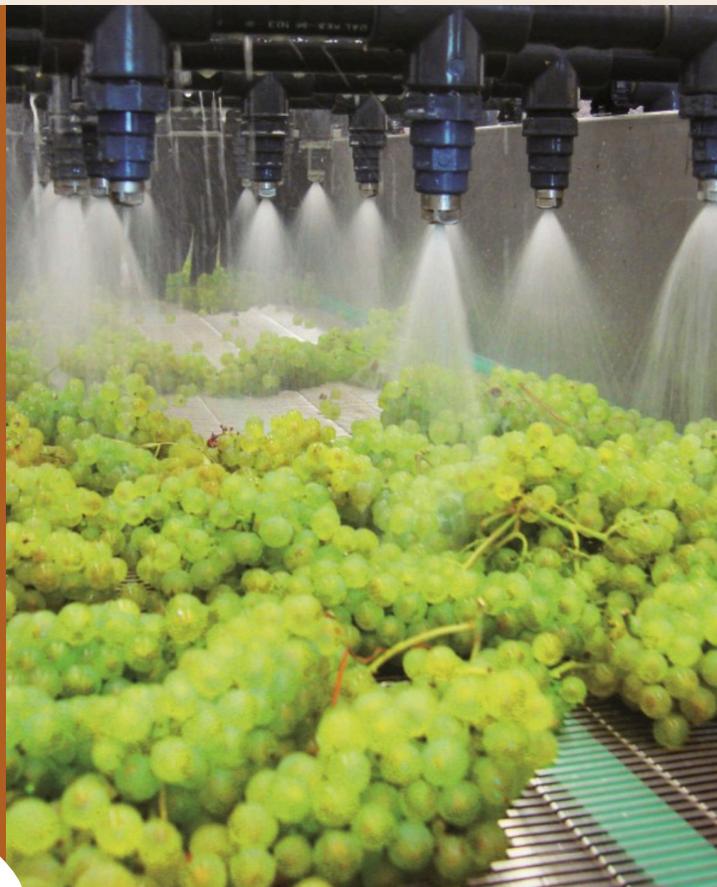


# LE POINT SUR LE SO<sub>2</sub>

Par Richard Pfister

Le dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub>) est un des éléments liés au vin le plus sujet à controverses aujourd'hui. Le consommateur comme le journaliste questionnent souvent les producteurs de vin sur ce thème sensible. Une frange croissante au sein de la production se pose aussi des questions, cherche à réduire son utilisation et à trouver des alternatives. Toutefois il n'est pas forcément facile de modifier ses habitudes de vinification puisque le SO<sub>2</sub> est utilisé depuis des centaines d'années. S'en passer complètement apporte des implications qu'il n'est pas toujours aisé à appréhender à court comme à moyen terme.

Ce dossier présente plusieurs aspects de la théorie liée au SO<sub>2</sub>, tout en s'arrêtant sur les problématiques qui lui sont liées, ses effets sur la santé, ainsi que les alternatives envisageables. Il présente aussi un élément important mis en lumière récemment sur les méthodes d'analyse et les imprécisions qui peuvent en découler.



## SO<sub>2</sub> EN ŒNOLOGIE : INTÉRÊT, SÉCURITÉ SANITAIRE ET ALTERNATIVES

Pierre-Louis Teissedre, Université de Bordeaux, Institut des Sciences de la Vigne et du Vin, Unité de recherche Œnologie [pierre-louis.teissedre@u-bordeaux.fr]

Il y a très longtemps que le soufre est utilisé en vinification. Une des premières mentions explicite de son usage remonte à un décret législatif allemand de 1487 qui autorisait les vigneron à brûler des copeaux de bois soufrés dans les tonneaux utilisés pour conserver le vin. C'est une méthode de désinfection efficace qui est toujours en pratique aujourd'hui et que l'on nomme le méchage, bien qu'on utilise plutôt de la poudre de soufre pure que des copeaux de bois aujourd'hui.

Le SO<sub>2</sub> présente diverses propriétés d'intérêt œnologique. Il peut être utilisé à la fois comme agent antimicrobien et comme agent antioxydant. Même s'il est possible de faire du vin sans ajouter de SO<sub>2</sub>, vous ne pouvez pas produire de vin ne contenant aucun SO<sub>2</sub>. Cela est dû au fait que la levure en produit une petite quantité, au minimum 10 mg/l, pendant la fermentation.

### SO<sub>2</sub> et sécurité sanitaire

Le SO<sub>2</sub> (fig. 1) est une substance qui peut s'avérer toxique et dangereuse qu'il convient de manipuler avec précaution. La voie principale du métabolisme du SO<sub>2</sub> est une oxydation en sulfates par le sulfite oxydase, présente principalement dans le foie mais aussi dans d'autres organes (rein, intestin, cœur et poumon) ; sous cette forme, il est incorporé à la réserve corporelle de sulfates. L'European Food Safety Agency (EFSA) a noté que les sulfites endogènes sont générés à la suite de la transformation normale d'acides aminés soufrés au niveau de l'organisme. Le Comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires a examiné dès 1987 le métabolisme des sulfites et a conclu que de petites quantités de sulfites se forment régulièrement dans le métabolisme intermédiaire du corps dans le catabolisme de la cystéine. Cependant, les données sur les concentrations intra et extracellulaires de sulfites et leur variabilité in vivo résultant de la production de sulfite endogène apparaissent limitées. Les sulfites sont non seulement des substances toxiques exogènes et des métabolites endogènes, mais agissent également en tant que médiateur des cellules anti-infectieuses appelées neutrophiles (Gardiner *et al* 1992).

Après absorption, les sulfites ingérés peuvent être absorbés par l'intestin et rapidement métabolisés par oxydation en sulfates (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) via une réaction catalysée par la sulfite oxydase principalement dans le foie. Le SO<sub>2</sub> gazeux est très soluble dans les milieux aqueux mais une partie pourrait être inhalée et absorbée dans les poumons sous forme de SO<sub>2</sub> et/ou de sulfites. Une partie des sulfites ingérés peut subir un métabolisme réducteur par la microflore intestinale pour former du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S). Parmi les sulfites ingérés, 70 à 97 % peuvent être absorbés de l'intestin. Le sulfate est excrété dans l'urine avec le sulfate formé de manière endogène. La demi-vie des sulfites chez l'homme est estimée à 15 minutes, mais cela peut varier comme l'ont montré certaines études, en particulier chez les personnes très âgées et les patients trisomiques qui peuvent avoir une activité moindre de la sulfite oxydase.

Il y a de grandes différences d'activité de sulfite oxydase entre les espèces. Par voie orale dans la nourriture du rat, de la souris, du cobaye et du singe, le bisulfite (de sodium ou de potassium) n'induit pas de toxicité jusqu'à la dose de 72 mg/kg/j ; au-delà de cette dose se produisent arrêt de la croissance, perte de poids, atrophie viscérale, osseuse et médullaire, inflammation de l'estomac, polynévrite et œdème testiculaire. Les expérimentations humaines réalisées chez des sujets normaux ou asthmatiques ont permis de mettre en

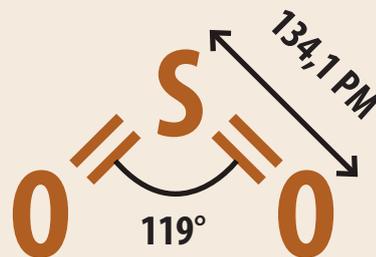


Figure 1. Molécule de SO<sub>2</sub>.

évidence qu'une inhalation de courte durée au SO<sub>2</sub> à une concentration de 5 à 10 ppm peut produire une broncho-constriction probablement réflexe chez les adultes sains. Les sujets souffrant d'affection respiratoire, asthme notamment, présentent une plus grande sensibilité aux expositions même modérées au SO<sub>2</sub>. Chez l'asthmatique, l'effet broncho-constricteur du SO<sub>2</sub> est augmenté par l'effort physique pour des concentrations faibles de 0,1 mg/l. Il sera donc à éviter chez les malades des reins ou du foie, ainsi que chez les enfants. Il conviendra aussi de faire attention aux sujets aux conjonctivites, bronchites, emphysèmes, asthmes bronchiques ou maladies cardio-vasculaires, aux allergiques (asthme, maux, maux de tête, irritation gastrique/tube digestif ou cutanée, eczéma, nausées, diarrhées) et aux intolérants aux sulfites.

L'EFSA a conclu que la dose journalière admissible (DJA) actuelle de 0,7 mg d'équivalent SO<sub>2</sub>/kg de poids corporel par jour chez l'homme (dérivée en utilisant un facteur d'incertitude par défaut de 100 par rapport au rat) reste adéquate mais doit être considérée comme temporaire. Le SO<sub>2</sub> est listé comme E220 dans le Codex alimentarius qui autorise son ajout sur de nombreux aliments industriels à des doses maximales comprises entre 15 mg/kg (sucre blanc, sucre ou dextrose en poudre, par ex.) et 1000 mg/kg (fruits secs - voire 2000 mg/kg pour les abricots secs). Pour une personne pesant 68 kg et en tenant compte de la DJA selon l'OMS, on ne devrait pas ingérer plus de 48,3 mg de SO<sub>2</sub>/jour (0,7 x 68 kg). Cette dose est atteinte facilement en consommant : 48 g de confiture, 483 g de crevettes surgelées, 230 ml de vin blanc ou rosé, 300 ml de vin rouge. Ces calculs sont effectués en admettant que la teneur en SO<sub>2</sub> dans les produits considérés est égale à la teneur maximale autorisée.

### Utilisation du SO<sub>2</sub>

Les réglementations suisses comme européennes restent strictes à ce sujet et imposent des limites d'utilisation en SO<sub>2</sub> total en fonction des types de vins. En Suisse :

- vin rouge : 160 mg/l (210 mg/l si sucre résiduel d'au moins 5 g/l)
- vin blanc, rosé et effervescent : 210 mg/l (260 mg/l si sucre résiduel d'au moins 5 g/l)
- vin naturellement doux : 400 mg/l

Plusieurs formes d'utilisation du SO<sub>2</sub> sont autorisées en Suisse (fig. 2) :

- SO<sub>2</sub> à 100% sous forme gazeuse,
- solution aqueuse à 5 % en poids au moins de SO<sub>2</sub>,
- bisulfite de potassium,
- métabisulfite de potassium,
- mèches de soufre pour combustion dans des fûts.





Figure 2. Deux formes d'utilisation du SO<sub>2</sub> en œnologie, de gauche à droite : mèches de soufre, SO<sub>2</sub> sous forme gazeux (O. Colas).

Le SO<sub>2</sub> est utilisé pendant différentes étapes de vinification, notamment :

- à la **vendange** : afin de limiter l'oxydation et le travail des levures naturelles.
- pendant le **foulage**, aussi afin de limiter l'oxydation et pour éviter le travail de levures indigènes, dans l'optique d'utiliser des levures sélectionnées.
- à la fin de la fermentation alcoolique/malolactique : si on souhaite bloquer la fermentation malolactique ou inhiber les bactéries et risques de déviations.
- durant l'**élevage et avant la mise en bouteille** : pour éviter l'oxydation et une éventuelle refermentation.

### SO<sub>2</sub> et oxydation

L'oxydation enzymatique a presque totalement lieu dans le moût et elle est largement corrélée à la teneur en acides hydroxycinnamiques, comme les acides caféoyl-tartrique et p-coumaroyl-tartrique et les flavan-3-ols. L'oxydation non enzymatique, appelée aussi oxydation chimique du vin, prédomine dans les vins fermentés et commence par l'oxydation des polyphénols contenant un catéchol ou un groupe galloylé. Ces réactions phénoliques, qu'elles soient enzymatiques ou pas, conduisent à la formation de sous-produits appelés quinones au pouvoir oxydant très puissant. Un autre produit de cette oxydation est l'acétaldéhyde, qui a un arôme de pomme blette ou de noix.

Cependant, le SO<sub>2</sub> n'agit pas directement en éliminant l'oxygène des vins et des moûts. Il empêche plutôt l'oxydation en se liant aux précurseurs impliqués dans les réactions d'oxydation, évitant qu'ils réagissent avec l'oxygène ou en se liant à des composés déjà oxydés pour inverser l'effet de l'oxygène. Le SO<sub>2</sub> agit également en réduisant l'activité de l'enzyme tyrosinase (polyphénol oxydase).

En raison de sa capacité à se lier aux précurseurs et aux produits de l'oxydation, le SO<sub>2</sub> peut être utilisé à la fois comme traitement préventif et curatif. Par exemple, un vin blanc oxydé avec une teinte brune peut être amélioré en ajoutant du SO<sub>2</sub> qui réduit la couleur sombre et se lie à l'acétaldéhyde pour diminuer la perception de son odeur.

Lors de l'embouteillage, il faut prendre en compte la quantité d'oxygène dissous (sachant que 1 mg/l d'oxygène dissous consomme 4 mg/l de SO<sub>2</sub> libre) pour éviter l'apparition de marqueurs d'oxydation précoce qui sont divers et nombreux (éthanal, sotolon, méthional, phénylacétaldéhyde, aminoacétophénone, etc.).

Un des risques avec un vin sans protection contre l'oxydation est de produire de l'acétaldéhyde à partir de l'éthanol puis à former de l'acide acétique, synonyme de perception d'acidité volatile à odeur de vinaigre (fig. 3). L'acide acétique constitue 98 à 99 % de l'acidité volatile qui est strictement réglementée : teneur maximale légale 0,98 g/l exprimé en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour les vins rouges.

### SO<sub>2</sub> et microbiologie

Le SO<sub>2</sub> est aussi un agent antimicrobien à large spectre qui a un effet inhibiteur sur une grande variété de micro-organismes. Le niveau de SO<sub>2</sub> auquel levure ou bactérie est affecté varie considérablement selon les espèces. Le SO<sub>2</sub> peut prévenir la détérioration par des bactéries et des levures qui peuvent altérer le goût du vin (les plus courants sont *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Brettanomyces*). Il ne tue généralement pas *Brettanomyces* mais peut l'empêcher de croître, cependant certaines souches peuvent s'avérer résistantes au SO<sub>2</sub>. Au fur et à mesure que le vin vieillit, le SO<sub>2</sub> diminue et les risques de développement de microorganismes indésirables peut apparaître.

### RISQUES PRINCIPAUX SI PROTECTION INSUFFISANTE EN SO<sub>2</sub>

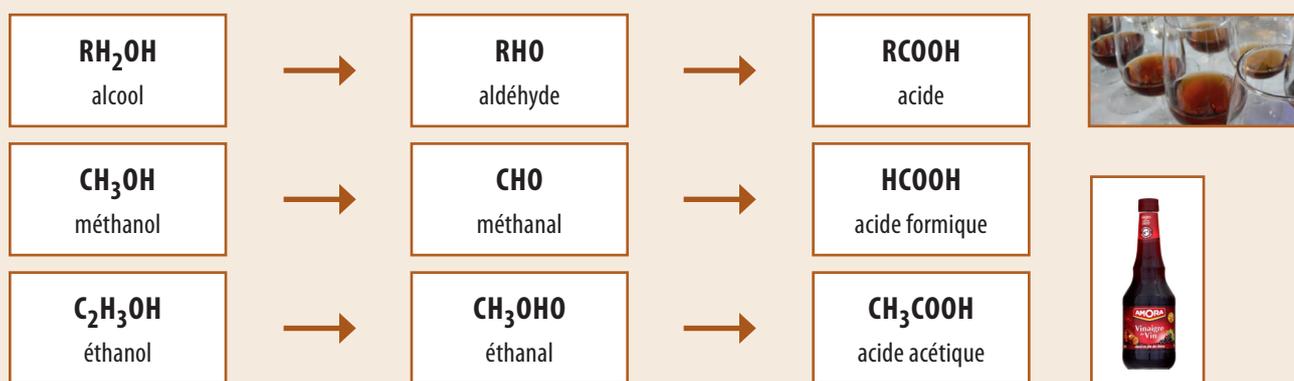


Figure 3. Risque de l'oxydation chimique du vin si la protection en SO<sub>2</sub> est insuffisante.

Depuis le début des années 1900, il était entendu que seules les formes libres de SO<sub>2</sub> (et non la forme liée) avaient un effet antimicrobien. On a en outre découvert dans les années 1960 que le SO<sub>2</sub> moléculaire était plusieurs centaines de fois plus efficace que le bisulfite.

Le mécanisme de l'effet antimicrobien du SO<sub>2</sub> réside dans le fait que celui-ci pénètre dans le microbe et perturbe l'activité des enzymes et des protéines de la cellule. Puisque seule la forme moléculaire du SO<sub>2</sub> peut pénétrer à travers la membrane cellulaire, c'est la concentration de SO<sub>2</sub> moléculaire qui contrôle la croissance microbienne. C'est pour cette raison que la notion de SO<sub>2</sub> actif doit être aujourd'hui utilisée, et qu'il faut viser une valeur de SO<sub>2</sub> actif entre 0,35 mg/l (action fongistatique) et 0,60 mg/l (action fongicide). Les activités antioxydantes et antimicrobiennes du SO<sub>2</sub> sont les plus élevées avec le pH le plus bas. Le raisonnement du sulfitage doit prendre en compte le pH, la température, l'hygiène, les niveaux et types de populations microbiennes.

### Des alternatives possibles au SO<sub>2</sub>

Parmi les alternatives au SO<sub>2</sub>, on trouve :

- la protection de l'oxydation par inertage (transfert de moût et vin) par utilisation de gaz inertes (N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, Ar, etc.),
- l'utilisation de tanins œnologiques sur moût pour précipiter la laccase (Vignault *et al.* 2019) ou consommer de l'oxygène (Vignault *et al.* 2018),

- l'utilisation de lysozyme, extrait du blanc d'œuf et employé en tant qu'inhibiteur de croissance des bactéries : très efficace pour inhiber le développement bactérien, en particulier *Oenococcus spp.* Avec une dose maximale de 500 mg/l.

- les filtrations afin d'éliminer les microorganismes à risques comme les bactéries acétiques pouvant notamment augmenter l'acidité volatile,
- l'utilisation de DMDC (Diméthylcarbonate) à une dose maximum de 200 mg/l, surtout pour éviter des re-fermentations en bouteilles lorsque le vin contient des sucres résiduels. Il est très efficace contre les levures, qu'il tue, mais pas autant contre les bactéries.
- l'utilisation de levures inactivées spécifiques
- une hygiène de cave irréprochable et un pH suffisamment acide.

D'autres alternatives possibles font l'objet de travaux aujourd'hui : le glutathion (très fort pouvoir réducteur, qui a été accepté par l'OIV mais qui devra recevoir un aval de l'EFSA pour pouvoir être utilisé dans l'UE), les bactériocines (antimicrobiens issus des bactéries lactiques), les UVC (éradication des bactéries), les champs électriques pulsés CEP (destruction des levures et des bactéries), les ultrasons (effet antiseptique) et enfin le resvératrol. Ils peuvent faire partie de solutions d'avenir.

## DOSAGE DU SO<sub>2</sub> DANS LE VIN, QUE MESURONS-NOUS ?

Charles Chappuis et Benoît Bach, CHANGINS haute école de viticulture et œnologie, Nyon, Suisse [charles.chappuis@changins.ch, benoit.bach@changins.ch]

L'utilisation de SO<sub>2</sub> en œnologie nécessite un dosage juste et précis pour respecter les valeurs limites prescrites par la loi mais aussi pour garantir ses effets protecteurs. Les deux méthodes de dosage les plus utilisées et recommandées par l'Organisation internationale de la vigne et du vin (OIV) consiste en une aération-oxydation pour la première et d'une titration iodométrique dans le vin pour la deuxième. Bien que ces deux méthodes soient peu coûteuses, elles sont fastidieuses et peu sensibles. De plus, de récents travaux de Vicente Ferreira de l'université de Zaragoza (Espagne) et de Andrew L. Waterhouse de l'université de Californie (Davis, USA) semblent indiquer que ces méthodes sous-estiment les quantités de SO<sub>2</sub>.

Pour bien comprendre les méthodes de dosages, nous vous proposons de revenir sur les équilibres connus du SO<sub>2</sub> dans le vin. Avec une température d'ébullition de -10 °C, le SO<sub>2</sub> est un gaz à température ambiante. Lorsqu'il se dissout dans de l'eau ou une solution hydroalcoolique comme le vin, le SO<sub>2</sub> (communément appelé SO<sub>2</sub> moléculaire) forme des équilibres chimiques avec l'acide sulfureux (H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>), les ions bisulfites (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) et les ions sulfites (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) :



L'acide sulfureux n'est pas observable en solution car il s'hydrolyse très rapidement. Ces équilibres chimiques sont dépendants de la température, du titre alcoolémique et du pH (table 1). Mais que veulent dire ces chiffres ?

TITRE ALCOOLÉMIQUE [%]	TEMPÉRATURE [°C]		
	20	30	40
0	1,723	2,143	2,416
5	1,819	2,220	2,446
10	1,916	2,311	2,522
15	2,014	2,417	2,640

Table 1. Constante d'acidité pK<sub>a1</sub> en fonction du titre alcoolémique et de la température. Données tirées du recueil international des méthodes d'analyse (OIV, OIV-MA-AS323-04C, R2009).

$$pK_{a1} = -\log \left( \frac{[\text{HSO}_3^-] [\text{H}^+]}{[\text{SO}_2]} \right)$$

$$pK_{a2} = -\log \left( \frac{[\text{SO}_3^{2-}] [\text{H}^+]}{[\text{HSO}_3^-]} \right)$$

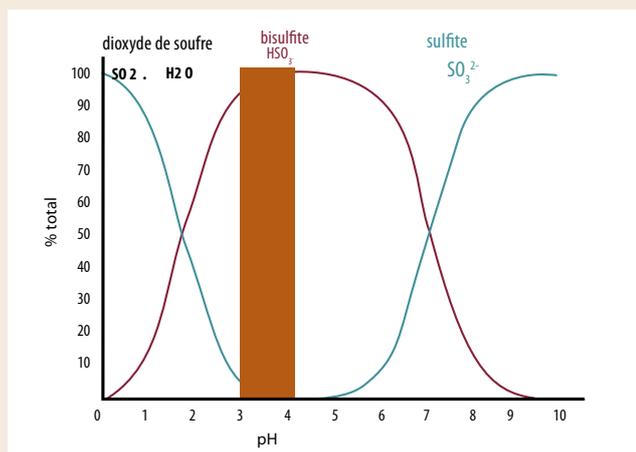


Figure 4. Abondance relative du SO<sub>2</sub> moléculaire, des ions bisulfites et sulfites (L. Usseglio-Tomasset, 1995). La zone mauve correspond au pH 3-4 des vins.

A une température et un titre alcoométrique donné, la concentration de SO<sub>2</sub> et de ions bisulfites sont liés au pH. Lorsque le pH est égal au pKa, la concentration de SO<sub>2</sub> est égale à celle des ions bisulfites. Si on acidifie et que le pH devient plus petit que le pKa, l'équilibre est momentanément dérangé. Il va se rétablir en se déplaçant vers la production de SO<sub>2</sub>. La concentration de SO<sub>2</sub> augmente. Si, au contraire, le pH devient plus grand que le pKa, l'équilibre se déplacera vers la production d'ions bisulfites et sulfites. Lorsque la température ou le titre alcoométrique augmente, le pKa augmente favorisant la production de SO<sub>2</sub>. Le SO<sub>2</sub>, la forme antiseptique principale se trouve en très petite quantité dans le vin (< 5 %) car l'ion dominant est le bisulfite selon ces constantes d'équilibre dans le vin (fig. 4). L'ion bisulfite joue le rôle principal en tant qu'antioxydant et antioxydasique. Le SO<sub>2</sub> et l'ion bisulfite forment ensemble le SO<sub>2</sub> libre qui « protège » le vin grâce à leurs effets combinés (antiseptique, antioxydant et antioxydasique). L'ion sulfite est négligeable car il représente moins de 0,1 % des formes du SO<sub>2</sub> dans le vin.

Au SO<sub>2</sub> libre s'ajoute le SO<sub>2</sub> combiné qui est composé majoritairement d'ions bisulfites combinés à des aldéhydes ou à des cétones. On pense que le SO<sub>2</sub> combiné ne protège pas le vin mais représente un réservoir de SO<sub>2</sub> libre car la combinaison est réversible. Le produit de la combinaison des ions bisulfites avec des aldéhydes volatiles forment des acides hydroxy-sulfoniques qui ne sont plus volatiles, empêchant les déviations olfactives générées par ces aldéhydes. L'éthanal (acétaldéhyde) en est un bon exemple.

### Imprécision des méthodes habituelles

Lorsque le SO<sub>2</sub> est utilisé, il est essentiel de mesurer le SO<sub>2</sub> libre pour déterminer la stabilité du vin et mesurer le SO<sub>2</sub> total (SO<sub>2</sub> libre + SO<sub>2</sub> combiné) pour satisfaire les exigences légales.

Le SO<sub>2</sub> est titré par iodométrie à l'aide d'une solution d'iode en présence d'amidon comme indicateur. Le SO<sub>2</sub> est oxydé par l'iode et forme de l'acide sulfurique et des ions iodures. Lorsque le SO<sub>2</sub> est entièrement consommé, la solution vire au bleu-violet par léger excès d'iode révélé par l'amidon. L'analyse est séparée en deux étapes. L'échantillon de vin est divisé en deux parts égales. On analysera le SO<sub>2</sub> libre d'une part et le SO<sub>2</sub> total d'autre part.

Pour mesurer le SO<sub>2</sub> libre, le pH du vin est abaissé par addition d'acide sulfurique de manière à déplacer l'équilibre et transformer les ions bisulfites en SO<sub>2</sub> qui sera titré. Pour mesurer le SO<sub>2</sub> total, le pH est fortement augmenté par l'addition d'hydroxyde de sodium, de manière à décomposer les associations avec les aldéhydes et les cétones en

formant des ions sulfites. L'échantillon est ensuite acidifié et titré selon la méthode citée plus haut.

Cette méthode bien que pratique et peu coûteuse présente deux désavantages. Le premier est la difficulté d'observer le virage dans les vins rouges. Ce problème peut être aisément résolu en titrant par électrométrie. Le deuxième est que toutes les molécules pouvant réduire l'iode dans ces conditions interfèrent avec la mesure et fausse le résultat. La présence notamment de pigments, de sucres réducteurs ou de vitamine C peuvent ainsi interférer avec la méthode de dosage. Les résultats du SO<sub>2</sub> libre et total seront alors surestimés. L'effet de ces interférences peut être évalué en titrant un échantillon traité au formaldéhyde, mais elle restera néanmoins très imprécise.

La méthode la plus répandue dans le monde pour quantifier le SO<sub>2</sub> libre et total dans le vin est la méthode d'aération-oxydation adaptée de la méthode de Franz-Paul (fig. 5). Cette méthode de dosage tire avantage de l'état gazeux du SO<sub>2</sub> à température et à pression ambiante. Le SO<sub>2</sub> de l'échantillon de vin est entraîné par un flux d'air. Il est ensuite piégé et oxydé en faisant passer le flux d'air transportant le SO<sub>2</sub> dans une solution de peroxyde d'hydrogène. Le SO<sub>2</sub> est oxydé par le peroxyde d'hydrogène et forme de l'acide sulfurique. L'acide sulfurique est titré avec une solution d'hydroxyde de sodium et l'équivalence est obtenu lorsque le mélange d'indicateurs vire du violet au vert.

L'analyse est constituée de deux étapes. La première étape consiste à mesurer le SO<sub>2</sub> libre de l'échantillon en entraînant à froid le SO<sub>2</sub>. La seconde étape consiste à mesurer le SO<sub>2</sub> combiné en chauffant le même échantillon. L'augmentation de la température favorise la décomposition du SO<sub>2</sub>, il est alors entraîné à chaud. Le SO<sub>2</sub> total s'obtient en additionnant le SO<sub>2</sub> libre et le SO<sub>2</sub> combiné.

L'avantage de cette méthode est que le dosage (la titration) est effectué hors de la matrice et diminue grandement les interférences produites par les pigments et autres composés du vin. Cette méthode est peu sensible, sa limite de détection se situant autour de 2 mg/l. Elle devient ainsi fort imprécise en dessous de 10 mg/l. De plus, de l'acide phosphorique est ajouté à l'échantillon de vin pour l'acidifier et transformer les ions bisulfites en SO<sub>2</sub>. Tout comme la méthode par iodométrie, l'ajout d'acide perturbe les équilibres complexes dans le vin. Ceci aboutit notamment à des erreurs de mesure du SO<sub>2</sub> libre.

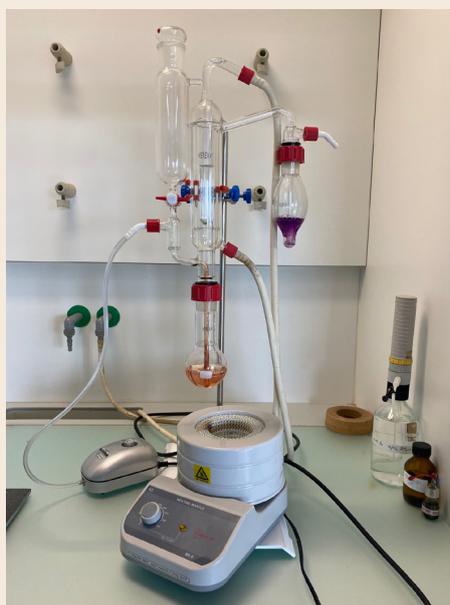


Figure 5. Analyse du SO<sub>2</sub> selon la méthode Franz-Paul.



Figure 6. GC-MS pouvant être utilisé pour doser le SO<sub>2</sub>.

VINS	SO <sub>2</sub> LIBRE « aération-oxydation » [mg/l]	SO <sub>2</sub> LIBRE « espace de tête » [mg/l]
Rouge, Tempranillo, 2015	26,30	11,20
Rouge, Grenache, 2013	6,07	3,30
Rouge, Grenache, 2015	16,20	4,70
Rouge, Syrah, 2015	39,90	11,60
Rouge, Grenache, 2013	38,90	15,50
Blanc, Macabeu, 2015	34,90	32,10
Blanc, Chardonnay, 2015	37,50	26,70
Blanc, Verdejo, 2015	27,10	12,50
Blanc, Palomino, 2014	10,10	6,00
Blanc, Albariño, 2014	19,50	19,00

Table 2. SO<sub>2</sub> libre mesuré par oxydation-aération et en comparaison par analyse de l'espace de tête. (Carrascon *et al.* 2017.)

### Comment procéder pour être plus précis ?

Carrascon *et al.* (2017) et Jenkins *et al.* (2020) ont récemment démontré que l'ajout d'acide à l'échantillon (et donc l'abaissement du pH de l'échantillon) induit une surestimation quasi-systématique du SO<sub>2</sub> libre dans des vins issus d'une grande variété de cépages. Ils se sont inspirés de Davis *et al.* (1983) qui avaient déjà démontré que les méthodes classiques de dosage du SO<sub>2</sub> surestimaient la quantité de SO<sub>2</sub> libre dans le vin et que l'acidification de l'échantillon était incriminée. Davis a développé une méthode suffisamment sensible pour quantifier le SO<sub>2</sub> dans l'espace de tête (phase gazeuse au-dessus du liquide) sans devoir acidifier et donc sans perturber les équilibres fins d'une matrice comme le vin.

### Comment est-ce que cela fonctionne ?

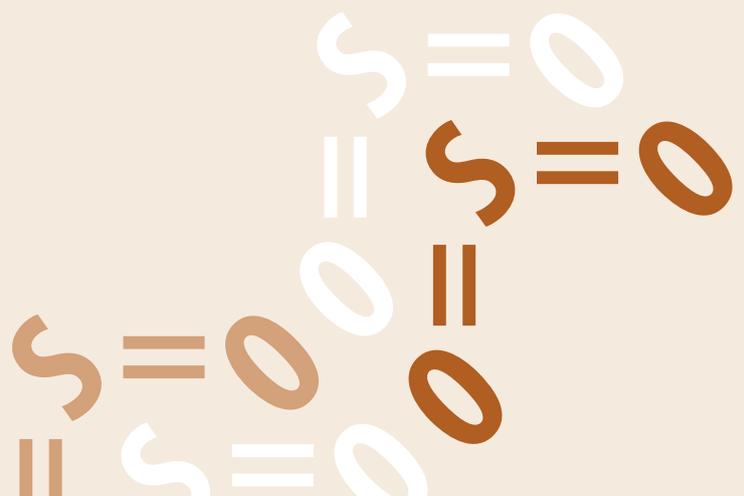
Imaginons un flacon fermé, rempli à moitié d'un liquide. Lorsqu'un gaz est dissout dans ce liquide, une partie de ce gaz passe dans l'espace de tête. Un équilibre se forme entre la phase liquide et la phase gazeuse. La concentration de ce gaz dans l'espace de tête est corrélé avec sa concentration dans la phase liquide selon la loi de Henry. En analysant ce gaz dans l'espace de tête, il est donc possible de déduire la concentration de ce même gaz dans la phase liquide. Ces chercheurs ont donc dosé le SO<sub>2</sub> libre dans des échantillons de vin en analysant l'espace de tête avec des technologies avancées comme des chromatographes à phase gazeuse couplés à de la spectrométrie de masse (GC-MS, fig. 6) ou un détecteur de la chimiluminescence du soufre (GC-SCD).

La table 2 montre les quantités de SO<sub>2</sub> libre mesurées par une méthode classique d'aération-oxydation et la méthode basée sur l'analyse de l'espace de tête. La méthode de référence donne un résultat en moyenne deux fois plus élevé que la méthode décrite dans Carrascon *et al.* (2020). Des résultats similaires ont été trouvés par Jenkins *et al.* (2020) et Davis *et al.* (1983) bien qu'ils démontrent que cet effet est plus important sur les vins rouges que vins blancs.

### Pourquoi est-ce qu'ils ont obtenu une telle différence ?

Ces résultats d'expériences montrent que les méthodes classiques mènent à une plus grande quantité de SO<sub>2</sub> libre que les méthodes passant par l'espace de tête plus respectueuses des équilibres au sein de la matrice du vin. En effet, selon les auteurs de ces publications, il semblerait que l'acidification des échantillons de vin dans les méthodes classiques libèrerait des ions bisulfites qui étaient faiblement combinés. Brouillard & El Hage Chahine (1980) ont démontré que les ions bisulfites et les anthocyanes peuvent créer des adduits. Davis *et al.* (1983) ont proposé que l'acidification des échantillons de vin dissociait ces adduits et libérait des ions bisulfites. Plus récemment Jenkins *et al.* (2020) ont trouvé une corrélation entre la quantité d'anthocyane dans le vin et la différence obtenue entre les méthodes classiques et analyses de l'espace de tête. Plus la concentration en anthocyanes était grande et plus la différence entre les méthodes d'analyses classiques et d'espace de tête étaient grandes, suggérant que l'acidification dissociait ces adduits bisulfites-anthocyane menant à des surestimation de SO<sub>2</sub> libre.

Ces récents travaux montrent clairement que les méthodes classiques recommandées par l'OIV surestiment la concentration de SO<sub>2</sub> libre dans le vin. Les raisons sont encore mal connues mais des pistes de recherche sont en cours afin de mieux comprendre les équilibres complexes du SO<sub>2</sub> dans le vin et donc ses effets protecteurs.



## LES VINS SANS SULFITES : UN RETOUR AUX SOURCES

Arnaud Immélé, Œnologue R&D, Sigolsheim, France [Barnaudimmele@yahoo.fr]

### Origine et historique du sulfitage

Le passage de l'amphore au tonneau constitua la première et la plus importante révolution de toute l'histoire de l'œnologie. Ce fut à la fois une révolution technique et culturelle. Il y a environ 2000 ans, alors que la vinification en terre cuite et sans sulfite était déjà installée depuis 5000 ans, des gaulois imposèrent le tonneau. Ce changement de récipient fit naître une nouvelle façon d'élaborer le vin et posa les socles de l'œnologie actuelle (fig. 7). Le point central de cette nouvelle œnologie est basé sur l'emploi de sulfites. Alors que le sulfitage n'était pas nécessaire pour les vins en amphores, il devint indispensable pour les vins en tonneaux. Tous nos repères pour établir des protocoles de vinifications, et quelle que soit la région ou le climat, se sont construits autour du sulfitage du moût et du vin. Cependant, avec le réchauffement climatique, le pH augmente et le pouvoir biocide du SO<sub>2</sub> baisse : à pH 4.00 il faut environ 10 fois plus de SO<sub>2</sub> qu'à pH 3.00 pour le même effet antiseptique. Et en même temps les consommateurs et les législateurs demandent la baisse des teneurs en sulfites. Il est donc nécessaire de revoir notre manière de travailler avec le SO<sub>2</sub>.

### Le SO<sub>2</sub> est un bon conservateur mais un mauvais vinificateur

Il y a d'autres raisons de s'interroger sur la pertinence du sulfitage à notre époque. Depuis quelques années nous découvrons la vinification avec des levures non-*Saccharomyces*. Les premières furent les *Torulaspota*, suivis de *Kluyveromyces*, *Pulcherrima* et *Pichia*. Elles ont un impact sur les odeurs des vins souvent plus important que les *Saccharomyces*. Nous savons aussi que, sur la pellicule du raisin, les non-*Saccharomyces* sont naturellement plus nombreuses. Des études de l'université de Davis (Californie, USA) montrent qu'il existe une typicité microbiologique de terroir qui n'est pas basée sur une souche

particulière de *Saccharomyces*, mais sur la diversité des souches présentes sur le raisin au moment de la récolte. Or le sulfitage des moûts réduit ou élimine la plupart des levures et impose une dose massive d'une sélection de levure *Saccharomyces*. On obtient une fermentation très sécurisée, mais dont on a en grande partie écarté les porteuses des particularités locales.

Il en va de même avec les bactéries qui sont encore plus sensibles au sulfitage. Les vinifications avec différentes souches d'*Enococcus* ou de lactobacilles montrent que les bactéries peuvent aussi avoir un impact important sur la typicité des vins et participent à la particularité des cuvées. L'avenir est dans la connaissance de la vie microbiologique dans les premiers instants du moût et dans les méthodes qui permettent d'encadrer les multiplications cellulaires sans forcément les anéantir. En prenant conscience que c'est par la connaissance et la maîtrise des populations microbiologiques, et plus précisément par l'étude de la genèse de la vie du moût, qu'on sécurise la vinification et non pas par l'unique sulfitage, on ouvre de belles potentialités.

### Gestion de l'oxydation des moûts en vinification de blancs aromatiques

A force de sulfitage, nous avons pris l'habitude de gérer des jus de raisins à la couleur verte et les considérons comme préjudiciable à la qualité si ces jus s'oxydent et deviennent marrons. Or, pour ce qui est des arômes thiolés, leurs précurseurs ne sont pas sensibles à l'oxydation. Ces arômes sont produits par les levures dans la première partie de la fermentation alcoolique. Dans les années 1970, Müller-Späth avait démontré que l'hyper-oxydation des jus n'affectait pas forcément la qualité des vins. Aujourd'hui nous arrivons à la conclusion que l'oxygénation des jus est préférable à la protection totale contre l'oxydation. Mais pas n'importe quelle dose d'oxygène et pas ajouté n'importe comment. L'équation pour la meilleure expression finale du vin met en corrélation la teneur en polyphénols et la dose d'oxygène : plus le jus est riche en polyphénols plus il a besoin d'oxygène. Une cuvée issue d'un pressurage bien fractionné n'a pas besoin d'apport d'oxygène. Par contre le vin de presse doit être soumis à des doses de l'ordre de 30 mg/l d'O<sub>2</sub>. Bien gérée, l'oxydation des jus permet de gommer les amertumes et les côtés végétaux, de gagner en onctuosité et en stabilité. On réduit aussi les protéines instables et le recours à la bentonite devient souvent inutile.

Ensuite, pour préserver la qualité et l'intensité aromatique, l'étape cruciale est le levurage. Dès que les levures s'activent, elles libèrent des arômes sensibles à l'oxydation. Par conséquent, l'oxydation pré-fermentaire des jus n'est pas forcément néfaste, par contre le jus ne doit plus être oxydé au moment du levurage. Auparavant, le moût doit donc être collé, si nécessaire, et bien débouillé pour éliminer les polyphénols oxydés. Ensuite, la fermentation passe en milieu réducteur si bien qu'on peut ajouter de petites fractions d'oxygène après une perte de densité de -25. Vers la fin de fermentation le vin devrait être scrupuleusement protégé de l'air et il vaut mieux le laisser sur lies totales jusqu'au printemps pour la mise en bouteilles.



Figure 7. La plus grande révolution de l'histoire de l'œnologie : de l'amphore au tonneau.

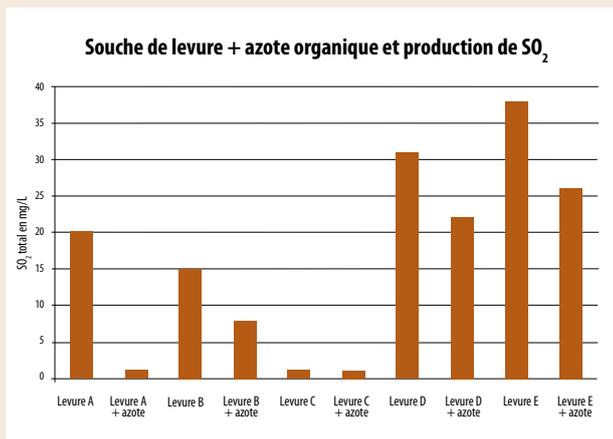


Figure 8. Effet de l'ajout de nutriments azotés à 20 g/l sur différentes souches de levure.



Figure 9. Lavage du raisin après vendange (Siprem International, Italie).

### Gestion de la microbiologie en vinification de blancs aromatiques sans SO<sub>2</sub>

Parmi les questions les plus fréquentes sont celles de la fermentation malolactique et de l'acidité volatile. Pour maîtriser la flore indigène sans la détruire par le sulfitage, il est recommandé de remplacer le sulfitage par une bio-protection à base de différentes souches. La fermentation malolactique spontanée peut être problématique pour les vins blancs. Ils peuvent perdre de la fraîcheur, leur bouquet peut être gêné par du diacétyle (odeur de beurre) et ils peuvent s'enrichir en amines biogènes. Pourtant, il vaut mieux se débarrasser de l'acide malique, trop instable. Une des solutions est d'ensemencer en bactéries sélectionnées capable de métaboliser l'acide malique à un stade précoce.

### Vinification en rouge sans sulfite

Les vins rouges supportent nettement mieux l'oxygène que les vins blancs. Par contre, avec le réchauffement climatique et les récoltes précoces à des températures élevées, les vins rouges ont besoin d'un soin attentif en matière de microbiologie. Les pH de plus en plus élevés rendent le SO<sub>2</sub> de moins en moins efficace et mettent en avant l'utilité de bio-protections. Mais on ne peut pas employer les mêmes bio-protection en rouge qu'en blanc. En blanc il faut une bio-protection qui préserve le temps de débordage alors qu'en rouge il faut une bio-protection qui démarre rapidement et de préférence avec des aptitudes à gêner le plus possible les *Brettanomyces*. Par exemple, l'université de Bourgogne a sélectionné une souche de levure non-*saccharomyces Metschnikowia pulcherrima* qui a des propriétés spécifiques pour lutter contre *Brettanomyces*. En ce qui concerne les bactéries lactiques, on pourrait se dire qu'en vins rouges il suffirait de laisser faire. Sauf que les conditions de réchauffement climatique font émerger le plus souvent des bactéries indigènes productrices d'amines biogènes affectant négativement la qualité sanitaire et aromatique des vins. Dès l'encuvage, il vaut donc mieux ensemencer de petites quantités de bactéries : il en faut deux à cinq fois moins que sur blancs.

### Les levures productrices de SO<sub>2</sub>

Les levures sont capables de produire jusqu'à 100 mg/l de SO<sub>2</sub> pendant la fermentation. Ce SO<sub>2</sub> naturel n'a pas d'intérêt œnologique puisqu'il est généralement intégralement combiné à l'éthanal. Donc pour produire des vins sans sulfites il vaut mieux choisir une souche de levure non-productrice de SO<sub>2</sub>. Mais aussi une alimentation azotée adaptée, car certaines préparations d'azote organique incitent les levures à produire davantage de SO<sub>2</sub> et d'autres limitent cette production, comme on peut le voir dans la figure 8.

### Gestion des composés soufrés en vinification sans sulfite

Les composés soufrés négatifs comme l'H<sub>2</sub>S sont des perturbateurs et des masqueurs d'arômes. En vinification sans sulfite, ce genre de composés soufrés a moins tendance à apparaître. Toutefois, comme on ne devrait pas aérer les vins et les garder sur lies totales, il est malgré tout nécessaire de prévenir la formation d'H<sub>2</sub>S. Les premiers initiateurs sont le cuivre et le soufre provenant de la vigne. Le cuivre est un antidote aux goûts de réduit sur vin, mais sur moût c'est l'inverse. Le cuivre est soluble dans le moût et pousse les levures à produire de l'H<sub>2</sub>S tout en favorisant la multiplication de levures indigènes productrices d'H<sub>2</sub>S. Le soufre résiduel de la vigne a le même effet sur les levures. Avec le risque que l'H<sub>2</sub>S ne reste pas sous forme libre et odorante, mais se combine rapidement et devienne difficile à éliminer. Parmi les solutions envisageables : limiter les résidus de cuivre et de soufre, planter des cépages résistants au mildiou et à l'oidium ou laver les raisins (fig. 9).

#### LE MOT DE LA FIN

De nombreux défis jalonnent le parcours du producteur de vin tout au long de la saison, tant à la vigne, à la cave qu'en matière de commercialisation. L'accès facilité à l'information par le consommateur amène celui-ci à s'interroger de plus en plus souvent sur les méthodes de production et leurs effets sur sa santé comme sur l'environnement. Ces questionnements sains, bien que régulièrement troublés par des données imprécises comme on peut par exemple en trouver sur les réseaux sociaux, amènent les viticulteurs et les vinificateurs à adapter leurs méthodes de plus en plus régulièrement. Le SO<sub>2</sub> fait partie de ces questionnements et est sans nul doute un des éléments les plus remis en cause aujourd'hui. Même si ce n'est pas toujours simple, réduire son utilisation est possible et ce dossier propose des outils et des pistes intéressantes à suivre. Souvent, le raisonnement n'est pas qu'œnologique, puisque certaines valeurs qui ont beaucoup d'impact à son encontre sont fortement dépendantes des choix effectués à la vigne, comme le pH et les acidités. Enfin, la façon dont on communique nos choix au consommateur a de plus en plus d'importance elle aussi et il est important de bien s'y préparer.

Au vu de sa taille, la liste des références bibliographiques est disponible sur demande.