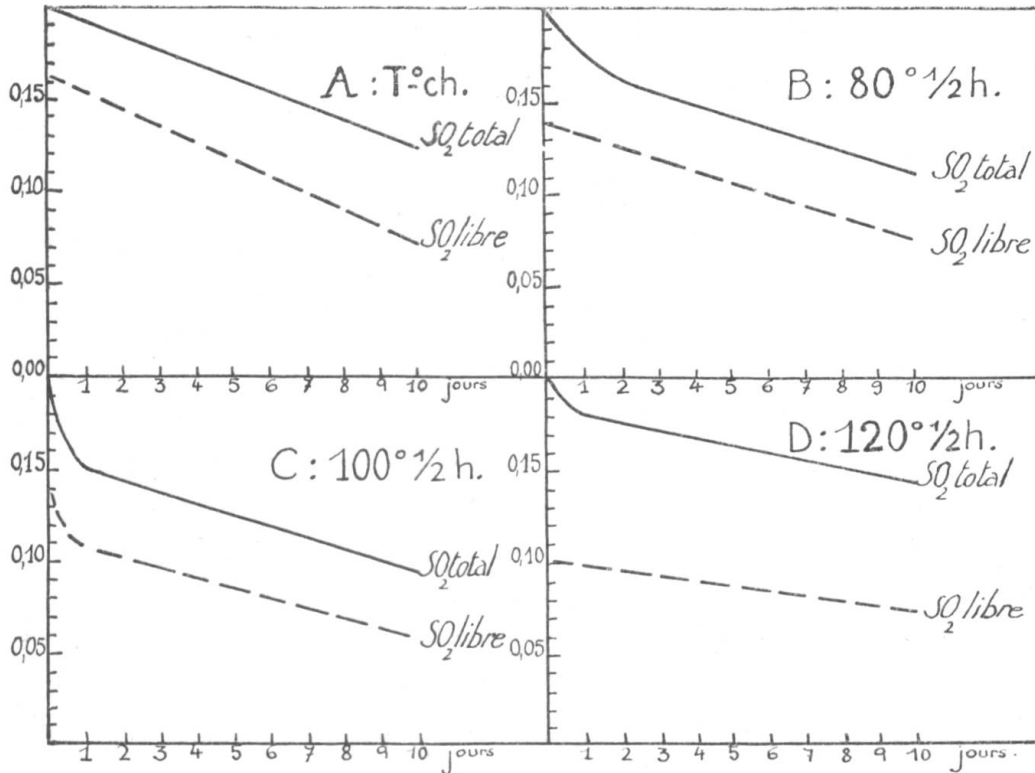


FIGURE 2

Axes des abscisses : nombre des jours
 Axes des ordonnées : SO₂ en gr./l.

Martinand ne nous donne aucune indication sur la nature des « agents provoquant la transformation de l'acide sulfureux qui disparaissent en stérilisant le moût ».

Sont-ils de nature biologique ? Dans ce cas, nous aurions dû observer dans les flacons A, B et C un ralentissement progressif de la « destruction ». Nos résultats nous prouvent le contraire. Sont-ils alors de nature physique, colloïdale ? Le trouble que nous avons observé agirait-il par augmentation de surface et contribuerait-il à la destruction progres-

sive observée ? Nous avons essayé de créer un état colloïdal artificiel dans le moût frais non chauffé. Nous avons constitué deux flacons : l'un témoin contenant du moût frais filtré à la bougie Chamberland, l'autre également filtré mais additionné de 0,1 % de Terre à infusoires.

Les deux flacons bisulfités à 2 gr./l. n'ont pas montré de différence. La suspension colloïdale à l'aide de Terre à infusoires peut-elle cependant être comparée à celle produite par le chauffage ?

Pour le moment, faute de preuves suffisantes pour admettre notre deuxième hypothèse, nous nous tenons à la première dont nous avons eu une confirmation en quelque sorte par nos expériences biologiques, de même que Müller, Thurgau et Osterwalder en 1914. Il faut retenir également cette capacité nouvelle de « fixation » qu'acquiert un moût par la température de stérilisation.

3. Comportement de l'acide sulfureux dans le milieu synthétique S.P. — En soumettant le milieu S.P., bisulfité à

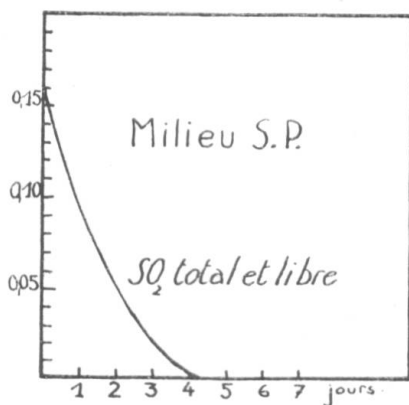


FIGURE 3

Axe des abscisses : nombre des jours
Axe des ordonnées : SO₂ en gr./l.

raison de 0,150 gr./l. SO₂, aux dosages quotidiens de SO₂ total et SO₂ libre, nous avons constaté avec surprise une « destruction » rapide et considérable (voir fig. 3). Au bout de cinq jours, il ne restait plus trace d'acide sulfureux dans le milieu, ni libre, ni combiné. D'ailleurs les chiffres obtenus avant et après l'alcalinisation ont toujours coïncidé pendant cette « destruction ». Nous n'avons donc pas eu de « fixation ».

A quel élément de notre milieu synthétique S.P. fallait-il attribuer cette « destruction » ? On ne pouvait songer à une perte par évaporation seulement. D'ailleurs un flacon témoin

d'eau distillée bisulfitée a été étudié dans des conditions identiques (étuve 25°C .) et nous n'avons décelé qu'une perte de $0,020 \text{ gr. /l. SO}_2$ en 6 jours.

Nous avons repris ces dosages d'acide sulfureux dans le milieu S.P. en supprimant un à un divers éléments le constituant que nous pouvions supposer responsables. C'est ainsi que nous avons étudié les quatre liqueurs suivantes :

- A : milieu S.P. sans glucose
- B : » S.P. » sulfate de Fe
- C : » S.P. » asparagine
- D : » S.P. » biomalt.

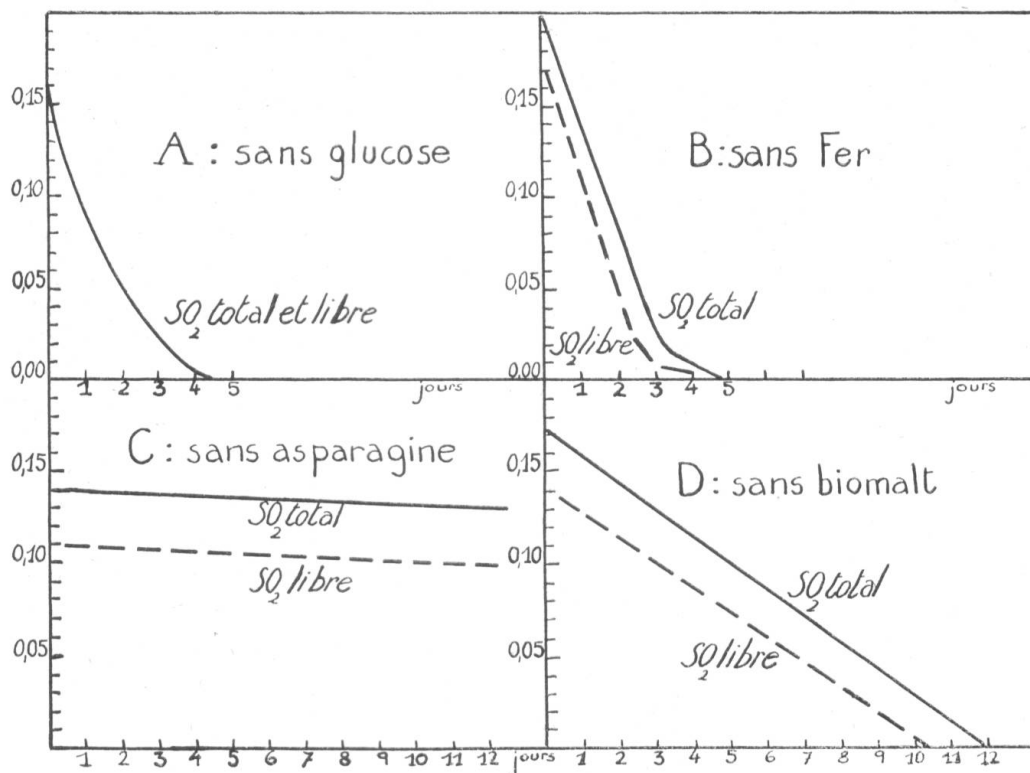


FIGURE 4

Axes des abscisses : nombre des jours
 Axes des ordonnées : SO_2 en gr. /l.

Ces quatre milieux bisulfités à $0,150 \text{ gr. /l. SO}_2$ et portés à 25°C . ont été soumis aux dosages quotidiens de SO_2 libre et total. Les résultats sont consignés dans la figure 4.

On voit de suite que la « destruction » persiste dans les flacons A et B malgré l'absence du glucose et du fer. Donc, ni le glucose, élément de base, ni le fer, catalyseur d'oxydation reconnu (voir prop. physico-chimiques), n'influencent cette « destruction » rapide. Par extension, il ne s'agirait pas non plus d'une action catalysée par les métaux lourds.

La suppression du biomalt ralentit la « destruction ». Elle ne s'achève qu'au bout de 12 jours. Le biomalt étant une substance de composition mal définie, nous ne nous attarderons pas sur ce facteur pour l'instant.

Mais arrêtons-nous surtout à l'examen de la courbe du milieu C. La « destruction » est quasi nulle et nous observons même une faible « fixation ». Nous pouvons en déduire que l'asparagine serait l'élément responsable de cette « destruction » si rapide. Ce qui est surprenant, c'est la constance des valeurs de SO_2 total que nous avons suivies pendant 15 jours. Ces résultats nous ont entraînés à l'étude d'un nouveau problème :

Comment expliquer cette action de l'asparagine sur le bisulfite ?

Nous avons réuni les renseignements que nous avons pu déduire de nos essais dans le paragraphe suivant.

4. Etude de l'action de l'asparagine et des acides aminés sur l'acide sulfureux. — Pour avoir une confirmation de cette action de l'asparagine sur la « destruction » de l'acide sulfureux, nous l'avons étudiée en solution dans de l'eau distillée et bisulfitée dans les mêmes concentrations que dans le milieu complet (1 gr./l. asparagine).

La courbe que nous a donnée cette solution (voir fig. 5 A) nous a montré une « destruction » encore plus intense que dans le milieu complet (un peu plus d'un jour). Nous avons étendu cet essai à des acides aminés : le glycolle et l'acide aspartique, ce dernier différent de l'asparagine par un second carboxyle. Ces deux solutions, préparées et suivies toujours dans les mêmes conditions, nous ont donné les courbes B pour le glycolle et C pour l'acide aspartique de la figure 5.

Le glyocolle a une action analogue à celle de l'asparagine quoique un peu plus lente.

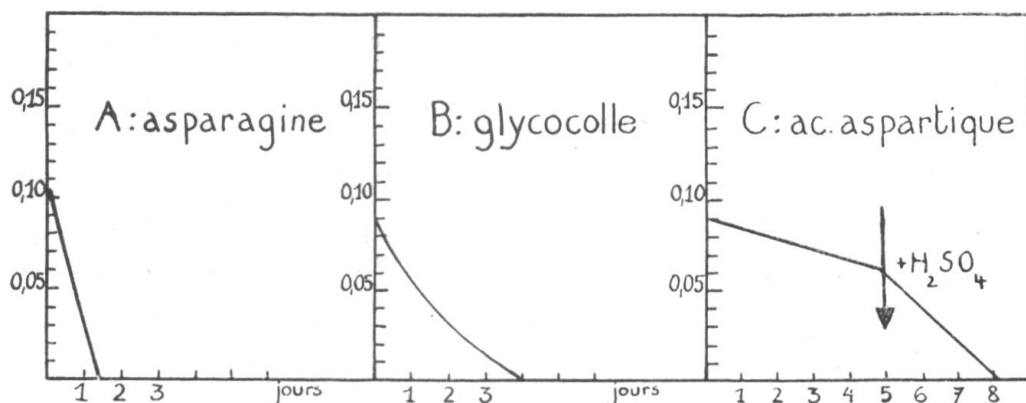


FIGURE 5

Axes des abscisses : nombre des jours
 Axes des ordonnées : SO₂ en gr./l.

L'acide aspartique au contraire ne semble pas avoir d'action. Cependant un nouveau milieu complet, dans lequel l'acide aspartique remplaçait l'asparagine, a été essayé et ne s'est pas montré plus stable qu'avec l'asparagine (« destruction » totale en moins de 4 jours). Pourquoi cette différence entre la solution d'acide aspartique et le milieu ? Nous avons alors songé que l'acide aspartique diffère de l'asparagine et du glyocolle par un second carboxyle et, par conséquent, a un point isoélectrique beaucoup plus bas. En effet nous avons trouvé les valeurs de

$$\begin{aligned} \text{pHi} &= 2,9 \text{ pour l'acide aspartique} \\ \text{pHi} &= 6,6 \text{ pour le glyocolle.} \end{aligned}$$

Quant à l'asparagine nous n'avons qu'une indication de M. D. Bach selon laquelle

$$\text{pHi} = 4,3 - 4,4 \pm 0,1 \text{ pour l'asparagine.}$$

Ces valeurs nous paraissent faibles ; d'ailleurs le même auteur donne la valeur

$$\text{pHi} = 5,9 \pm 0,2 \text{ pour le glyocolle.}$$

Or les pH des solutions A, B et C étaient respectivement de 5 — 5,5 ; 5,5 — 6 ; et 3 — 3,5. Nous étions nettement

à un pH inférieur à pHi pour le glyco-colle et supérieur à pHi pour l'acide aspartique. Le pH du milieu à l'acide aspartique aurait baissé au cours de la réaction de 4,0 à 2,6.

Nous avons donc supposé que l'action de ces acides aminés sur l'acide sulfureux ne pouvait avoir lieu qu'à un pH inférieur à celui de leur point isoélectrique. Nous aurions une action par la fonction amine.

Forts de cette supposition, nous avons acidifié le flacon C (acide aspartique) par H_2SO_4 de façon à obtenir un pH inférieur à 1, donc inférieur au pHi de l'acide aspartique. En poursuivant les dosages, nous avons en effet obtenu une « destruction » rapide, analogue à celle des autres acides aminés (voir fig. 5 C). Inversement, nous avons alcalinisé une solution d'asparagine bisulfitée (pH = 8). Si nous n'avons pas supprimé la « destruction », nous l'avons ralentie ; elle s'est effectuée en 8 jours au lieu de moins de deux jours.

Ces essais nous ont donc confirmé l'action des acides aminés à un pH inférieur à leur pHi. Nous avons alors tenté d'expliquer la courbe D du paragraphe 3 obtenue dans le milieu S.P. sans biomalt. Pourquoi, en effet, en présence d'asparagine, ce milieu ne réagit-il pas comme en A, sachant le comportement d'une solution d'asparagine ? Une autre solution d'asparagine et de biomalt n'a donné aucune « destruction », alors que le biomalt seul, et surtout l'asparagine seule, détruit le SO_2 . Le biomalt agit probablement comme substance tampon ; agit sur le pH en l'abaissant ou en l'élevant suivant les conditions.

Il reste dès lors au chimiste à déceler de quelle sorte d'action nous sommes témoins. Est-ce une action d'ordre catalytique ? Nous ne le pensons pas en raison de la disproportion entre l'acide aminé responsable (1 gr.) et l'acide sulfureux détruit (0.150 gr.). Nous avons d'ailleurs établi une solution équimoléculaire d'asparagine et d'acide sulfureux à un pH nettement inférieur à celui du point isoélectrique de l'asparagine et nous n'avons observé aucun phénomène de « destruction ».

L'acide sulfureux s'est maintenu dix jours dans ce milieu sans subir aucune action de l'asparagine.

Dans tous les flacons où nous avons constaté cette « destruction », nous avons toujours obtenu en fin de réaction par l'essai qualitatif au BaCl_2 un gros précipité de sulfate de Baryum. Il s'agirait donc d'une oxydation de SO_2 en SO_3 . Un essai NH_4Cl bisulfité n'a donné aucune réaction. Nous n'avons en tous cas pas d'addition sur le groupe NH_2 . D'autre part l'hydrolyse, effectuée sur le flacon où la « destruction » avait été constatée, ne libère pas de SO_2 .

Nous n'avons pu aller plus loin dans cette recherche car cela dépassait les limites de notre travail et nous laissons aux chimistes le soin d'élucider cette question.

La littérature ne nous a donné aucun renseignement si ce n'est une phrase de Saillard (voir partie bibliographique 2) citant l'asparagine parmi les catalyseurs négatifs de l'oxydation des sulfites alcalins en sulfates.

Le « Beilstein » et le « Chemisches Zentralblatt », consultés, ne nous ont rien apporté à ce propos.

5. Comportement de l'acide sulfureux dans le milieu S.P.U. et adaptation de ce dernier aux expériences biologiques.

— Il découlait des faits que nous venons de relater que nous ne pouvions utiliser le milieu S.P. pour une étude biologique de l'influence de l'acide sulfureux. Nous devions constituer un milieu synthétique fermentescible pour la levure qui maintienne avec constance l'acide sulfureux libre.

Nous avons tenté de remplacer l'asparagine par l'urée en même quantité, comme source d'azote organique pour la levure.

Un essai du comportement de l'acide sulfureux dans une solution d'urée s'est montré assez satisfaisant : l'acide sulfureux est légèrement « détruit », mais au bout de dix jours, le milieu contient encore une notable dose d'acide sulfureux libre. De plus, l'urée ne fixe pas l'acide sulfureux.

Nous avons alors étudié le milieu complet S.P.U. pour différentes concentrations d'acide sulfureux (voir fig. 6).

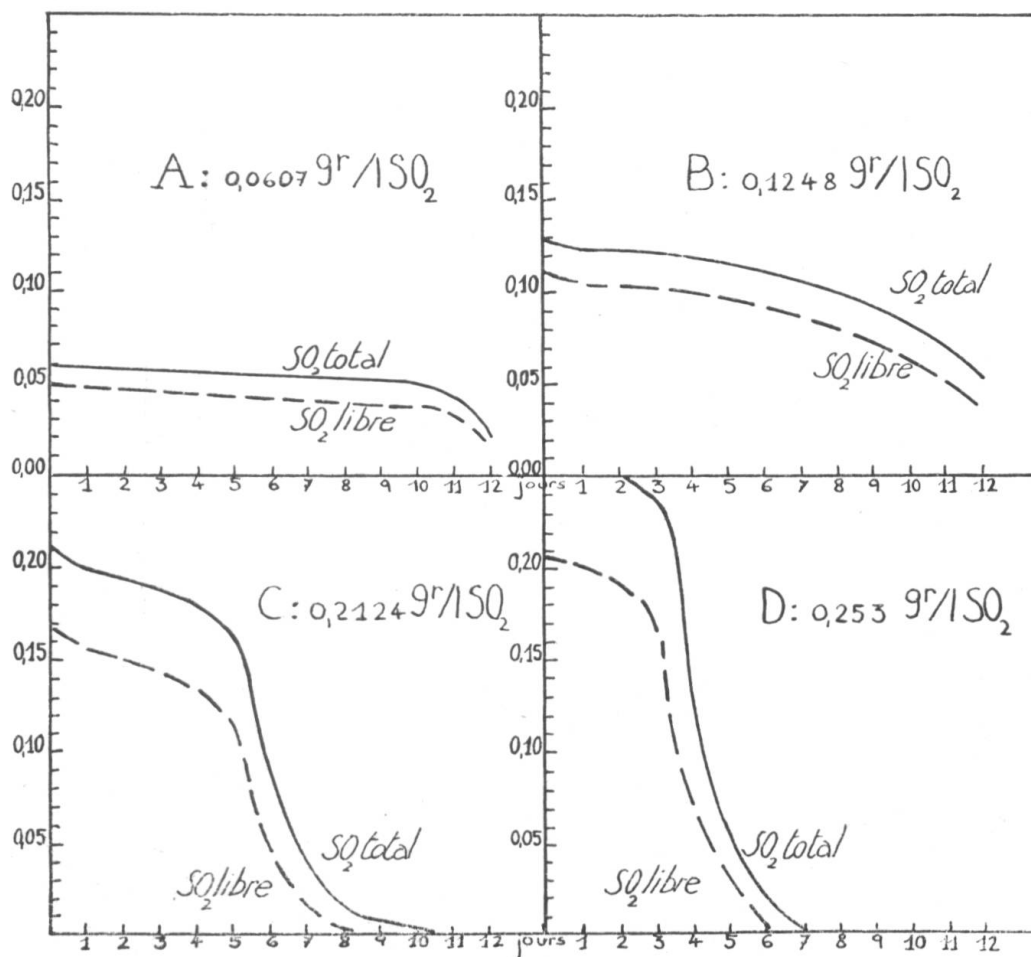


FIGURE 6

Axes des abscisses : nombre des jours
 Axes des ordonnées : SO_2 en gr./l.

Nous voyons que plus les concentrations augmentent, plus la « destruction » commence tôt. Il semble qu'il y ait un facteur déclenchant cette « destruction » et que ce facteur s'installe d'autant plus vite que la concentration en SO_2 est élevée.

Nous constatons également que le milieu S.P.U. fixe une petite dose de SO_2 qui augmente avec la concentration en SO_2 . Ces courbes nous montrent que le milieu S.P.U. peut

être utilisé dans les doses inférieures à 0,150 gr./l. et qu'à condition de rester dans ces limites, nous pouvons utiliser ce milieu pour les expériences biologiques. Au cours de ces recherches, nous avons dû augmenter les doses de glucose et de biomalt. Le milieu a donc été étudié pour ces nouvelles concentrations en glucose et biomalt, et a donné la courbe de la fig. 7. En la comparant à celle de la fig. 6 C (conc. analogue de SO_2), nous voyons que ce nouveau milieu S.P.U. est plus stable. Il « fixe » plus d'acide sulfureux cependant.

Nous pouvons donc également utiliser ce milieu S.P.U. 10% glucose et 1 gr./l. biomalt.

Ce nouveau milieu s'est montré d'une fermentescibilité supérieure.

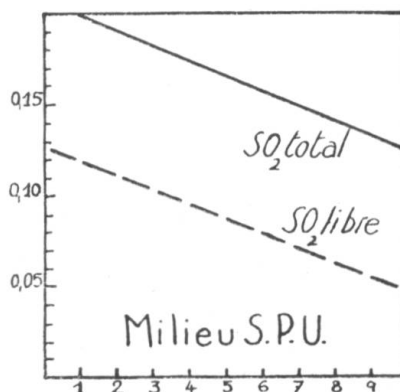


FIGURE 7

Axe des abscisses : nombre des jours
Axe des ordonnées : SO_2 en gr./l.

B. — CAUSES BIOLOGIQUES DES TRANSFORMATIONS DU SO_2

1. Partie bibliographique

Les milieux de culture dont nous venons d'étudier les capacités de « fixation » et de « destruction » resteront-ils aussi stables en présence de la levure qui provoquera la fermentation de ce milieu ?

Certes non, la fermentation entraînera la formation de composés qui seront susceptibles de former des combinaisons nouvelles avec l'acide sulfureux. D'emblée nous songeons à l'acétaldéhyde, produit intermédiaire de la fermentation dont on sait la faculté de se lier à l'acide sulfureux (voir prop. physico-chimiques).

Les auteurs s'accordent d'ailleurs à reconnaître cette « fixation » dans un milieu fermenté, certains l'ont même poussée en ses extrêmes limites afin de voir les possibilités d'adaptation de la levure à un milieu bisulfité, mais c'est toucher à un autre problème que nous considérerons ensuite. Pour l'instant, nous resterons sur le plan de l'acide sulfureux sans nous soucier des répercussions sur la levure et la fermentation.

Le comportement de celui-ci est-il modifié par la levure elle-même, ou seulement par les produits du milieu, nés au cours du processus fermentaire qu'elle déclenche ?

Martinand en 1909 parle d'une transformation de l'acide sulfureux en acide sulfurique par la levure vivante, ce qui permettrait à celle-ci de commencer la fermentation après la « destruction » de l'acide sulfureux. Il avance cependant cette conclusion avec réticence car un essai de 1% de levure sur l'acide sulfureux ne lui a fait constater qu'une perte très faible en SO_2 après 18 heures de contact.

Müller, Thurgau et Osterwalder citent l'influence des diastases sur l'oxydation en sulfates de l'acide sulfureux et ailleurs, ils reconnaissent la disparition de l'acide sulfureux entraîné par le courant d'acide carbonique pendant la fermentation.

Mlle Porchet, en 1931, usa d'un procédé très simple pour s'assurer de l'influence de la levure elle-même ou du milieu fermenté, sur la disparition de l'acide sulfureux : elle constate une fixation plus intense, si l'on remplace le moût sulfité en fermentation par du moût non sulfité en plein travail. Elle refit l'opération en filtrant le moût non sulfité sur filtre Seitz E.K., afin de retenir les levures, et obtint ainsi un résultat pareil. Elle conclut : « Ce sont les substances nées au cours de la fermentation (aldéhydes) qui possèdent un pouvoir de fixation remarquable. »

D'ailleurs Laborde, Gaillard, Hubert et Bailly remarquent cette combinaison de l'acide sulfureux avec l'aldéhyde produite dans le milieu ; Hubert et Bailly écrivent : « Sitôt que les premiers éléments aldéhydiques dégagés par la ferment-

« tation qu'il provoque se seront combinés à l'acide sulfureux, le liquide sera prêt à supporter l'addition de levures normales qui achèveront le phénomène. »

Moreau et Vinet écrivent en 1937 que l'acide sulfureux est combiné dans le vin aux aldéhydes.

En 1914 déjà, Müller, Thurgau et Osterwalder remarquent, en observant le comportement de l'acide sulfureux dans des jus de fruits en fermentation à des dates différentes : « Par suite du changement de l'acidité et de la formation de l'acétaldéhyde, l'oxydation de l'acide sulfureux est suspendue et empêche un plus grand départ de l'acide sulfureux total ; d'autre part la présence d'acétaldéhyde largement combinée a influencé le sort de l'acide sulfureux, de sorte que malgré la grande part d'acide sulfureux combiné, il ne s'en trouve que peu à l'état libre, moins que dans les moûts non fermentés au même moment, quoique ces derniers contiennent moins d'acide sulfureux total ».

Les essais que nous relatons ensuite concordent avec ces différentes observations.

2. Partie expérimentale

Comme Mlle Porchet, nous nous sommes premièrement assurés de la responsabilité des levures ou de la liqueur de fermentation en face d'une disparition de l'acide sulfureux.

Pour ces essais nous avons choisi deux levures de la collection de l'Institut de Botanique :

L 21 : Levure du Fendant du Valais.

Saccharomyces.

Fermentant très bien.

L 87 : Asporomyces Loos, isolé de la caroube et dont Loos a étudié le pouvoir fermentaire (alcool = 3,5% ; sucres restants = 6,8%).

Levure à très fortes propriétés respiratoires.

Nous avons préparé des suspensions égales de ces deux levures dans de l'eau distillée, contrôlées par dénombrement à la cellule compte-globules Thomas-Zeiss.

Les suspensions étaient préparées à partir de 1 cc. de culture de 48 heures sur moût de raisin dans 10 cc. d'eau distillée. Nous avons pris 1 cc. de ces suspensions pour les joindre à 10 cc. d'une solution titrée de KHSO_3 pendant 1 heure à 25° C.

Le titre de la solution de KHSO_3 avant le passage des levures était de 0,0532 gr. /l. SO_2 libre.

Après le passage d'une heure ce titre avait baissé à 0,0383 gr. /l. pour L 21 et était de 0,0512 gr. /l. pour L 87.

Un second essai identique mais à partir d'une culture de 4 jours sur la même solution KHSO_3 nous a donné :

0,035 gr. /l. SO_2 libre pour L 21

0,0521 gr. /l. SO_2 libre pour L 87

Nous voyons que le passage des levures à haut pouvoir fermentaire (L 21) a abaissé en 1 heure seulement le titre de la solution d'acide sulfureux, tandis que le passage de l'*Asporomyces* (L 87) ne semble pas l'avoir influencé.

Nous avons ensuite préparé les suspensions suivantes pour ces mêmes levures :

1 cc. de la culture dans 10 cc. d'eau distillée sont centrifugés. Le culot est repris dans 10 cc. d'eau distillée et 1 cc. de cette suspension est ajouté à la solution de KHSO_3 (titre : 0,04558 gr. /l. SO_2).

Nous avons obtenu après un passage de 3 heures à 25° C. :

0,0424 gr. /l. SO_2 libre pour L 21

0,0424 gr. /l. SO_2 libre pour L 87

Le passage des levures lavées ne semble pas avoir influencé le titre de la solution d'une façon considérable (30 mg.).

En confirmation, nous avons repris ces essais en ajoutant 1 cc. dans l'eau de lavage après la séparation des levures par centrifugation.

Le titre de la solution KHSO_3 étant au départ de 0,04858 gr. /l. SO_2 libre a baissé à :

0,043 gr. /l. par le passage de 3 heures des cellules de levure, pour L 21.

0,039 gr. /l. par le passage de 1 cc. de l'eau de lavage pour L 21.

0,050 gr. /l. pour le passage des cellules de levure pour L 87.

0,042 gr./l. pour le passage de l'eau de lavage pour L 87.

Un essai témoin : 1 cc. d'eau distillée dans 10 cc. KHSO_3 a été constitué et le titre a baissé de 0,04858 à 0,044 gr./l. SO_2 libre par évaporation (3 heures à 25°C .).

Nous voyons nettement que la liqueur de fermentation est responsable de cette baisse du titre en SO_2 libre. Les levures, débarrassées du milieu dans lequel elles ont fermenté, ne semblent pas influencer la disparition de l'acide sulfureux. Les essais concordent avec ceux de Martinand et de Mlle Porchet.

Nous avons ensuite procédé comme dans nos expériences abiologiques, et suivi le comportement de l'acide sulfureux dans un milieu en fermentation. Nous avons choisi la levure L 21 pour tous nos essais de fermentation.

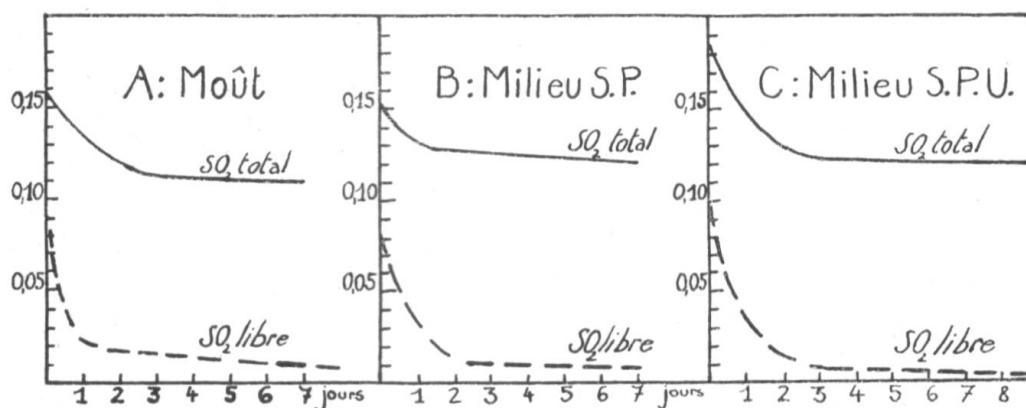


FIGURE 8

Axes des abscisses : nombre des jours
 Axes des ordonnées : SO_2 en gr./l.

Le moût d'abord nous a montré cette « fixation » rapide et considérable que signalent Müller, Thurgau et Osterwalder, ne laissant que des traces d'acide sulfureux libre (voir fig. 8 A).

Nous avons ensuite ensemencé le milieu S.P. bisulfité où nous avons constaté la même combinaison (voir fig. 8 B). En comparant cette courbe avec celle du même milieu S.P. non ensemencé, dans lequel l'acide sulfureux était complètement « détruit » au bout de 5 jours (voir fig. 3), nous pouvons mettre en évidence ce paradoxe : le milieu inoculé conserve plus d'acide sulfureux que le milieu non inoculé. La « fixation » aux aldéhydes produites au cours de la fermentation est plus rapide que la « destruction » qui se serait accomplie sans inoculation.

La présence des levures dans le milieu deviendrait ainsi un agent de conservation de l'acide sulfureux. Ce fait, paradoxal puisque l'acide sulfureux est toxique pour la levure, a déjà été remarqué, comme nous l'avons dit plus haut, par Müller, Thurgau et Osterwalder.

Le milieu S.P.U. ensemencé nous a donné une courbe analogue (voir fig. 8 C).

ÉTUDE DE L'INTOXICATION SULFUREUSE

A. — ACTION DU SO₂ SUR LA LEVURE

1 Partie bibliographique

Tous les auteurs s'accordent pour attribuer une action antiseptique à l'acide sulfureux libre.

Hailer en 1884 déjà écrit que les concentrations en acide sulfureux nécessaires pour la destruction des bactéries, des levures et des moisissures sont dans le rapport 1 : 4 : 5. L'addition du glucose diminuerait cet effet inhibiteur de la croissance.

Sabrazes, Mercandier et Gaillard en étudiant les propriétés antiseptiques, déclarent qu'il serait logique d'attribuer à l'acide sulfureux une légère augmentation des propriétés bactéricides du vin (b. d'Eberth).

Cependant Monteiro en 1929 obtint des résultats peu favorables et même négatifs dans l'emploi de l'acide sulfureux pour une désinfection sérieuse (staphylocoques, bacille