

ACTION DES INHIBITEURS DE LA BIOSYNTHESE DE L'ERGOSTÉROL SUR LA FERMENTATION ALCOOLIQUE DU MOUT DE RAISIN BLANC

F. DOIGNON et Caroline COUTY

Institut d'œnologie, Université de Bordeaux II,
351, Cours de la Libération, 33405 Talence cedex (France)

Résumé : *Les fongicides appartenant aux familles des Triazoles et Imidazoles agissent en bloquant la voie de biosynthèse de l'ergostérol chez les champignons parasites de la vigne. Ils sont très utilisés pour lutter contre l'oïdium et le black-rot; mais ces fongicides perturbent la maturation des raisins traités, ainsi que la fermentation alcoolique en induisant chez la levure des modifications du métabolisme des acides gras et des stérols, modifiant ainsi la composition lipidique. On constate dans la pratique que des résidus de ces fongicides se retrouvent dans les moûts de vigne traitée et ralentissent la vitesse de fermentation. Une conséquence est l'augmentation de la fréquence des arrêts de fermentation outre, des modifications concernant les qualités organoleptiques des vins issus de ces raisins.*

INTRODUCTION

Les Inhibiteurs de la Biosynthèse de l'Ergostérol tirent leur pouvoir fongicide sur les champignons parasites de leur propriété de bloquer la voie de biosynthèse de l'ergostérol. Mais le métabolisme des stérols de ces champignons parasites possède de fortes analogies avec celui des stérols de la levure *Saccharomyces cerevisiae* Merjen et Hansen, qui est l'agent principal de la fermentation alcoolique. Devant l'accroissement de l'utilisation des IBE, il nous a paru intéressant d'étudier si des traitements de la vigne par ces produits pouvaient avoir des conséquences sur le déroulement de la fermentation alcoolique des moûts de raisins blancs et la composition des vins obtenus.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Pour l'expérimentation de 1987, des raisins de Sauvignon ont subi 6 traitements entre le 9 juin et le 18 août 1987 à la cadence d'un tous les quinze jours, avec 2 types d'IBE (Inhibiteurs de la Biosynthèse de l'Ergostérol). A chacun des 6 traitements, le lot témoin reçoit 5 kg/ha de matière active (Thiovit), le lot traité au Bayleton (IBE) reçoit 75 kg/ha de triadiméfon et le lot traité à l'Olymp (IBE) reçoit 30 g/ha de flusilazole. La vendange s'est déroulée le 21 septembre 1987.

Pour l'expérimentation de 1988, des raisins de Sémillon ont subi 6 traitements entre le 19 mai et le 10 août 1988 à la cadence d'un tous les quinze jours, avec 2 types d'IBE (Inhibiteurs de la Biosynthèse de l'Ergostérol). De plus, nous possédons un lot de raisin traité avec du mancozèbe, afin de comparer ses effets sur la fermentation alcoolique avec ceux des IBE. Le mancozèbe est un fongicide de contact multisite de la famille des dithiocarbamates et a une action principale anti-mildiou et des actions secondaires sur le black-rot, le brenner et l'excoriose. Le lot témoin reçoit 5 kg/ha de matière active (Thiovit), le lot traité au Bayleton (IBE) reçoit 75 kg/ha de triadiméno, le lot traité à l'Olymp (IBE) reçoit 30 g/ha de flusilazole et enfin, le lot traité au Dithane reçoit 2.800 g/ha de mancozèbe. La vendange s'est déroulée le 19 Septembre 1988.

Les raisins sont pressés en utilisant un presseoir vertical à main, les moûts sont sulfités à 20 mg/l. Le débouillage a lieu à +4°C pendant 24 h. Les moûts sont par la suite ajustés à 210 g de sucres et 4 g d'acidité par litre.

L'ensemencement est réalisé avec *Saccharomyces cerevisiae*, souche EG8 pour l'expérimentation de 1987 et souche CBS-6978 pour l'expérimentation de 1988 à raison de 10⁶ cellules par ml; la fermentation se déroule à 19°C en semi-anaérobiose dans des bouteilles de 1,5 l fermées avec un bouchon traversé par un tube capillaire. Il y a 3 bouteilles pour chaque lot et les résultats donnés sont la moyenne des valeurs obtenues pour les 3 échantillons.

L'acidité totale et l'acidité volatile sont déterminées par les méthodes usuelles. Le titre alcoométrique est mesuré par un appareil Infraiseur 450. Les sucres résiduels (glucose et fructose) sont déterminés par méthode enzymatique (BOEHRINGER-MANNHEIM).

La méthode de dosage des acides gras libres et de leurs esters éthyliques est adaptée de la méthode de BERTRAND (1975, 1981), les conditions d'analyse sont :

- chromatographe : HEWLETT PACKARD 5890
- colonne capillaire : FFAP (Free Fatty Acid Phase), longueur 25 m, Ø interne 0,2 mm
- injection : split-less 30 sec
- détecteur : à ionisation de flamme
- gaz vecteur : Hélium, débit 1 ml/min
- température du four : 50°C — 5°C/min ———> 240°C, puis la température finale est maintenue pendant 30 min.

La méthode de dosage des alcools supérieurs est adaptée de la méthode de BERTRAND (1968, 1975), les conditions d'analyse sont :

- chromatographe INTERSMAT JGC 15
- colonne classique en acier inoxydable de 8 m de long, Ø 1,8 pouce = 3,2 mm, avec pour phase : carbowax 400 + hallcomid M 18 ol (1 p. cent)
- injection : directe
- détecteur : à ionisation de flamme
- gaz vecteur : azote qualité R, débit 18 ml/min
- température du four : isotherme 75°C

La méthode de dosage des terpènes est adaptée de la méthode de DIMITRIADIS et WILLIAMS (1983), les conditions d'analyse sont :

- chromatographe : Carlo ERBA 4160
- colonne capillaire CPWax 52 CD, d'une longueur de 50 m, de 0,2 mm de Ø interne, avec pour phase carbowax DB wax, pré-colonne de 2 m en silice fondue
- injection : on column,
- détecteur : à ionisation de flamme
- gaz vecteur : hélium qualité U, débit : 1,4 ml/min
- température du four : 45°C ——— 3°C/min —————> 240°C, la température maximale du four est maintenue pendant 20 min.

RÉSULTATS ET DISCUSSION DES DONNÉES OBTENUES EN 1987 ET 1988

Les teneurs résiduelles des IBE dans le moût lors de l'expérimentation de 1987, sont par litre de 32 µg pour le triadiméfon et de 330 µg pour le flusilazole (Tableau I). GNAEGI et al. (1983 et 1984) ont montré que pour un délai d'attente de 5 semaines, la quantité résiduelle de triadiméfon dans le moût était de l'ordre de 50 µg/l.

Les conséquences de ces traitements arrêtés 4 semaines avant la vendange sont multiples:

- la teneur en sucre et l'acidité montrent que les moûts issus de raisins traités par les IBE présentent un degré de maturation inférieur à celui de moûts témoins (Tableau I). Nous pouvons penser que la présence d'IBE sur la vigne peut avoir une influence sur la biosynthèse des auxines, dont une étape est catalysée par une enzyme à cytochrome P-450, cible des IBE (FOURNIER, 1988).

TABLEAU I
Analyse des moûts

Expérimentation	Traitements	Sucres réducteurs (g/l)	Acidité totale (g H ₂ SO ₄ /l)	Teneurs résiduelles (µg/l)
1987 Sauvignon	Témoin	207	3,6	non détectées
1987 Sauvignon	Triadiméfon	195	3,8	32
1987 Sauvignon	Flusilazole	195	3,9	330
1988 Sémillon	Témoin	184	5,2	non déterminé
1988 Sémillon	Mancozèbe	180	5,2	non déterminé
1988 Sémillon	Triadiméfonol	172	5,3	non déterminé
1988 Sémillon	Flusilazole	165	5,4	non déterminé

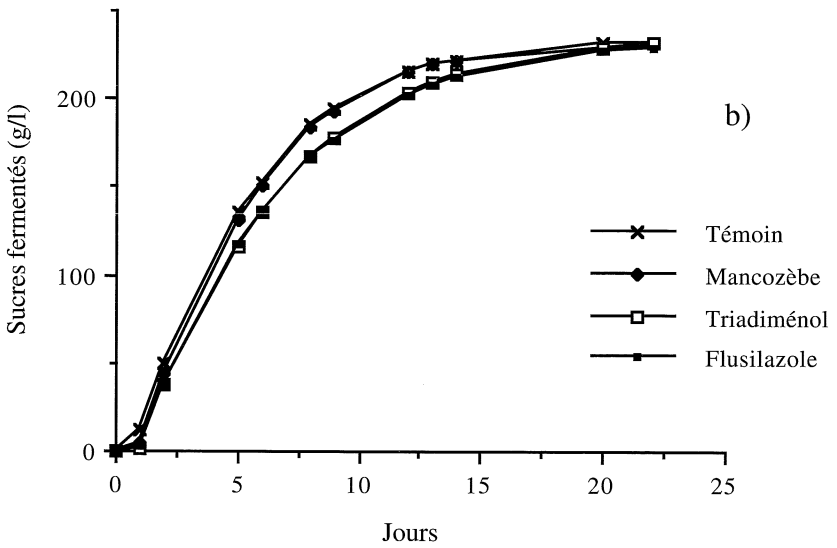
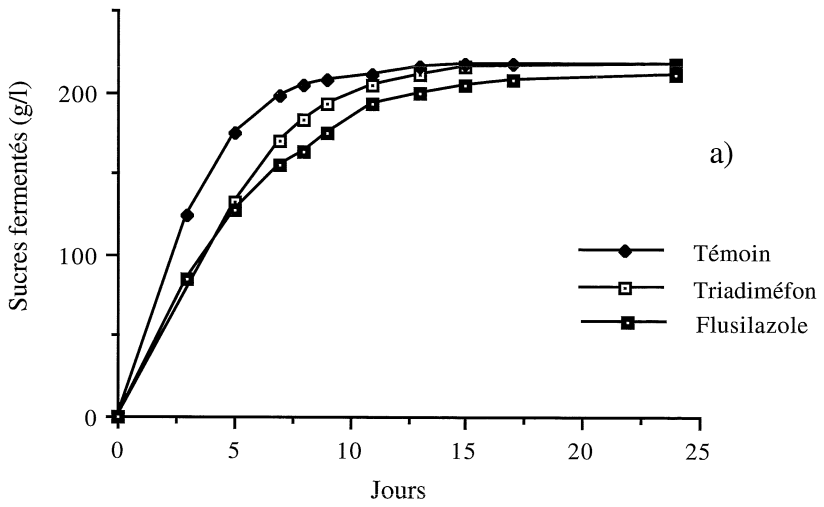


Fig. 1 — Influence du traitement des raisins aux IBE sur le déroulement de la fermentation alcoolique des moûts :

a) Expérimentation 1987 sur Sauvignon

b) Expérimentation 1988 sur Sémillon

- La vitesse de fermentation est plus lente; la durée de fermentation est supérieure à celle d'un moût témoin. La durée de fermentation de moûts contenant des résidus d'IBE est supérieure aux témoins (23 jours au lieu de 16 jours) (Fig.1.a).

Pour l'expérimentation de 1988, nous ne remarquons pas de départ tardif en fermentation. Par contre, dans le cas du triadiméol et du flusilazole, nous notons un ralentissement de la fermentation, intervenant avant le 5^{ème} jour de la fermentation alcoolique par comparaison avec la courbe du lot témoin (Fig.1.b). Cette dernière courbe se superpose avec la courbe du lot traité au mancozèbe; le mancozèbe à la dose employée dans cet essai n'aurait pas sur la cinétique de fermentation.

- Les sucres restants sont inférieurs à 2 g/l pour les lots témoins et traités au mancozèbe, ce qui n'est pas le cas des lots traités aux IBE pour lesquels nous observons des quantités de sucres restants de l'ordre de 3 g/l (Tableau II).

TABLEAU II
Incidence de certains fongicides sur la composition des vins blancs

Expérimentation	Traitement	Titre alcoométrique	Sucres résiduels (g/l)	Acidité totale (g H ₂ SO ₄ /l)	Acidité volatile (g H ₂ SO ₄ /l)
1987 Sauvignon	Témoin	11°7	1,02	4,15	0,28
1987 Sauvignon	Triadiméfon	11°6	1,81	3,95	0,28
1987 Sauvignon	Flusilazole	11°5	2,90	4,05	0,40
1988 Sémillon	Témoin	13°9	1,3	5,00	0,29
1988 Sémillon	Mancozèbe	13°7	1,5	5,10	0,32
1988 Sémillon	Triadiméol	13°7	2,4	4,70	0,32
1988 Sémillon	Flusilazole	13°6	2,8	5,00	0,52

- Les acidités volatiles varient en fonction des lots, mais dans l'ensemble sont supérieures à celles des témoins. Nous observons pour le lot traité au flusilazole en 1987 et en 1988, une augmentation de 80 p. cent par rapport au lot témoin (Tableau II).

- Les acidités totales sont les mêmes, sauf pour l'essai avec le triadiméfon et le triadiméol où il y a une chute de l'acidité (Tableau II).

- Nous remarquons une diminution de la teneur en acides gras courts libres à courtes chaînes dans les lots traités par rapport au lot témoin; l'écart est le plus marqué pour les lots traités au flusilazole, 18 p. cent par rapport au témoin. Parallèlement à la diminution des teneurs en acides gras, nous observons une diminution des teneurs en esters éthyliques d'acides gras dans le cas des lots traités au flusilazole (Tableaux III et IV).

TABLEAU III

**Incidence de certains fongicides sur les teneurs
en acides gras et en esters des vins blancs.
Expérimentation 1987, Sauvignon. Les teneurs sont exprimées en mg/l.**

	Témoin	Triadiméfon	Flusilazole
Somme des acides gras à courte chaîne (C6 à C14)	13,50	12,00	8,40
Somme des esters d'acides gras à courte chaîne	3,73	3,30	2,60
Acétate d'isoamyle	3,95	2,50	1,85
Acétate d'hexyle	0,38	0,21	non détecté
Acétate de phényl-2éthyle	0,35	0,21	0,33
Somme des acétates d'alcools supérieurs	4,68	2,92	2,18
Diéthyl succinate	0,11	0,28	non détecté

TABLEAU IV

**Incidence de certains fongicides sur les teneurs
en acides gras et en esters des vins blancs.
Expérimentation 1988, Sémillon. Les teneurs sont exprimées en mg/l.**

	Témoin	Mancozèbe	Triadiméfon	Flusilazole
Somme des acides gras à courte chaîne (C6 à C14)	13,10	12,77	12,46	10,73
Somme des esters d'acides gras à courte chaîne	2,57	2,52	2,44	2,11
Acétate d'isoamyle	1,60	1,50	1,50	1,20
Acétate d'hexyle	0,06	0,09	0,05	0,06
Somme des acétates d'alcools supérieurs	1,66	1,59	1,55	1,26
Diéthyl succinate	0,68	0,70	0,70	0,93

TABLEAU V

**Incidence de certains fongicides sur les teneurs
en alcools supérieurs, méthanol et hexanol dans les vins blancs.
Expérimentation 1987, Sauvignon. Les teneurs sont exprimées en mg/l.**

	Témoin	Triadiméfon	Flusilazole
Hexanol	0,90	1,60	2,30
Méthanol	29,10	33,70	34,20
Phényl-2 éthanol	14,56	20,30	27,40
Propanol-1	40	33	33
Méthyl-2 propanol-1	43	51	48
Méthyl-2 butanol-1	39	59	58
Méthyl-3 butanol-1	167	212	222

TABLEAU VI

**Incidence de certains fongicides sur les teneurs
en alcools supérieurs, méthanol et hexanol dans les vins blancs (en mg/l).
Expérimentation 1988, Sémillon. Les teneurs sont exprimées en mg/l.**

	Témoin	Mancozèbe	Triadiméfon	Flusilazole
Hexanol	0,6	0,5	0,6	0,5
Méthanol	63,1	55,4	58,8	60,0
Phényl-2 éthanol	40,6	37,4	40,6	54,8
Propanol-1	16	16	18	17
Méthyl-2 propanol-1	69	81	73	102
Méthyl-2 butanol-1	39	52	51	62
Méthyl-3 butanol-1	223	235	226	278

- Concernant la teneur en alcools supérieurs, nous notons ici une augmentation légère pour les lots mancozèbe et triadiméfon et une forte augmentation de l'ordre de 37 p. cent pour les lots traités au flusilazole par rapport au lot témoin (Tableaux V et VI).

Pour l'expérimentation de 1987, nous observons que les vins issus de raisins traités par des IBE, présentent des teneurs plus faibles en terpénols (Tableau VII).

- Les variations pour le lot traité avec le mancozèbe sont moins importantes, que celles engendrées par les IBE en ce qui concerne la vitesse de fermentation, la teneur en sucres résiduels, l'acidité volatile, la teneur en acides gras et esters correspondants.

TABLEAU VII

**Incidence de certains fongicides sur les teneurs en terpénols dans les vins blancs.
Expérimentation 1987, Sauvignon. Les teneurs sont exprimées en mg/l.**

	Témoin	Triadiméfon	Flusilazole
Linalol	9,60	4,14	5,28
Terpinéol	6,55	3,61	4,37
Citronellol	9,73	8,70	9,41
Nérol	2,44	1,95	1,92
Géranol	137,16	73,76	71,99
Somme des terpènes	165,48	92,16	92,97

CONCLUSION

L'emploi sur la vigne de substances anti-oïdium de type IBE entraîne des perturbations sur la maturité des raisins et sur le déroulement de la fermentation alcoolique ainsi que sur la composition des vins obtenus. Ces résultats indiquent que ces modifications dans le déroulement de la fermentation ne sont pas négligeables et que ces fongicides, agissent non seulement sur la biosynthèse des stérols du champignon responsable de l'oïdium, mais probablement aussi sur celle de la levure et peut-être même auraient une action sur le métabolisme des acides gras et des matières azotées.

Très peu d'études relatant les effets des IBE sur la fermentation alcoolique ont été publiées. De plus les seules expérimentations effectuées consistaient à rajouter un fongicide dans un moût de raisin et à voir l'effet de cette adjonction sur la vitesse de fermentation, les sucres résiduels, et l'acidité volatile uniquement (MOULIN, 1982; GNAEGI *et al.*, 1983, 1984). Ainsi, ces auteurs remarquent qu'en présence d'une quantité croissante de fongicides IBE, dans un moût en fermentation en semi-anaérobiose, la vitesse de fermentation décroît,

l'acidité volatile augmente et il peut rester des sucres résiduels. En aérobiose, ils ne remarquent que peu de variations concernant les paramètres décrits. Par ailleurs TROMP et MARAIS (1981) qui ont ajouté à du moût 200 mg/l de triadiméfon ne relèvent aucune influence de cette adjonction.

Ces effets néfastes des traitements aux IBE sur la vinification, indépendamment de tout autre facteur (température, oxygène), sont :

- une augmentation de la durée de fermentation.
- la présence de sucres résiduels.

La présence d'une quantité de sucres résiduels supérieure à 2 g/l, peut entraîner des problèmes pour la commercialisation de vins secs.

- l'augmentation de l'acidité volatile qui peut atteindre des valeurs élevées.
- une diminution de la teneur en esters éthyliques d'acides gras.

Les esters éthyliques d'acides gras sont les témoins de la qualité des vins (DU PLESSIS *et al.*, 1979; BERTRAND, 1980). Ils sont des éléments importants de l'arôme des vins blancs, en leur conférant des odeurs florales et / ou fruitées; leur disparition au cours de la conservation est un facteur de perte d'arôme.

- une diminution de la teneur en acides gras.

Les acides gras de C6 à C12 ont des odeurs plus neutres que les acides butyriques et isobutyriques; à concentrations élevées, ils s'opposent partiellement à l'hydrolyse des esters éthyliques correspondants (TORRES-ALLEGRE, 1982). Les seuils de perception de ces acides dans les vins sont très au-dessus des teneurs maximales trouvées dans ceux-ci. On peut conclure, au moins pour les vins blancs secs, que ceux qui sont de meilleure qualité ont les teneurs en acides gras en C6, C8 et C10 les plus élevées (TORRES-ALLEGRE, 1982).

- une diminution de la teneur en acétates d'alcools supérieurs.

Les acétates d'alcools supérieurs ont des odeurs agréables, florales ou fruitées; ils sont favorables à la qualité, leur hydrolyse entraîne une modification rapide des caractères des vins.

- une augmentation de la teneur en alcools supérieurs

Ce sont des produits secondaires de la fermentation alcoolique et ils ont pour origine le métabolisme azoté de la levure. Il est nécessaire d'avoir un bon équilibre en alcools supérieurs, une concentration trop élevée diminue la qualité et donne des vins grossiers, vulgaires avec renforcement du caractère végétal.

- une diminution de la teneur en terpénols.

Le géraniol, terpénol quantitativement le plus important, donne une odeur de rose et participe à l'arôme des vins de muscat et des cépages aromatiques. Le linalol a une odeur proche du muguet, du jasmin ou du coriandre, son seuil olfactif est bas (0,1 mg/l), il peut donc participer à l'arôme de tous les vins, même ceux qui proviennent de cépages à goût neutre (COR-DONNIER, 1973).

Donc une diminution de la teneur en terpénols dans les vins blancs par la présence résiduelle d'IBE, conduit à l'obtention de vins moins aromatiques et donc dans certains cas de moindre qualité.

Manuscrit reçu le 8 janvier 1992; accepté pour publication le 9 mars 1992.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERTRAND A., 1975. Recherche sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse. *Thèse de Doctorat d'Etat*, Université de Bordeaux II.
- BERTRAND A., 1980. Influence de la maturation de la vendange sur la teneur en substances volatiles des vins. *Connaissance Vigne Vin*, **14**, n°3, 203-205.
- BERTRAND A., 1981. Formation des substances volatiles au cours de la fermentation alcoolique. Incidence sur la qualité du vin. *Colloque Soc. Fr. Microbiologie*. Reims, 251-267
- BERTRAND A., 1968. Utilisation de la chromatographie en phase gazeuse pour le dosage des constituants volatils du vins. *Thèse Docteur en chimie*, Bordeaux.
- CORDONNIER R., 1973. Acide, esters volatils, substances volatiles et odoriférantes, terpènes-composés terpéniques. *Rev. Franc. Œnol.*, **50**, 15.
- DIMITRIADIS E. et WILLIAMS J., 1983. The development and use of a rapid analytical technique for estimation of free and potential volatile monoterpene flavorants of grapes. *Am. Enol. Vitic.*, **35**, n°2, 66-71.
- DU PLESSIS C.S., MARAIS J. et VAN ROOYEN P.C., 1979. Objective quality rating of pinotage wine. *Vitis*, **18**, 31-39.
- FOURNIER J., 1988. *Chimie des pesticides*. Ed. Lavoisier PARIS.
- GNAEGI F. et AERNY J., 1984. Influence des fongicides inhibiteurs de la biosynthèse des stéroïdes sur la fermentation alcoolique et la qualité du vin. *Bull. O.I.V.*, 646, 995-1005.
- GNAEGI F., AERNY J., BOLAY A. et CRETTEENAND J., 1983 Influence des traitements viticoles antifongiques sur la vinification et la qualité du vin. *Rev. Suisse Vitic., Arboric. Hortic.* **15**, n°4, : 243-250.
- MOULIN J.Ph., 1982. Influence de quelques produits phytosanitaires sur les fermentations. *Le Vigneron champenois*, **10**, 414-423.
- TORRES-ALEGRE V.M., 1982. Formation des acides gras et autres produits secondaires au cours de la vinification. Interprétation statistique des résultats. *Thèse de Doctorat Ingénieur*. Université de Bordeaux II.
- TROMP A. et MARAIS P.G., 1981. Triadiméfon, a systemic fungicide against *Uncinula necator* (Oidium) on wine grapes : diseases control residues and effect on fermentation and wine quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **2**, 25-28.