

COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS LIBRES DES FEUILLES ET DES BAIES DU CÉPAGE CABERNET SAUVIGNON

FREE AMINO ACIDS OF LEAVES AND BERRIES OF CABERNET SAUVIGNON GRAPEVINES

A. MIELE*¹, A. CARBONNEAU** et J. BOUARD***

*Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, 95700-000 Bento Gonçalves, RS, Brasil

**Institut Supérieur de la Vigne et du Vin, Centre ENSA et INRA de Montpellier, 2 place
Viala, 34060 Montpellier, France

***Institut de la Vigne de Bordeaux, Laboratoire des Sciences de la Vigne,
Université de Bordeaux I, avenue des Facultés, 333405 Talence cedex, France.

Résumé : L'objectif du travail a été d'étudier la composition en acides aminés libres des feuilles, des péricarpes, des pellicules, des moûts et des pépins de *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. Les vignes étaient établies dans la région de Bordeaux et conduites suivant les systèmes traditionnel et lyre ouverte. Les résultats ont montré que, pour ces deux systèmes de conduite, les acides aminés libres prédominent dans les péricarpes, suivis par les pépins et les feuilles. Les acides aminés les plus abondants dans les feuilles sont l'acide glutamique, l'acide aspartique et la glutamine. Dans les péricarpes, les pellicules et les moûts, il y a davantage de proline et d'arginine. Dans les pépins, on trouve plutôt la proline, l'arginine, l'histidine et l'acide glutamique.

Abstract : The composition of free amino acids was studied from leaves, pericarps, skins, musts and seeds of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. Vineyards were in the Bordeaux region and the grapevines were conducted in espalier and lyre systems. Grapes were collected at maturity and lyophilized after sampling. Extraction of free amino acids was done with a hydroalcoholic solution and their analysis was performed with an autoanalyzer. A standard of 34 amino acids was utilized for the qualitative analysis. The results showed that, for both espalier and lyre training systems, respectively, the free amino acids were predominant in the pericarps (12.85 and 11.21 mg/g dw) - 16.88 and 15.12 mg/g dw in skins and 3.29 and 2.88 g/l in musts -, followed by the seeds (2.37 and 2.32 mg/g dw) and leaves (1.87 and 1.98 mg/g dw). The most abundant free amino acids in leaves were glutamic acid (23.8 and 28.8 p. cent), aspartic acid (8.8 and 11.1 p. cent), and glutamine (10.1 and 9.4 p. cent). Proline (41.8 and 41.5 p. cent) and arginine (22.8 and 22.4 p. cent) predominated in the pericarps. In seeds, the main amino acids were proline (14.5 and 15.8 p. cent), arginine (11.0 and 11.8 p. cent), histidine (11.2 and 8.7 p. cent), and glutamic acid (11.3 and 8.2 p. cent). Grapevine training system showed some differences in the total amount and in the percentages of each free amino acid, but the pattern of these compounds for each tissue was similar for both training systems.

Mots-clés : acide aminé, système de conduite, raisin, vigne, viticulture, *Vitis*.

Key words : amino acid, training system, grape, grapevine, viticulture, *Vitis*.

INTRODUCTION

Les acides aminés se trouvent parmi les substances les plus importantes de la vigne, puisqu'ils jouent un rôle essentiel dans le métabolisme. Ce sont, en effet, les produits primaires de l'assimilation de l'azote et les précurseurs des protéines et des acides nucléiques (STEWART et LAHRER, 1980). En outre, ils présentent un intérêt particulier pour l'œnologie, puisqu'ils ont une influence sur la fermentation des moûts et jouent un rôle dans la formation de certaines substances aromatiques et dans le bouquet des vins. On sait que plus de 200 acides aminés et peptides simples interviennent dans la constitution des plantes

(FOWDEN, 1978), mais seulement vingt acides aminés font normalement partie des protéines et d'autres peuvent, éventuellement, s'y trouver.

La composition en acides aminés libres des différents organes de la vigne dépend de nombreux facteurs, principalement de la génétique, de pratiques culturales et de l'environnement. Des recherches ont déjà été faites sur les acides aminés des différentes parties de la vigne (LAFON-LAFOURCADE et GUIMBERTEAU, 1962 ; KLIEWER et NASSAR, 1966 ; KLIEWER, 1969, 1970). Cependant, il n'existe pas de travaux se rapportant à la composition en acides aminés libres des différentes parties du raisin et de la vigne conduite suivant le système de conduite.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le présent travail a été effectué sur des vignes appartenant à l'INRA, Centre de Recherches de Bordeaux, pendant la vendange de 1983. Le cépage utilisé était *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon, greffé sur 101-14 Mgt. (*Vitis riparia* Mchx. x *Vitis rupestris* Sch.), cultivé sur un sol de texture sablo-limoneuse, possédant de faibles teneurs en éléments minéraux et une faible capacité d'échange de cations.

Les deux systèmes de conduite retenus ont été le système traditionnel et le système lyre ouverte. Dans le système traditionnel, les vignes sont sur un plan de palissage et maintenues par quatre fils de fer. Dans le système lyre ouverte, les vignes sont palissées sur deux plans inclinés jointifs.

Pour chacun des deux systèmes de conduite, dix pieds de vigne ont été choisis. Un prélèvement de 80 feuilles a été effectué pendant la période de maturation des raisins en tenant compte des caractéristiques de chaque système et de la position que les feuilles occupaient sur les rameaux. Aussitôt les feuilles prélevées, les limbes ont été détachés des pétioles. Pour les fruits, on a prélevé deux baies par grappe, soit un minimum de 400 baies.

Les feuilles et les baies prélevées ont été immédiatement plongées dans de l'azote liquide. Les péricarpes (pulpes et pellicules) ont été séparés des pépins. Afin d'éviter des pertes de jus et d'éventuelles réactions chimiques et enzymatiques, cette séparation a été faite en travaillant à une température d'environ -10°C. Les pépins ont ensuite été lavés avec de l'eau distillée et séchés par un courant d'air. La séparation des pellicules des pulpes a été faite avec un scalpel, en travaillant à des températures basses. Pour obtenir le moût, les baies ont été dégelées, mises dans un sachet en plastique et écrasées. Ensuite le moût a été filtré.

Les échantillons ont été lyophilisés et conservés dans des sachets en plastique à -20°C. Les feuilles et les pépins ont été broyés à l'aide d'un broyeur Wiley, tamis n° 60. En raison de leur forte teneur en sucre, le broyage des pellicules et des péricarpes a été effectué au mortier.

L'extraction des acides aminés libres a été faite avec une solution éthanol-eau (1/1, v/v), d'après la méthode de DARNÉ et MADERO-TAMARGO (1979). Cette phase hydroalcoolique a été évaporée sous vide partiel, à l'aide d'un évaporateur rotatif, à une température de 35°C. L'extrait aqueux obtenu a été filtré.

Les extraits ont été lyophilisés et repris par le citrate de lithium, pH 2,2, 0,2 N Li⁺, auquel on a ajouté de la norleucine comme étalon interne, à une concentra-

tion de 200 nmol/ml. Avant d'être injectés, les extraits dissous dans le citrate de lithium contenant la norleucine ont été centrifugés.

La détermination des acides aminés libres a été effectuée avec un autoanalyseur connecté à un intégrateur. Leur identification a été automatiquement faite par l'intégrateur, en fonction des temps de rétention préalablement déterminés par l'analyse d'un standard constitué par 34 acides aminés.

La relation entre les proportions relatives des acides aminés libres des différentes parties du cépage Cabernet Sauvignon et les systèmes de conduite a été établie au moyen de l'analyse factorielle des correspondances simples (HAIR *et al.*, 1995).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Au total, vingt-six acides aminés libres ont été détectés et identifiés dans les feuilles, les péricarpes, les pellicules, les moûts et les pépins du Cabernet Sauvignon conduit suivant les systèmes traditionnel (tableau I) et lyre ouverte (tableau II).

L'analyse factorielle des correspondances simples (figure 1) montre que l'axe 1 explique 76,6 p. cent et l'axe 2, 17,7 p. cent, ce qui fait 94,3 p. cent de la variation totale. Les centres de gravité des systèmes traditionnel et lyre ouverte par chaque partie du cépage Cabernet Sauvignon analysée sont proches, ce qui indique qu'il n'y a pas de différences considérables entre eux par rapport aux proportions relatives des acides aminés libres.

Les péricarpes, les feuilles et les pépins se distinguent nettement entre eux, puisqu'ils sont très bien distribués dans l'espace. Néanmoins, les péricarpes, les pellicules et les moûts ont une composition très proche.

L'axe 1 caractérise aussi bien les péricarpes, les pellicules et les moûts que les feuilles du cépage Cabernet Sauvignon. Les acides aminés les plus importants sont la proline (31,6 p. cent) et l'arginine (13,4 p. cent), qui caractérisent bien les péricarpes, les pellicules et les moûts, alors que l'acide glutamique (19,6 p. cent), l'acide aspartique (6,7 p. cent), la serine (4,6 p. cent), la taurine (4,5 p. cent) et la glutamine (3,0 p. cent) caractérisent les feuilles. Ces sept acides aminés représentent 83,4 p. cent du total des acides aminés détectés.

L'axe 2 caractérise les pépins. Les acides aminés les plus abondants sont l'histidine (35,3 p. cent), la citrulline (12,2 p. cent), l'acide glutamique (8,8 p. cent), l'isoleucine (7,4 p. cent), la phénylalanine (5,5 p. cent) et l' α -alanine (4,9 p. cent). Ces six acides aminés représentent 74,1 p. cent du total des acides aminés.

TABLEAU I
Concentration en acides aminés libres des feuilles et des baies du cépage Cabernet Sauvignon
conduit suivant le système traditionnel.

Table I - Free amino acids concentration of leaves and berries
of Cabernet Sauvignon grapevines conducted in the espalier system.

Acides aminés libres	Feuilles		Péricarpes		Pellicules		Moûts		Pépins	
	(µg/g MS)	(%)	(µg/g MS)	(%)	(µg/g MS)	(%)	(mg/l)	(%)	(µg/g MS)	(%)
Phosphosérine	-	-	80,6	0,6	168,0	1,0	10,5	0,3	-	-
Taurine	33,8	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-
Acide aspartique	165,4	8,8	235,4	1,8	330,8	2,0	65,5	2,0	134,0	5,7
Hydroxyproline	-	-	22,2	0,2	33,1	0,2	7,0	0,2	-	-
Thréonine	63,5	3,4	304,4	2,4	309,6	1,8	77,2	2,3	55,0	2,3
Sérine	175,3	9,3	193,3	1,5	293,7	1,7	65,5	2,0	70,1	3,0
Acide glutamique	445,7	23,8	548,7	4,3	722,4	4,3	135,7	4,1	269,1	11,3
Glutamine	188,5	10,1	487,7	3,8	587,4	3,5	142,7	4,4	120,3	5,1
Proline	17,6	0,9	5.388,3	41,8	7.434,2	44,1	1.368,9	41,7	343,1	14,5
Glycine	23,2	1,2	12,2	0,1	14,6	0,1	2,3	0,1	16,9	0,7
α-Alanine	212,7	11,4	760,5	5,9	674,8	4,0	231,7	7,1	74,1	3,1
Citrulline	-	-	69,8	0,5	-	-	12,9	0,4	58,9	2,5
Acide α-aminobutyrique	26,5	1,4	20,4	0,2	-	-	5,9	0,2	-	-
Valine	60,7	3,2	156,3	1,2	150,8	0,9	60,8	1,8	54,0	2,3
Cystine	5,1	0,3	tr	tr	2,6	tr	8,2	0,2	4,3	0,2
Méthionine	23,2	1,2	51,0	0,4	23,8	0,1	26,9	0,8	22,3	0,9
Isoleucine	64,5	3,4	124,3	1,0	177,3	1,0	27,6	0,8	128,5	5,4
Leucine	42,4	2,3	196,8	1,5	277,8	1,6	53,8	1,6	73,6	3,1
Tyrosine	25,6	1,4	75,8	0,6	105,8	0,6	28,1	0,9	57,0	2,4
β-Alanine	-	-	202,8	1,6	202,4	1,2	70,2	2,1	-	-
Phénylalanine	90,6	4,8	216,2	1,7	289,7	1,7	17,6	0,5	138,0	5,8
Acide γ-aminobutyrique	109,5	5,8	573,8	4,5	535,8	3,2	128,7	3,9	183,0	7,7
Ornithine	3,3	0,2	33,4	0,3	19,8	0,1	1,2	tr	-	-
Lysine	38,2	2,0	38,4	0,3	84,7	0,5	10,5	0,3	43,3	1,8
Histidine	49,7	2,6	127,8	1,0	296,4	1,8	52,7	1,6	265,6	11,2
Arginine	13,9	0,7	2.934,6	22,8	4.150,4	24,6	678,6	20,7	260,1	11,0
Total	1.878,9	100,0	12.854,7	100,0	16.885,9	100,0	3.290,7	100,0	2.371,2	100,0

- : non détecté ; - tr : traces (< 0,1 p. cent).

I - LES ACIDES AMINÉS LIBRES DES FEUILLES

Au total, vingt-deux acides aminés libres ont été détectés et identifiés dans les feuilles (tableaux I et II). Pour l'ensemble des deux systèmes de conduite, l'acide glutamique est, de beaucoup, l'acide aminé libre le plus abondant, puisqu'il représente environ un quart du total. On trouve ensuite l'acide aspartique, la glutamine et l'α-alanine, puis la sérine, l'acide γ-aminobutyrique et la phénylalanine. À maturité des raisins, ces acides aminés constituent près de 75 p. cent du total des acides aminés libres des feuilles de Cabernet Sauvignon. Les pourcentages de l'acide aspartique et de l'acide glutamique sont favorisés par le système lyre ouverte et ceux de l'α-alanine et de la serine, au contraire, sont plus

forts dans le cas du système traditionnel (tableaux I et II).

Ces sept acides aminés libres les plus abondants ont déjà été considérés comme importants par les auteurs qui ont travaillé sur les feuilles de vigne (KLIEWER et NASSAR, 1966 ; KLIEWER *et al.*, 1966 ; NASSAR et KLIEWER, 1966). Mais alors que l'arginine (NASSAR et KLIEWER, 1966) et la thréonine (RILLING *et al.*, 1975) sont caractérisés par des teneurs relativement élevées dans les feuilles analysées par ces auteurs, il n'en est pas de même dans celles du Cabernet Sauvignon à Bordeaux.

Par ailleurs, si l'acide glutamique est bien considéré dans les travaux cités comme l'un des acides aminés

TABLEAU II
Concentration en acides aminés libres des feuilles et des baies du cépage Cabernet Sauvignon
conduit dans le système lyre ouverte.

Table II - Free amino acids concentration of leaves and berries of Cabernet Sauvignon grapevines
conducted in the lyre system.

Acides aminés libres	Feuilles		Péricarpes		Pellicules		Moûts		Pépins	
	(µg/g MS)	(%)	(µg/g MS)	(%)	(µg/g MS)	(%)	(mg/g MS)	(%)	(µg/g MS)	(%)
Phosphosérine	-	-	55,6	0,5	181,0	1,2	9,4	0,3	-	-
Taurine	71,6	3,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Acide aspartique	220,7	11,1	235,7	2,1	261,5	1,7	56,2	1,9	112,3	4,8
Hydroxyproline	-	-	15,4	0,1	26,8	0,2	7,0	0,2	-	-
Thréonine	55,0	2,8	239,2	2,1	254,8	1,7	59,7	2,1	62,9	2,7
Sérine	128,8	6,5	194,4	1,7	241,3	1,6	44,5	1,5	89,0	3,8
Acide glutamique	573,4	28,8	476,9	4,3	611,4	4,0	128,7	4,5	191,2	8,2
Glutamine	187,7	9,4	337,7	3,0	443,8	2,9	95,9	3,3	103,6	4,5
Proline	15,3	0,8	4.655,9	41,5	6.698,7	44,4	1.422,7	49,3	366,2	15,8
Glycine	11,2	0,6	9,4	0,1	9,4	0,1	1,2	tr	19,9	0,9
α-Alanine	157,5	7,9	679,0	6,1	559,1	3,7	161,5	5,6	98,1	4,2
Citrulline	-	-	59,3	0,5	-	-	11,7	0,4	60,9	2,6
Acide α-aminobutyrique	27,0	1,4	27,7	0,2	-	-	5,9	0,2	-	-
Valine	82,0	4,1	141,9	1,3	154,2	1,0	46,8	1,6	43,7	1,9
Cystine	3,9	0,2	tr	tr	1,3	tr	7,0	0,2	4,3	0,2
Méthionine	21,4	1,1	42,2	0,4	17,4	0,1	22,2	0,8	28,0	1,2
Isoleucine	71,5	3,6	126,8	1,1	205,1	1,4	25,7	0,9	135,4	5,8
Leucine	29,7	1,5	189,0	1,7	266,8	1,8	37,4	1,3	99,4	4,3
Tyrosine	19,8	1,0	66,2	0,6	81,8	0,5	14,0	0,5	57,8	2,5
β-Alanine	-	-	185,4	1,7	252,1	1,7	45,6	1,6	-	-
Phénylalanine	94,4	4,7	208,0	1,9	336,5	2,2	16,4	0,6	157,1	6,8
Acide γ-aminobutyrique	136,1	6,8	590,0	5,3	607,4	4,0	114,7	4,0	178,6	7,7
Ornithine	3,7	0,2	33,5	0,3	16,1	0,1	1,2	tr	-	-
Lysine	32,6	1,6	27,8	0,2	63,0	0,4	8,2	0,3	36,5	1,6
Histidine	38,1	1,9	148,0	1,3	264,1	1,7	30,4	1,1	202,9	8,7
Arginine	7,8	0,4	2.468,5	22,0	3.566,6	23,6	512,5	17,8	274,8	11,8
Total	1.989,2	100,0	11.213,5	100,0	15.120,2	100,0	2.886,5	100,0	2.322,6	100,0

- : non détecté ; - tr : traces (< 0,1 p. cent).

les plus importants, en revanche, la glutamine qui est présente de façon constante et en grande quantité dans les échantillons que nous avons étudiés, n'est mentionnée que dans le travail de RILLING *et al.* (1975).

À l'inverse, nous n'avons pas pu détecter l'hydroxyproline, alors que cet acide aminé a été mis en évidence, sous forme de traces, chez le cv. Thompson Seedless (NASSAR et KLIEWER, 1966) et qu'il a même été signalé comme très abondant chez cinq espèces du genre *Vitis* (KLIEWER *et al.*, 1966).

La proline n'existe qu'en pourcentage très faible. Il en est de même d'ailleurs de l'arginine. La faible teneur en proline des feuilles de Cabernet Sauvignon peut être liée au métabolisme de la vigne, au cépage lui-même

et aussi aux conditions du milieu. On sait, en effet, que la proline augmente beaucoup lorsque les plantes, d'une façon générale, sont soumises à un stress hydrique (HSIAO, 1973). D'après les chiffres obtenus, on pourrait penser que les vignes étaient bien alimentées en eau, ce qui n'aurait d'ailleurs rien de surprenant étant la nature du sol sablo-limoneux humide dans lequel les vignes étaient plantées.

Il y a lieu de remarquer aussi que la taurine et la thréonine sont présentes en pourcentages assez importants et que le tryptophane et l'asparagine ne figurent pas parmi les acides aminés mis en évidence. Cela ne veut évidemment pas dire qu'ils n'existent pas dans les feuilles de Cabernet Sauvignon, car ils ont déjà été détectés chez la vigne (KLIEWER et NASSAR, 1966).

L'acide glutamique et la glutamine sont des produits très rapidement synthétisés par la plante et il n'est donc pas étonnant d'en trouver en abondance dans les feuilles. En raison de cette synthèse rapide, ils occupent une position centrale dans le métabolisme de l'azote (STEWART *et al.*, 1980). On sait, en effet, que la plus grande partie de l'azote des plantes provient des nitrates qui sont réduits en ammonium et que la formation de l'acide glutamique est liée à la présence de l'acide α -cétoglutarique. L'acide glutamique joue un rôle primordial, car il sert notamment d'accepteur de NH_3 pour la synthèse de la glutamine et il est, en outre, le précurseur du groupe aminé de nombreux acides aminés protéiques (THOMPSON, 1980).

II - LES ACIDES AMINÉS LIBRES DES PÉRICARPES, DES PELLICULES ET DES MOÛTS

Au total, vingt-quatre acides aminés ont été détectés dans les péricarpes du Cabernet Sauvignon (tableaux I et II). Les principaux sont la proline et l'arginine qui constituent à eux seuls 64 p. cent du total. Les autres acides aminés importants sont l' α -alanine, l'acide γ -aminobutyrique, l'acide glutamique, la glutamine et la thréonine. Les sept acides aminés cités représentent environ 85 p. cent du total. Les dix-sept autres interviennent donc en faibles proportions, en général inférieures à 2 p. cent.

Vingt-trois acides aminés ont été détectés dans les pellicules ; la citrulline et l'acide α -aminobutyrique

n'ont pas été mis en évidence. La proline et l'arginine représentent, à eux seuls, environ 68 p. cent du total des acides aminés libres. Viennent ensuite l'acide glutamique, l' α -alanine et l'acide γ -aminobutyrique qui, avec les deux précédents, constituent environ 80 p. cent du total des acides aminés libres de la pellicule (tableaux I et II).

Dans les moûts, on trouve les mêmes acides aminés que dans les péricarpes, plus l'ornithine qui est présente en très faibles proportions. Les principaux sont encore la proline et l'arginine qui, à eux seuls, représentent environ 65 p. cent du total. Les autres acides aminés importants sont l' α -alanine, l'acide glutamique, l'acide γ -aminobutyrique et la glutamine. Avec les deux premiers, ils constituent près de 83 p. cent du total des acides aminés libres des moûts.

On constate que les acides aminés dans les péricarpes, dans les pellicules et dans les moûts sont très inégalement abondants. En effet, une dizaine d'entre eux sont représentés par une proportion inférieure à 1 p. cent, alors que la proline dépasse toujours 40 p. cent et que l'arginine varie dans nos échantillons de 17,8 p. cent à 24,6 p. cent. À noter que la taurine, le tryptophane et l'asparagine n'ont pas été détectés.

Les proportions relatives de phosphosérine sont plus grandes dans les pellicules que dans les moûts. Il en est de même pour la phénylalanine (trois à quatre fois plus) et l'on peut penser, dans ce dernier cas, qu'il

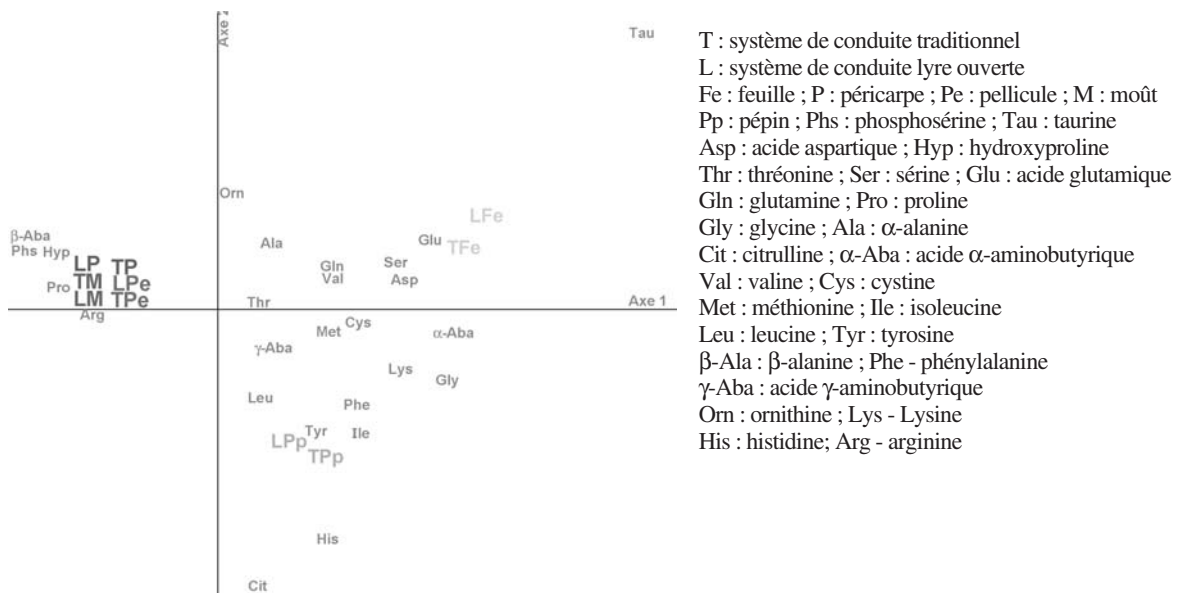


Fig. 1 - Analyse factorielle des correspondances simples des acides aminés libres des feuilles, des péricarpes, des pellicules, des moûts et des pépins du cépage Cabernet Sauvignon conduit dans les systèmes traditionnel et lyre ouverte

Fig. 1 - Correspondence analysis of free amino acids of leaves, pericarps, skins, musts, and seeds of Cabernet Sauvignon grapevines conducted in espalier and open lyre

y a peut-être là une relation avec le métabolisme des composés phénoliques de la pellicule. On sait par ailleurs que les acides hydroxycinnamiques sont bien connus dans les raisins et que ce sont des métabolites secondaires de la phénylalanine. La tyrosine, par contre, est aussi peu abondante dans les pellicules que dans les moûts. Quant à l'histidine, elle est représentée de façon comparable dans les moûts et dans les pellicules.

Notons aussi que la β -alanine, qui n'a pas été mise en évidence dans les feuilles et les pépins, a été trouvée dans les péricarpes. Elle est présente aussi bien dans les pellicules que dans les moûts.

Les proportions en poids de la pellicule et de la pulpe n'étant évidemment pas les mêmes, il est intéressant de voir comment se fait la distribution des acides aminés libres dans ces deux constituants des péricarpes. Lorsque les résultats sont exprimés par rapport à la matière sèche, la répartition est la suivante : 69 p. cent dans les pulpes et 31 p. cent dans les pellicules ; lorsqu'ils sont exprimés par rapport au poids frais, on a respectivement 86 p. cent et 14 p. cent. Les différences sont donc très importantes.

Pour la proline, en considérant les deux systèmes de conduite, la répartition est la suivante : 75 p. cent dans les pulpes et 25 p. cent dans les pellicules par rapport au poids sec et 88 p. cent et 12 p. cent par rapport au poids frais. Ces chiffres sont assez proches de ceux qui ont été donnés par LASHKI et TSISKARISHVILI (1967), soit 93 p. cent et 7 p. cent respectivement. La différence qui existe est sans doute due à la méthode d'obtention de la pellicule. Cette dernière, on le sait, est constituée de 6 à 10 assises de cellules et il est difficile d'isoler uniquement ces assises (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 1975). Dans nos échantillons, la pellicule représente 16,4 p. cent du poids frais des baies, dans ceux des auteurs précédents 19,8 p. cent, ce qui semble être en fait le chiffre donné par PEYNAUD et MAURIÉ (1953) pour le Cabernet Sauvignon. On peut rappeler, en outre, que GIRARD et LINDET (1895) avaient trouvé une valeur très différente pour ce même cépage, soit 8,7 p. cent.

On avait déjà signalé que la proline était le principal acide aminé libre des baies de plusieurs cépages de *Vitis vinifera* (KLIEWER, 1968 ; SPAYD et ANDERSEN-BAGGE, 1996). Mais, pour les cépages américains (*Vitis labrusca*), le principal acide aminé est l' α -alanine (KLIEWER, 1970 ; MIELE *et al.*, 1990 ; KUBOTA *et al.*, 1993). L'importance de la proline dans les raisins de Cabernet Sauvignon apparaît extraordinaire, et l'on constate que la famille de l'acide glutamique est prépondérante, ce qui signifie que la voie de l'acide α -cétoglutarique est active. Et elle devient de plus en plus active, puisque la concentration de la pro-

line augmente sa concentration pendant la maturation des raisins (LAFON-LAFOURCADE et GUIMBERTEAU, 1962 ; NASSAR et KLIEWER, 1966 ; KLIEWER, 1968, 1969, 1970 ; MIELE, 1986 ; MIELE *et al.*, 1996).

Les travaux se rapportant à l'évolution de l'arginine, indiquent que la teneur de cet acide aminé augmente à la fin du cycle (NASSAR et KLIEWER, 1966 ; KLIEWER, 1969, 1970 ; SAUVAGE *et al.*, 1993 ; HERNÁNDEZ-ORTE *et al.*, 1999) suivant les cépages ou qu'elle peut augmenter pendant la maturation des fruits, mais jusqu'à une certaine date seulement, pour diminuer à maturité (LAFON-LAFOURCADE et GUIMBERTEAU, 1962 ; KLIEWER, 1970 ; MIELE *et al.*, 1996).

La biosynthèse de la proline se produit probablement dans les raisins (NASSAR et KLIEWER, 1966 ; KLIEWER et OUGH, 1970) à partir de l'acide glutamique ou encore par la voie inverse du cycle de l'ornithine (THOMPSON, 1980). L'augmentation de la proline et la diminution concomitante de l'arginine pendant la maturation des fruits pourraient indiquer que l'arginine est susceptible d'être un précurseur de la proline (KLIEWER, 1968, 1970).

L'accumulation de l'arginine est probablement due à un excès d'ammonium dans le fruit (KLIEWER, 1969 ; KLIEWER et OUGH, 1970). En outre, pendant la maturation, les sucres s'accumulent par suite d'un transport qui se fait vers les baies. Ce transport est accompagné d'une consommation d'énergie, qui provient principalement des cycles glyoxylique et tricarboxylique, mais la dégradation de l'arginine serait susceptible de fournir un surplus d'énergie (KLIEWER, 1968).

Ces résultats montrent que les plus grandes réserves d'azote des acides aminés libres des péricarpes de Cabernet Sauvignon sont constituées par la proline et l'arginine. En effet, la proline représente environ 37 p. cent de l'azote des acides aminés libres et l'arginine environ 36 p. cent, ce qui fait 73 p. cent du total.

III - LES ACIDES AMINÉS DES PÉPINS

Vingt acides aminés ont été détectés et identifiés dans les pépins du Cabernet Sauvignon (tableaux I et II). À maturité des raisins, la proline, l'arginine, l'histidine et l'acide glutamique constituent environ 46 p. cent des acides aminés libres des pépins. Si l'on ajoute l'acide γ -aminobutyrique, la phénylalanine, l'isoleucine, l'acide aspartique et la glutamine on arrive à près de 76 p. cent. Ces résultats sont similaires à ceux de YOKOTSUKA et SINGLETON (1996), qui ont signalé que l'acide glutamique et la proline sont majoritaires dans cinq cépages. Cela indique que la famille

de l'acide glutamique est la plus importante, puisqu'elle est responsable d'environ 48 p. cent du total des acides aminés libres des pépins.

Les proportions de l'arginine à la véraison sont considérables, puisqu'elles représentent jusqu'à 51 p. cent du total des acides aminés libres des pépins. Mais, à maturité des raisins, elles sont de l'ordre de 11 p. cent (MIELE, 1986 ; MIELE *et al.*, 1996). Pour expliquer l'origine de l'arginine, on peut penser que cet acide aminé si abondant au début de la véraison provient essentiellement des organes ligneux de la vigne. On sait en effet que l'arginine est le plus important acide aminé stocké dans ces tissus et que la teneur en cet acide aminé diminue au début du cycle végétatif dans les parties situées au-dessous de la surface du sol. Selon NASSAR et KLIEWER (1966) et KLIEWER (1967), l'arginine serait utilisée pendant le développement de la plante et pendant la maturation des fruits.

Cette interprétation est suggérée par le fait que des quantités d'acides aminés libres relativement grandes sont transportées dans le xylème des organes de la vigne. On sait, en outre, que cela n'est pas particulier à la vigne et que l'arginine, d'une façon générale, est transportée dans le xylème des plantes supérieures en plus ou moins grande abondance suivant les espèces (LEA et MIFLIN, 1980). La diminution des proportions relatives de l'arginine est accompagnée par l'augmentation des pourcentages de la proline en particulier. La formation de la proline à partir de l'arginine est possible, puisque DURANTON (1978) a montré au moyen d'arginine marquée que l'on retrouve près de 50 p. cent du carbone radioactif dans la proline, le reste étant réparti dans d'autres acides aminés.

À maturité des raisins, trois groupes d'acides aminés peuvent être nettement distingués : a) ceux dont les proportions sont supérieures à 10 p. cent, comme la proline, l'arginine, l'acide glutamique et l'histidine ; b) ceux dont les proportions sont inférieures à 1 p. cent, comme la glycine, la cystine, l'ornithine et la méthionine ; et c) ceux dont les proportions sont comprises entre 1 et 10 p. cent.

Les acides aminés libres ne constituent qu'une quantité de réserves peu importante car l'azote des graines est essentiellement stocké sous forme protéique (LEA et MIFLIN, 1980). Il en est ainsi dans les pépins, car nous avons trouvé que les acides aminés libres n'y représentent que 4 p. cent environ des acides aminés totaux, alors que, dans les péricarpes, cette valeur s'élève approximativement à 65 p. cent.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DARNÉ G. et MADERO-TAMARGO J., 1979. Mise au point d'une méthode d'extraction des lipides solubles totaux, des glucides solubles totaux et des composés phénoliques totaux des organes de la vigne. *Vitis*, **18**, 221-228.
- DURANTON H., 1978. Sort des atomes de la molécule d'arginine au cours de sa dégradation par les tissus de Topinambour. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **246**, 3095-3098.
- FOWDEN L., 1978. Non-protein nitrogen compounds : toxicity and antagonistic action in relation to amino protein synthesis. In : NORTON G., ed. *Plant proteins*. London, Butterworths, 109-115.
- GIRARD A. et LINDET C., 1895. *Recherches sur la composition des raisins des principaux cépages de France*. Paris, Imprimerie Nationale.
- HAIR Jr. J.F., ANDERSON R.E., TATHAM R.L. et BLACK W.C., 1995. *Multivariate data analysis*. 4 ed. Upper Saddle River, Prentice Hall.
- HERNÁNDEZ-ORTE P., GUITART A. et CACHO J., 1999. Changes in the concentration of amino acids during the ripening of *Vitis vinifera* Tempranillo variety from the Denomination d'Origine Somontano (Spain). *Am. J. Enol. Vitic.*, **50**, 144-154.
- HSIAO T.C., 1973. Plant responses to water stress. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 519-570.
- KLIEWER W.M., 1967. Annual cyclic changes in the concentration of the free amino acids in grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **18**, 126-137.
- KLIEWER W.M., 1968. Changes in the concentration of grape berries during maturation. *Am. J. Enol. Vitic.*, **19**, 166-174.
- KLIEWER W.M., 1969. Free amino acids and other substances of table grape varieties. *J. Food Sci.*, **34**, 274-278.
- KLIEWER W.M., 1970. Free amino acids and other nitrogenous substances fractions in wine grapes. *J. Food Sci.*, **35**, 17-21.
- KLIEWER W.M. et NASSAR A.R., 1966. Changes in concentration of organic acids, sugars, and amino acids in grape leaves. *Am. J. Enol. Vitic.*, **17**, 48-57.
- KLIEWER W.M., NASSAR A.R. et OLMO H.P., 1966. A general survey of the free amino acids in the genus *Vitis*. *Am. J. Enol. Vitic.*, **17**, 112-117.
- KLIEWER W.M. et OUGH C.S., 1970. The effect of leaf area and crop level on the concentration of amino acids and total nitrogen in Thompson Seedless grapes. *Vitis*, **9**, 196-206.
- KUBOTA N., LI X-G. et YASUI, K., 1993. Effects of rootstocks on sugar, organic acid, amino acid, and anthocyanin contents in berries of potted 'Fujiminori' grapes. *J. Japan. Soc. Hortic. Sci.*, **62**, 363-370.

- LAFON-LAFOURCADE S. et GUIMBERTEAU G., 1962. Évolution des aminoacides au cours de la maturation des raisins. *Vitis*, **3**, 130-135.
- LASHKI A.D. et TSISKARISHVILI T.P., 1967. Proline in grape products. *Vinodel. Vinograd.*, **27**, 19-21.
- LEA P.J. et MIFLIN B.J., 1980. Transport and metabolism of asparagine and other nitrogen compounds within the plant. In : *Stumpf P.K. et Conn E.E., eds. The biochemistry of plants*. New York, Academic Press, v.4, 569-607.
- MIELE A., 1986. Recherches sur la composition en acides aminés et en acides gras des feuilles et des raisins de *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon pendant la période de maturation et en fonction du système de conduite. *Thèse Doctorat*, Université de Bordeaux II.
- MIELE A., CARBONNEAU A. et BOUARD J., 1996. Évolution des teneurs en proline et en arginine et du total des acides aminés libres au cours de la maturation des baies du Cabernet Sauvignon. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, N° hors série, 71-74.
- MIELE A., RIZZON L.A. et ZANOTTO D.L., 1990. Free amino acids in Brazilian grape juices. *Riv. Vitic. Enol.*, **43**, 15-21.
- NASSAR A.R. et KLEWER W.M., 1966. Free amino acids in various parts of *Vitis vinifera* at different stages of development. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, **89**, 281-294.
- PEYNAUD E. et MAURIÉ A., 1953. Sur l'évolution de l'azote dans les différentes parties du raisin au cours de la maturation. *Ann. Techn.*, **1**, 15-25.
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., RBÉREAU-GAYON P. et SUDRAUD P., 1975. *Sciences et techniques du vin*. Paris, Dunod, v.1.
- RILLING G., RAPP A. et REUTER K.H., 1975. Veränderungen des Aminosäuregehaltes von Rebenorganen bei Befall durch die Reblaus (*Dactylophaera vitifolii* Shimer). *Vitis*, **14**, 198-219.
- SAUVAGE F.X., NICOL M.Z., VERRIES C., SARRIES J., PRADAL M. et ROBIN J.P., 1993. Acides aminés libres et quelques activités enzymatiques de moûts de raisins mûrs. Analyses statistiques de l'effet variétal. *Sci. Alim.*, **13**, 443-462.
- SPAYD S.E. et ANDERSEN-BAGGE J., 1996. Free amino acid composition of grape juice from 12 *Vitis vinifera* cultivars in Washington. *Am. J. Enol. Vitic.*, **47**, 389-402.
- STEWART G.R. et LAHRER F., 1980. Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In : *Stumpf P.K. et Conn E.E., eds. The biochemistry of plants*. New York, Academic Press, v.4, 609-635.
- STEWART G.R., MANN A.F. et FENTEN P.A., 1980. Enzymes of glutamate formation : glutamate dehydrogenase, glutamine synthetase, and glutamate synthase. In : *Stumpf P.K. et Conn E.E., eds. The biochemistry of plants*. New York, Academic Press, v.4, 271-327.
- THOMPSON J.F., 1980. Arginine synthesis, proline synthesis, and related processes. In : *Stumpf P.K. et Conn E.E., eds. The biochemistry of plants*. New York, Academic Press, v.4, 375-401.
- YOKOTSUKA K. et SINGLETON V.L., 1996. Grape seed nitrogenous components and possible contribution to wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **47**, 268-278.

Reçu le 5 décembre 99
accepté pour publication le 4 février 2000
