

**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:** Étude de l'intoxication sulfureuse  
**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>**

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 SO<sub>2</sub> 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

pyocyanique, bactérie charbonneuse, B. de Shiga, B. entériditis, B. coli).

Il est reconnu que seul l'acide sulfureux libre aurait cette action antiseptique sur les microorganismes. (Klein, Benvegnin-Capt, Ventre, Bertin, Martinand, Musso, Porchet, etc.). Cependant il faut préciser, car seuls les sels acides (bisulfites) seraient actifs, alors que les sels neutres sont titrés également comme acide sulfureux libre.

Ainsi Moreau et Vinet, en désacidifiant le moût, diminuent le pouvoir antiseptique de l'acide sulfureux libre en modifiant la forme chimique sous laquelle le corps entre dans le milieu. Suivant l'acidité du milieu, on aura prédominance de bisulfites (acide) ou de sulfites (neutre). Ils ont même poussé expérimentalement cette désacidification jusqu'à l'extrême neutralité (sulfites), avant d'atteindre l'alcalinité qui aurait dissocié alors les combinaisons aldéhydiques.

Les essais de Collier sur la détermination de la durée T de préfermentation montrent que l'acidité augmente cette durée, alors que l'emploi d'un désacidifiant (CO<sub>3</sub>Ca) le diminue. Ces essais confirment cette action seule du bisulfite acide.

Loos dans sa thèse nomme « SO<sub>2</sub> biologiquement actif » le seul SO<sub>2</sub> antiseptique.

Il est très difficile de déterminer la dose minimale nécessaire à la destruction d'un microorganisme et spécialement de la levure. Différents facteurs interviennent.

Plusieurs auteurs ont réussi à adapter des levures à des doses élevées : Bertin cite le chiffre de 3 gr. /l. SO<sub>2</sub>. Laborde et Musso également y parviennent. Mlle Porchet a démontré que ce n'est pas réellement une adaptation mais que le SO<sub>2</sub> libre est progressivement combiné aux aldéhydes produites par la fermentation et ne gêne pas ainsi le développement de la levure.

Il est reconnu que la masse d'ensemencement joue un grand rôle dans cette résistance (Martinand, Dupont, Porchet, Ventre).

Ventre : « Les retards de la fermentation sont en raison « inverse de la quantité de germes introduits dans le milieu ».

Martinand en reprenant les données de Linossier et Hayduk conclut que les levures riches en azote sont plus résistantes que les autres. Ainsi la levure de bière serait moins sensible à cette action que la levure de vin. Martinand prépare même celle-ci comme la levure de bière en la cultivant sur du malt provenant d'orge apte à donner pendant la germination de fortes quantités de N soluble. Ces levures de vin deviennent aussi résistantes que la levure de bière.

Certaines races de levures seraient plus résistantes que d'autres. Ventre sélectionne ainsi la levure elliptique : « Lors-  
« que les quantités d'antiseptique sont trop fortes, sans toute-  
« fois être suffisantes pour tuer la levure elliptique, celle-ci  
« tend à gagner la surface du liquide, elle se développe un  
« certain temps au contact de l'air en formant des anneaux  
« sur les parois du récipient ou des voiles. Morphologiquement,  
« elle change alors d'aspect et de ronde ou elliptique qu'elle  
« était au moment de l'ensemencement, elle devient longue,  
« ce qui pourrait la faire confondre avec les mycodermes de  
« la fleur. Lorsque la dose d'acide sulfureux libre a diminué  
« jusqu'à 50 ou 60 mg./l., si on noie ces mycodermes, elles  
« reprennent leurs formes antérieures et leur pouvoir ferment. »

Il écrit également, que l'action de l'antiseptique sera différente, selon que les microorganismes qui y seront soumis se trouveront dans un milieu aqueux ou dans un milieu renfermant des sucres fermentescibles. Dans l'eau, en effet, les cellules se trouvent rapidement en état de dénutrition hydrocarbonée, c'est-à-dire de moindre résistance à l'antiseptique qui agit sur un organisme affaibli. Par contre dans le moût, les cellules turgescentes sont gonflées de sucre.

La résistance, d'autre part, est loin d'être la même à tous les stades de développement de la levure. Elle est plus grande lorsqu'elle atteint son complet développement.

Gimel écrit en 1906 que l'adaptation de la levure à l'acide sulfureux développerait l'activité protoplasmique des cellules en vue de la sécrétion d'une substance oxydante qui, selon Malvezin, déterminerait la casse du vin. Mais cette interprétation a été contredite par Gimel lui-même ensuite.

Certaines levures ont été signalées comme particulièrement résistantes :

Le Schizosaccharomyces liquefaciens Osterwalder.

Krœmer signale une levure du genre Saccharomyces, de même que Mensio.

Loos a distingué des ferments de la caroube isolés par Minkoff, une catégorie de levures ayant un pouvoir marqué de réduction vis-à-vis du bisulfite de Na (Torulopsis).

## 2. Partie expérimentale : Croissance et production d'alcool d'une levure *préalablement* intoxiquée

Pour se rendre compte exactement de l'action du SO<sub>2</sub> sur le pouvoir alcoologène et la vitesse de croissance de la levure, il est utile de supprimer l'effet exercé par le milieu initial sur le toxique étudié. Cette interférence préjudiciable se complique encore par celle des produits du métabolisme qui, à leur tour, réagissent avec l'acide sulfureux. En conséquence, nous avons renoncé dans les expériences suivantes à la technique habituelle qui consiste à ajouter du SO<sub>2</sub> au milieu de culture où végète l'organisme. Nous avons alors adopté le procédé suivant : Nous avons préparé des éprouvettes contenant 10 cc. de solutions aqueuses titrées de KHSO<sub>3</sub> de concentrations croissantes. Nous avons préparé d'autre part des éprouvettes contenant 10 cc. du milieu S.P.U. Nous avons inoculé toutes les éprouvettes de KHSO<sub>3</sub> par 25 gouttes de culture de levure (3<sup>me</sup> repiquage sur milieu S.P.U.). Toutes les 15 minutes nous avons repris 25 gouttes de ces éprouvettes KHSO<sub>3</sub> pour les joindre aux éprouvettes contenant le milieu S.P.U. Les levures après un séjour plus ou moins long dans la solution sulfureuse étaient donc transportées dans un milieu sain (S.P.U.), ne contenant pas trace d'acide sulfureux.

Nous avons obtenu ainsi de vastes échelles d'échantillons de culture, nous permettant de contrôler l'effet de la durée de l'intoxication (temps différents pour la même concentration) et l'effet de l'intensité de l'intoxication (concentrations différentes en SO<sub>2</sub> pour les mêmes temps).

Au bout de 15 jours de culture, nous avons contrôlé l'intoxication par des mesures de la croissance et des dosages d'alcool (voir méthodes analytiques) : un témoin étant constitué (passage de levures dans de l'eau distillée) pour chaque temps de contact avec les solutions de  $\text{SO}_2$ . Cette technique est comparable à celle employée pour la détermination du coefficient phénol d'un antiseptique.

Un premier essai a été fait pour les 10 concentrations suivantes de  $\text{SO}_2$  :

1 : 0,1089 gr. /l.	6 : 0,5968 gr. /l.
2 : 0,2023 »	7 : 0,7014 »
3 : 0,3135 »	8 : 0,7553 »
4 : 0,3979 »	9 : 0,8161 »
5 : 0,4957 »	10 : 0,9006 »

et pour les temps : A : 15 minutes  
B : 30 »  
C : 45 »

à ensemencement égal : 25 gouttes de pipette Pasteur pour chaque passage.

Les dosages d'alcool ont donné :

A1 2,03	A2 0,922	A3 0,1159	% en volume
B1 2,196	B2 0,7114	B3 0,0756	% en volume
C1 0,8114	C2 0,6818	C3 0,3176	% en volume

Pour la croissance, dans ce premier essai, nous nous étions contentés d'un examen à l'œil nu : évaluation du trouble. Cet examen approximatif a donné :

Au 3 <sup>me</sup> jour : trouble	en A1 B1 C1
» 5 <sup>me</sup> » : trouble net	en A1 B1 C1
» » » : trouble léger	en A2 A3 A4 A5 A6 A7 A8
» » » : » »	en B2 B3 B4 B5 B6 B7
» » » : » »	en C2 C3 C4 C5 C6
» 6 <sup>me</sup> » : fort trouble	en A1 A2
» » » : » »	en B1 B2
» » » : » »	en C1 C2
» 10 <sup>me</sup> » : dégagement $\text{CO}_2$	en A1 A2
» » » : » »	en B1 B2

Au 11<sup>me</sup> jour : dégagement CO<sub>2</sub> en A1 A2

» » » : » » en B1 B2

De ces résultats, on pouvait déduire qu'entre 0,200 et 0,300 gr./l., il existait une dose de SO<sub>2</sub> qui inhibait la fermentation pour une levure de 48 heures dans milieu S.P.U. Déjà la concentration 0,200 gr./l. serait inhibitrice de la fermentation après 45 min. de contact.

Dans un deuxième essai, nous avons ensuite préparé les cinq concentrations suivantes de SO<sub>2</sub> :

1 : 0,1036 gr. /l.	A : 15 minutes
2 : 0,1980 »	B : 30 »
3 : 0,3047 »	pour les temps C : 45 »
4 : 0,3933 »	D : 60 »
5 : 0,4913 »	E : 75 »

Les dosages d'alcool ont été faits après 15 jours et nous avons procédé au comptage des cellules par la cellule Thomas-Zeiss.

Voici les résultats obtenus :

	Alcool en vol. %	Croissance cell. au mm <sup>3</sup>		Alcool en vol. %	Croissance cell. au mm <sup>3</sup>
AT	1,954	58.700	BT	2,016	38.500
A1	1,7665	60.800	B1	1,3622	36.000
A2	1,8346	46.000	B2	1,9202	36.400
A3	1,8346	58.100	B3	1,948	38.500
A4	1,943	36.000	B4	1,9442	45.500
A5	2,216	22.000	B5	2,282	17.600
CT	1,8598	41.000	DT	1,943	39.500
C1	1,8724	31.000	D1	2,054	53.900
C2	2,172	40.800	D2	1,9132	35.200
C3	2,136	26.500	D3	2,084	35.200
C4	2,136	57.100	D4	1,650	54.900
C5	1,742	11.000	D5	1,3104	4.000
ET	2,006	65.800			
E1	2,20	40.000			
E2	2,012	51.000			
E3	2,058	29.500			
E4	2,132	28.400			
E5	0,9652	5.200			

On constate ici, à la 5<sup>me</sup> concentration seulement (0,4913 gr./l.), une altération du pouvoir alcoologène et au bout de 45 minutes de contact seulement (temps C.D.E.). Tandis que la croissance serait déjà sérieusement attaquée à la 4<sup>me</sup> concentration (0,3923 gr./l.) et faiblement à la 1<sup>re</sup> concentration, mais toujours au bout de 45 minutes.

Les chiffres obtenus par le comptage à la cellule Thomas-Zeiss sont trop irréguliers, car à chaque comptage l'erreur peut être reproduite, et les comparaisons ne sont guère valables ; c'est pourquoi, pour les essais postérieurs, nous avons utilisé une autre méthode pour cette mesure.

On ne peut, d'après ces deux essais, fixer le chiffre absolu de la teneur en SO<sub>2</sub> antiauxique et antifermentaire. Elle dépend des conditions d'ensemencement, de l'état de la culture de départ qui, malgré nos précautions ne peut être absolument identique.

La durée de contact semble avoir une influence plus marquée sur la toxicité du SO<sub>2</sub> que la concentration en SO<sub>2</sub>, à condition de ne pas trop élever cette dernière.

Nous avons fait un troisième essai, pour nous assurer s'il y avait parallélisme entre la réduction de la croissance et la réduction du pouvoir fermentaire.

Toujours selon la même technique, nous avons préparé 4 solutions de KHSO<sub>3</sub> :

1 : 0,2628 gr./l.	A : 15 minutes
2 : 0,5141 »	B : 30 »
	pour les temps C : 45 »
3 : 0,7464 »	D : 60 »
4 : 0,9329 »	E : 75 »

Nous avons fait les dosages d'alcool après 15 jours et les mesures de croissance par néphélométrie à l'aide de l'électrophotomètre Meunier, pour lequel nous avons établi un abaque sur une suspension évaluée par la cellule Thomas-Zeiss. Nous avons toujours fait des mesures en suspension dans de l'eau distillée, après lavage par centrifugation, pour que les éléments du milieu fermenté ne viennent pas gêner la lecture du photomètre.

Cette méthode nous donnait des résultats comparables les uns aux autres.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

	Alcool en vol. %	Croissance cell. au mm <sup>3</sup>		Alcool en vol. %	Croissance cell. au mm <sup>3</sup>
AT	2,096	22.000	BT	2,48	32.000
A1	1,84	8.100	B1	1,84	10.500
A2	0,515	5.600	B2	0,798	8.300
A3	0,4272	6.200	B3	0,3528	5.000
A4	0,6128	7.700	B4	0,3008	4.600
CT	2,356	30.800	DT	—	18.800
C1	1,128	11.500	D1	1,268	26.700
C2	0,448	3.400	D2	0,339	7.300
C3	0,3104	5.600	D3	0,1696	3.800
C4	0,188	8.100	D4	0,000	2.600
ET	2,56	37.000			
E1	1,024	29.600			
E2	0,4176	9.300			
E3	0,1936	600			
E4	0,000	400			

Pour mieux nous rendre compte de l'effet sur les fonctions de croissance et de fermentation, nous avons exprimé ces résultats en les rapportant à une moyenne des témoins :

$$2,4\% \text{ en vol. d'alcool} = 100\%$$

$$30.000 \text{ cellules au mm}_3 = 100\%$$

et nous avons établi pour chaque temps les courbes des chiffres ainsi obtenus pour les différentes concentrations (voir figure 9).

D'après ces croquis, on voit immédiatement que la concentration 1 est intéressante (0,262 gr./l.), car à cette concentration la croissance et la fermentation sont atteintes différemment suivant la durée de contact.

Nous avons alors établi la courbe de l'effet de la durée de contact pour la concentration 0,262 gr./l., que nous avons nommée « courbe en croix » (voir fig. 10).

Nous mettons ainsi nettement en évidence ce phénomène : la croissance semble retrouver le 100% à mesure que la fonction alcoologène est atteinte. Ce phénomène est très régulier puisqu'il se confirme par les 5 points obtenus aux différents temps.

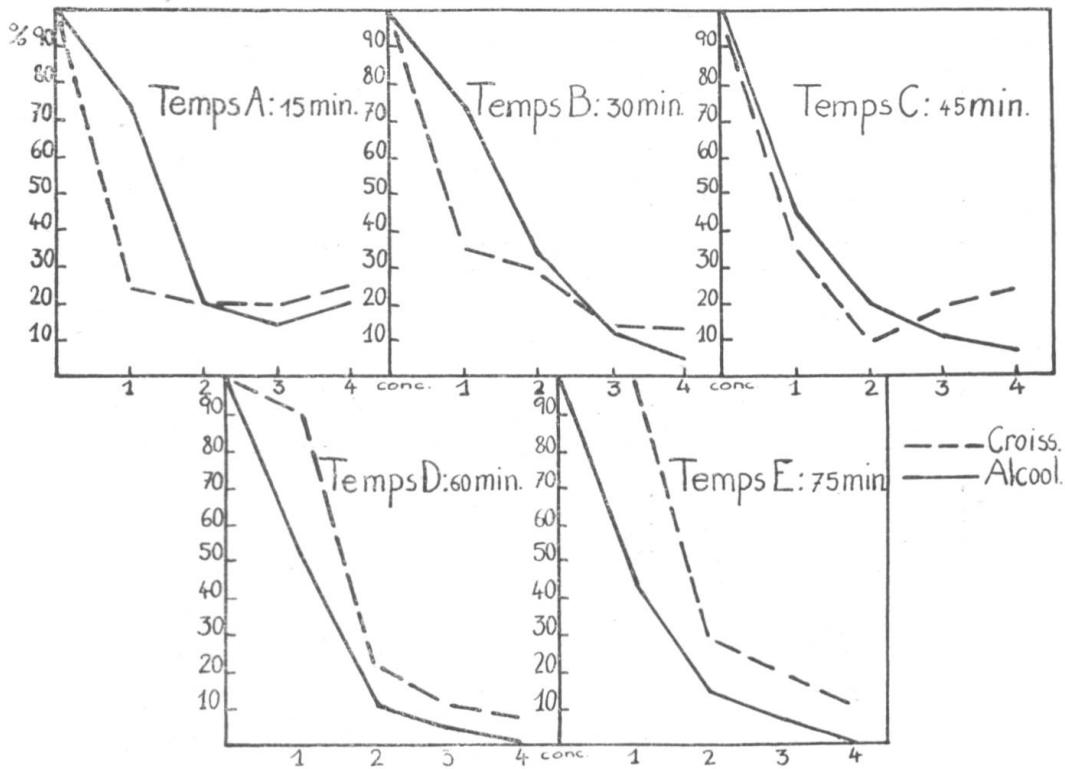


FIGURE 9

Axes des abscisses : concentrations de SO<sub>2</sub>  
 Axes des ordonnées : pourcentage des valeurs des fonctions croissance et alcool.

Serions-nous en présence d'un phénomène de défense de l'organisme qui, pour se protéger de l'intoxication sulfureuse, intensifie sa fonction croissance ? La levure atteinte dans sa fonction alcoolique réagirait en utilisant le sucre offert à d'autres fins (accumulation de réserves) dont la conséquence serait une croissance plus intense ? Nous aurions là un effet comparable au phénomène de resynthèse de Pasteur-Meyerhof produit par une aération du milieu, ce facteur étant remplacé par une altération de la zymase.

On pourrait rapprocher ces observations de celles de Ventre sur le changement d'aspect des cultures de la levure elliptique en présence d'acide sulfureux, celles-ci tendant à venir à la surface et à former des voiles et des anneaux sur les parois du récipient.

L'examen de nos cultures au microscope a révélé de plus grosses plages de glycogène, mises en évidence par le lugol, que dans les milieux témoins.

Nous avons tenté de retrouver cette « courbe en croix » par d'autres essais, mais nous n'avons jamais pu retrouver ni la concentration, ni surtout les conditions absolument identiques car en effet, cette résistance dépend de la masse d'ensemencement, des conditions d'âge, d'état des cultures au départ.

Malgré nos précautions nous n'avons pu retrouver ce point qui est probablement très passager.

Dans un essai aux concentrations et aux temps suivants

1 : 0,1573 gr. /l.	A : 15 minutes
2 : 0,2242 »	B : 30 »
3 : 0,259 »	C : 45 »
4 : 0,3474 »	D : 60 »
5 : 0,4011 »	E : 75 »
	F : 90 »
	G : 105 »

nous avons pu souligner deux points pour lesquels la croissance était plus résistante que le pouvoir fermentaire.

Dans un autre essai, nous avons encore étendu les temps de contact jusqu'à 7 heures 30 min. :

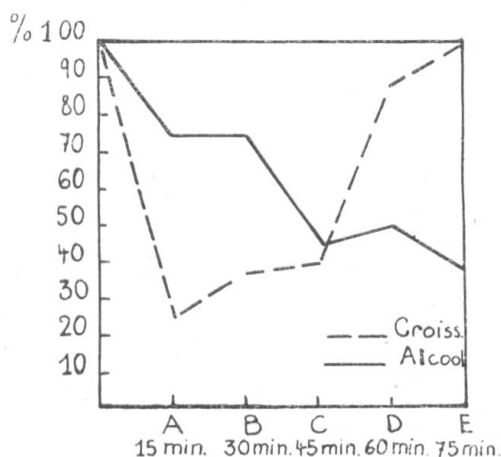


FIGURE 10

Axe des abscisses : temps de contact.  
Axe des ordonnées : pourcentage des valeurs des fonctions croissance et alcool.

<i>Concentrations</i>	<i>Temps</i>	
1 : 0,09887 gr. /l.	A : 30 min.	E : 4 h. 30
2 : 0,2263 »	B : 1 heure	F : 5 h. 30
3 : 0,3412 »	C : 1 h. 30	G : 6 h. 30
4 : 0,4561 »	D : 3 h. 30	H : 7 h. 30
5 : 0,553 »		

Ce dernier essai, sans nous donner la « courbe en croix », nous a cependant démontré que l'effet toxique de l'acide sulfureux sur la croissance et la fermentation dépend surtout de la durée de contact ; or un contact avec l'eau distillée de même durée (témoins) n'exerce pas d'influence sur la croissance des levures. Il faut tenir compte de l'observation de Ventre sur la résistance au  $\text{SO}_2$ , différente d'une levure en milieu aqueux et en milieu riche en sucre.

D'une manière générale, le pouvoir fermentaire et la croissance seraient atteints parallèlement, cependant, dans ce dernier essai, nous avons également obtenu pour deux temps de contact une moindre résistance de la fonction alcooligène que de la croissance pour les concentrations étudiées.

Nous pouvons conclure à une intoxication qui porte premièrement et plus profondément sur la fonction alcooligène. Notre « courbe en croix » met en évidence le point critique de cette intoxication. Nous avons pu surprendre l'adaptation très temporaire que la levure présente à un moment précis de l'expérience au-delà duquel, nous aurions l'arrêt total de la fermentation et de la croissance.

## B. — ACTION DU $\text{SO}_2$ SUR LA FERMENTATION

### 1. Partie bibliographique

La littérature contient quelques études de l'effet du  $\text{SO}_2$  sur le mécanisme fermentaire ; aucune d'entre elles n'a été établie sur les notions modernes acquises dans le domaine de la fermentation alcoolique. Ce caractère tient en partie

à l'ancienneté de ces recherches. Ces indications qualitatives concernent surtout le retard du début de la fermentation. Une mention est faite à propos de l'excès d'acétaldéhyde observé dans une fermentation bisulfitée. Cependant l'étude de l'action du SO<sub>2</sub> sur les substances intermédiaires et finales de la fermentation alcoolique n'a pas été faite à notre connaissance. Le prochain paragraphe tentera de combler cette lacune.

Martinand en 1909 écrit : « La fermentation alcoolique « en présence de SO<sub>2</sub> additionné au moût, quand elle se produit, se fait par élimination du SO<sub>2</sub> par l'intermédiaire « des aldéhydes produites par la levure car celles-ci en donnent plus en présence de SO<sub>2</sub>. »

Et en 1910 : « Le dosage d'acétaldéhyde montre qu'il « s'en est formé beaucoup (165 mg. /l.) ».

En 1916, Laborde rappelle que c'est Passerini qui, en 1909 aurait, le premier, vu que la combinaison a lieu sous forme d'acide aldéhyde-sulfureux car il avait observé une production d'aldéhyde plus abondante dans le moût sulfité que dans le moût non sulfité. (Cependant Kerp fait l'étude de cette combinaison en 1904.)

Laborde relate une expérience de Peltier faite sous ses yeux dans laquelle cette forte production d'aldéhyde est mise en évidence. Celle-ci se trouverait en rapport de moitié avec la quantité d'acide sulfureux combiné : Le calcul montre que plus de la moitié doit être combiné à d'autres substances. Rappelons que Peltier travaille sur du moût dont le pouvoir propre de fixation a été démontré.

Laborde signale que la présence d'acide sulfureux combiné dans le moût en fermentation peut modifier l'action physiologique de la levure dans le sens d'une production plus abondante d'aldéhyde. Il étudie les variations de l'activité de la fermentation en présence de SO<sub>2</sub> par des mesures de CO<sub>2</sub> dégagé par 100 cc. de moûtensemencé par des traces de levure à 15° et 25° et constate que l'influence de l'antiseptique s'exerce surtout au début de la fermentation puis, lorsque la proportion de sucre est très diminuée dans le

témoin, la fermentation avec  $\text{SO}_2$  tend à rattraper le temps perdu. Cette action serait plus sensible à  $15^\circ$  qu'à  $25^\circ$ . Il constate, par d'autres essais, une variation des propriétés électives des levures : le rapport glucose/lévuiose, de 1 s'abaisse à 0,5 au cours de la fermentation normale ; la présence de  $\text{SO}_2$  semble favoriser l'action des levures sur le lévuiose. Serait-ce dû à une modification du protoplasme ?

D'autre part, toujours selon Laborde, les vins qui ont fermenté en présence de  $\text{SO}_2$  deviennent plus aptes à capter du  $\text{SO}_2$  que les vins fermentés sans acide sulfureux, car ils contiennent plus d'aldéhyde, ce qui augmente leur capacité de combinaison.

Il nous reste à parler des remarques faites par quelques auteurs sur le goût et l'odeur sulfhydriques des vins et moûts fermentés en présence d'acide sulfureux (Mathieu, Balavoine). Ce fait est attribué généralement à une fonction réductrice de la levure (voir thèse Loos). Laborde en 1914 et 1915 ajoute que ces propriétés réductrices de la levure seraient dues à la sécrétion d'une hydrogénase (Rey, Pailhade) qui peut agir sur le soufre et certains de ses composés tels que l'acide sulfureux et les sulfates. L'hydrogène sulfuré et son éther méthylique, le mercaptan communiqueraient au vin un goût et une odeur d'œufs pourris d'intensité variable qui disparaîtraient au bout d'un certain temps après une aération suffisante. Cette réduction cependant, ne se produirait pas exclusivement pendant la fermentation car on peut la constater dans le vin fait.

Fromageot et Moubacher montrent que le *B. Coli* provoque le dégagement de  $\text{SH}_2$  à partir de cystine et de cystéine à condition qu'il existe dans le milieu soit du glucose, soit de l'acide lactique, soit de l'acide formique. Cette production de  $\text{SH}_2$  n'est accompagnée ni de la désamination ni de la décarboxylation de l'acide aminé. Cette préparation provoque également le dégagement de  $\text{SH}_2$  à partir du glutathion, sans que la présence du glucose soit nécessaire.

Ils n'ont cependant pas obtenu de résultat en traitant la levure dans les mêmes conditions.

## 2. Partie expérimentale : Métabolisme de la levure *croissant* en milieu bisulfité

Nous avons analysé le caractère de la fermentation bisulfitée en procédant à des dosages quotidiens du produit initial (glucose), intermédiaire (acétaldéhyde) et final (alcool). (Voir méthodes analytiques.)

Nous avons parallèlement contrôlé le titre de l'acide sulfureux libre et total dans les fermentations des liqueurs bisulfitées. En outre, nous avons contrôlé l'acidité, et à la fin de l'opération nous avons déterminé les acides volatils. Ces fermentations ont été faites sur 2,5 litres de milieu S.P.U. (10% glucose et 1 gr./l. biomalt) dans de grands flacons cylindriques (Iéna) d'une contenance de 3 litres, bouchés au coton, encapuchonnés de papier et portés à l'étuve à 25° C. Le bisulfitage a été fait à l'aide d'une solution concentrée de NaHSO<sub>3</sub> et a précédé immédiatement l'ensemencement.

Le flacon témoin a été inoculé en même temps et par la même quantité : 50 cc. de milieu S.P.U., prélevés stérilement des 2,5 litres dans un erlenmeyer stérile, inoculé par 25 gouttes de suspension de 48 heures (troisième repiquage), sont joints au flacon de fermentation après 48 heures.

Nous avons fait les différents dosages sur des prélèvements stériles quotidiens de 100 cc. Dans un premier essai pour lequel, nous n'avons pas fait les dosages d'acétaldéhyde, nous avons obtenu les chiffres contenus dans le tableau I.

Ces chiffres nous montrent déjà, que le glucose n'est pas entièrement consommé après 18 jours ; par conséquent, la liqueur bisulfitée n'atteint pas la teneur en alcool du témoin.

Un deuxième essai, dont les résultats sont indiqués dans le tableau II, nous montre de nouveau ce même phénomène de consommation incomplète du glucose.

Ce phénomène est illustré par les courbes suivantes (voir fig. 11) qui comparent la consommation du sucre dans les deux milieux.

TABLEAU I

Dates		Ac. sulfureux		Glucose		Alcool			
n. jrs	date	libre gr./l.	total gr./l.	A g/l.	B g/l.	en poids		en volume	
						A g/l.	B g/l.	A %	B %
0	2.3	0,1426	0,259	—	—	—	—	—	—
1	3.3	0,099	0,2387	—	—	—	—	—	—
2	4.3	0,0087	0,195	74,0	77,5	—	—	—	—
3	5.3	0,0058	0,1863	85,0	81,0	—	—	—	—
4	6.3	0,0058	0,164	78,0	75,0	—	—	—	—
6	8.3	0,0073	0,1834	66,0	63,0	8,6	9,6	1,08	1,21
7	9.3	0,0044	0,1281	59,5	56,9	18,6	20,8	2,35	2,70
8	10.3	0,0087	0,1746	49,5	49,5	19,8	22,0	2,50	2,77
9	11.3	0,0044	0,1688	43,0	43,0	29,5	23,5	3,75	2,97
10	12.3	0,0058	0,1688	45,0	37,8	25,6	29,0	3,26	3,65
11	13.3	0,0058	0,1717	37,0	28,0	28,0	30,5	3,55	3,87
13	15.3	0,0044	0,1746	20,7	20,7	33,0	37,4	4,16	4,75
14	16.3	0,0044	0,1688	30,0	16,3	34,0	48,5	4,3	6,11
15	17.3	0,0058	0,1688	23,4	8,3	31,6	39,5	4,04	5,0
17	19.3	0,0058	0,1688	18,9	3,6	40,0	48,5	5,1	6,11
18	20.3	0,0058	0,1746	15,8	0,36	40,0	50,0	5,1	6,3

A = flacon bisulfité ; B = flacon témoin

TABLEAU II

Dates		Ac. sulfureux		Glucose		Alcool				Acétyaldéhyde	
n. jrs	date	libre gr./l.	total gr./l.	A g/l.	B g/l.	en poids		en volume		A g/l.	B g/l.
						A g/l.	B g/l.	A %	B %		
0	29.5	0,121	0,2219	—	89,0	—	—	—	—	—	—
1	30.5	0,0529	0,1959	83,0	83,0	—	—	—	—	0,267	0,128
2	31.5	0,0094	0,1653	86,0	78,0	4,5	6,35	0,57	0,86	0,292	0,110
3	1.6	0,0118	0,1086	82,0	75,5	5,4	5,5	0,68	0,69	0,282	0,115
4	2.6	0,0047	0,1487	83,0	79,0	8,1	9,1	1,02	1,15	0,256	0,098
6	4.6	0,0078	0,1086	63,0	51,2	12,59	16,2	1,58	2,07	0,295	0,126
7	5.6	0,0078	0,1274	58,5	49,5	14,0	20,0	1,76	2,5	0,286	0,123
9	7.6	0,0047	0,1274	56,7	41,5	15,2	23,0	1,91	2,9	0,253	0,125
10	8.6	0,0078	0,118	55,9	39,5	19,2	27,0	2,42	3,40	0,255	0,105
11	9.6	0,0047	0,1274	53,0	31,5	16,2	24,5	2,05	3,09	0,255	0,137
13	11.6	0,0078	0,1416	47,0	19,9	15,6	34,6	1,97	4,35	0,239	0,118
17	15.6	0,0078	0,1206	36,5	5,4	29,5	42,3	3,7	5,32	0,239	0,137
20	18.6	0,0078	0,0899	29,6	1,17	32,5	45,5	4,07	5,75	0,231	0,110
24	22.6	0,0078	0,1133	—	0,27	27,5	47,5	3,45	6,0	0,230	0,098

A = flacon bisulfité ; B = flacon témoin

Nous ne pouvons expliquer cette consommation incomplète du glucose. Si réellement nous avons eu une combinaison glucose-bisulfite, celle-ci ne devrait pas empêcher, selon Neuberg, la fermentescibilité du glucose ainsi lié (voir prop. physico-chimiques). L'expérience a été poussée jusqu'au 24<sup>me</sup> jour ; dès le 18<sup>me</sup> jour on n'observait plus sur le flacon de mouvement fermentaire : le liquide était à l'état de repos et la fermentation semblait donc bien achevée. On

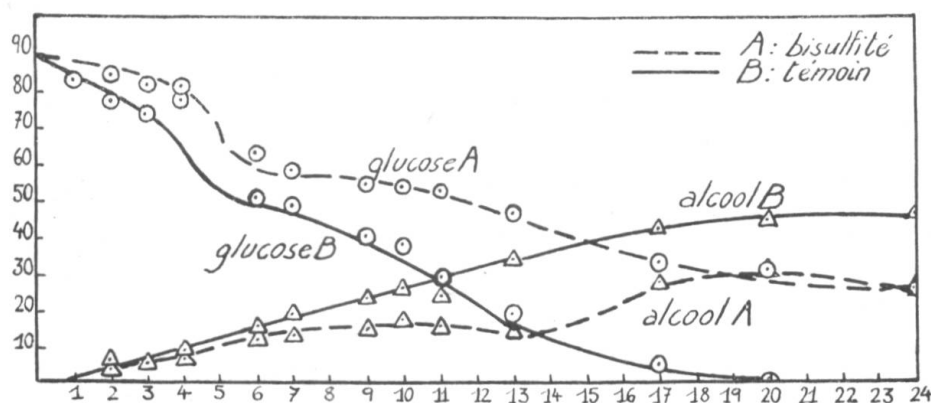


FIGURE 11

Axe des abscisses : nombre des jours

Axe des ordonnées : valeurs de glucose et d'alcool en gr./l.

ne peut, en conséquence, attribuer cette consommation incomplète du glucose à un simple retard de fermentation. Cette insuffisance dépendrait de l'intoxication de la levure ou des conditions très particulières réalisées par le contact du SO<sub>2</sub> avec un milieu sucré stérilisé.

Cette observation aurait un intérêt pour la pratique dans la mesure où l'on peut comparer le milieu S.P.U. au moût naturel.

Les chiffres obtenus pour l'acétaldéhyde (voir tableau II) sont très démonstratifs. Ils constituent une première démonstration expérimentale confirmant certaines des suppositions émises par Martinand et Laborde. Nous enregistrons en effet une production plus forte d'acétaldéhyde en milieu bisulfite que dans le témoin.

Il convient maintenant de rappeler les résultats concernant la « fixation » du  $\text{SO}_2$  en milieu normal (S.P.U.) bisulfite : ce dernier « fixe » rapidement la presque totalité de l'acide sulfureux (voir § B de la première partie).

Une nouvelle preuve nous est fournie par les troisième et quatrième colonnes des tableaux I et II. Ces faits nous conduisent à poser la question suivante : le supplément d'acétaldéhyde formé en milieu bisulfite est-il responsable de la fixation plus intense observée dans ce milieu ?

Si nous calculons le rapport moléculaire entre l'acide sulfureux combiné et le supplément d'aldéhyde nous obtenons les valeurs du tableau III.

Le rapport des quantités d'acétaldéhyde produite en supplément aux quantités d'acide sulfureux combiné est

TABLEAU III

n. jrs	I	II	III	Rapport III/I.
	Acétald. supplém.	$\text{SO}_2$ combiné	$\text{SO}_2$ combiné exp. en acétald.	
	gr. /l.	gr. /l.	gr. /l.	%
1	0,141	0,143	0,098	69,9
2	0,182	0,165	0,107	59,0
3	0,167	0,0868	0,06	36,0
4	0,158	0,134	0,092	58,0
6	0,169	0,1008	0,0685	43,0
7	0,163	0,1196	0,083	51,0
9	0,128	0,1237	0,085	66,5
10	0,150	0,1102	0,076	50,5
11	0,118	0,1237	0,085	72,0
13	0,121	0,1328	0,093	76,5
17	0,102	0,1128	0,078	76,0
20	0,121	0,0821	0,056	46,5
24	0,144	0,1151	0,079	59,0

p.m.  $\text{SO}_2$  = 64 ; p.m.  $\text{CH}_3\text{CHO}$  = 44

toujours inférieur à l'unité (ou à 100%). La quantité d'aldéhyde produite dépasse donc celle qui est nécessaire à la combinaison de l'acide sulfureux : 30-60% de supplément. La « fixation » en milieu inoculé s'explique donc par la production d'acétaldéhyde au cours de la fermentation.

Les mesures relatées montrent que même après fixation du SO<sub>2</sub>, il reste une quantité d'acétaldéhyde supérieure à celle du témoin. Les transformations subséquentes subies par cet acétaldéhyde pourront modifier le cours normal de la fermentation.

C'est pourquoi nous avons fait après 27 jours une détermination des acides volatils selon la méthode de Duclaux.

L'acidité contrôlée les 10 derniers jours ne semble pas avoir varié et donnait :

pour le milieu bisulfité gr./l. 2,46 en acide tartrique

pour le milieu témoin gr./l. 2,05 en acide tartrique

Pour la détermination des acides volatils, nous avons filtré ce qui nous restait des milieux fermentés et nous en avons concentré 1 litre à moins de 100 cc. à un pH alcalin. Puis nous avons opéré la distillation fractionnée selon Duclaux et obtenu les chiffres suivants comparés à ceux de Duclaux :

*A. Milieu bisulfité*

Fractions cc.	NaOH N/20 cc.	%	Duclaux Ac. acétique 5 Ac. butyrique 1
10	7,1	10,8	—
20	13,4	20,5	—
30	18,9	28,6	27,4
40	25,2	38,3	36,7
50	30,0	45,5	45,8
60	36,0	54,5	55,3
70	42,3	64,0	65,2
80	49,7	75,3	75,3

*B. Milieu témoin*

Fractions cc.	NaOH N/20 cc.	%	Duclaux ac. acét. pur %	Duclaux a. ac. 10 a. but. 1 %
10	3,2	7,9	7,4	—
20	6,5	11,2	15,2	—
30	9,9	24,5	23,4	25,6
40	13,6	33,6	32,0	34,5
50	17,2	42,5	40,9	43,6
60	21,3	52,9	50,5	53,1
70	25,5	63,0	60,9	63,2
80	30,1	74,9	71,9	73,8
90	35,0	87,0	84,4	—
100	40,3	100,0	100,0	—

La comparaison de nos chiffres avec ceux de Duclaux indique que l'acidité volatile du témoin est constituée par de l'acide acétique presque pur, comportant au plus  $\frac{1}{11}$  d'acide butyrique. Dans le milieu bisulfité nous décelons par contre de l'acide acétique avec  $\frac{1}{6}$  d'acide butyrique.

D'autre part, le calcul approximatif des quantités d'acides volatils dans les deux milieux donne 0,4866 gr./l. dans le témoin et 0,79 gr./l. dans le milieu bisulfité, exprimé en acide acétique.

Nous pouvons résumer ces faits de la manière suivante :

Le bisulfitage du milieu S.P.U. inoculé par la levure L 21 augmente le taux des acides volatils et en modifie la composition : l'acide acétique diminue au profit de l'acide butyrique.

Cette production supplémentaire d'acide butyrique due au bisulfitage s'intègre dans la théorie suivante : le mécanisme le plus probable de la lipogenèse passe par le stade acide acétique, aldol, acide butyrique.

Il y a lieu de se demander si l'acide butyrique dont la production est stimulée par le bisulfitage joue un rôle dans l'accumulation des lipides par la levure. Nous n'avons certes pas vérifié « l'engraissement » des levures soumises à ce

régime. Cependant il est prouvé<sup>1</sup> que les levures se trouvant dans un milieu riche en acétaldéhyde s'enrichissent en lipides. Si même cet acétaldéhyde est bloqué par du sulfite de Na, la lipogenèse est ralentie<sup>2</sup>. Notre propre observation paraît ici paradoxale car c'est le bisulfite de Na qui a provoqué la formation d'acide butyrique que nous supposons échelon de la lipogenèse. Rappelons que cet acide butyrique a été formé aux dépens d'un excès d'acétaldéhyde libre, excès dû à la présence du bisulfite de Na qui a stimulé sa formation.

Nous aurions donc ici une action indirecte et favorable de l'acide sulfureux sur le processus de la lipogenèse.

#### RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Dans notre *première partie* intitulée le « Sort de l'acide sulfureux dans les liquides fermentescibles » :

1. Nous avons établi une séparation entre l'étude des milieux non inoculés et celle des milieux inoculés.

2. Pour l'étude des premiers, nous avons rappelé les données bibliographiques concernant : l'équilibre réalisé entre l'acide sulfureux libre et combiné, la « fixation » du SO<sub>2</sub> et enfin la « destruction » du SO<sub>2</sub>.

3. Nous avons relaté nos essais sur le moût de raisin, montrant l'influence de la température sur les capacités de « fixation » et de « destruction » de ce moût. La « destruction » est augmentée jusqu'à 100° et au delà c'est la « fixation » qui est favorisée. La température de stérilisation exalterait la capacité du moût de raisin de fixer le SO<sub>2</sub>.

4. Nous avons établi un milieu de culture synthétique dit S.P. pour le substituer dans nos études au moût de raisin de composition mal connue et variable.

<sup>1</sup> Raaf S. H. Archiv. für Mikrobiologie 1941. 12, p. 131.

<sup>2</sup> Smedley. I. Zentralbl. Physiol. 1912. 26, p. 915.