# INFLUENCE DE DIFFÉRENTS ACTIVATEURS DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE SUR LA COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS ET LA FERMENTESCIBILITÉ DES MOÛTS DE *VITIS VINIFERA* L. var. MUSCADELLE PROVENANT DE VIGNES ENHERBÉES

# INFLUENCE OF SOME ACTIVATORS OF ALCOHOLIC FERMENTATION ON AMINO ACIDS COMPOSITION AND FERMENTABILITY OF VITIS VINIFERA cv. MUSCADELLE MUSTS FROM PERMANENT GRASS COVERED PLOTS

Corine LARCHEVÊQUE * et [1], A. CASANOVA* et V. DUPUCH**

* Ecole Nationale d'Ingénieurs des Travaux Agricoles de Bordeaux,
Unité de Recherche Chimie Analytique, B.P. 201, 33175 Gradignan cedex (France)
** Chambre d'Agriculture de la Gironde, Service Vigne, 39 rue Michel Montaigne,
33290 Blanquefort (France)

**Résumé** : L'enherbement permanent des vignes entraîne une augmentation de la durée de la fermentation alcoolique des moûts, fortement corrélée à un appauvrissement en composés azotés, et plus particulièrement en acides aminés. Différentes formules de complémentation, riches en acides aminés, sont testées sur des moûts provenant de parcelles enherbées en vue d'améliorer leur fermentescibilité. Le cépage est la Muscadelle greffée sur le porte-greffe 3309 C. La cinétique de fermentation des diverses modalités, sur deux millésimes, permet d'apprécier l'efficacité des différentes formulations en terme de durée. Parmi ces activateurs, certains sont connus, d'autres ne sont pas autorisés par la législation et n'ont jamais été étudiés : le but est d'en évaluer les effets sur la nature et la teneur des principaux acides aminés des moûts, composés indispensables à leur bonne fermentescibilité. Certaines supplémentations réduisent de moitié la durée de la fermentation alcoolique par rapport à celle observée pour les moûts provenant de parcelles enherbées, d'autres permettent une fermentation qui ne nécessite qu'un jour de plus que celle des moûts témoins issus de vignes désherbées. Une étude statistique met en évidence les analogies et les différences de composition en acides aminés des moûts, en relation avec les cinétiques fermentaires. Certains acides aminés, par leur nature ou leur concentration, semblent être prépondérants dans le déroulement de la fermentation alcoolique.

**Abstract** : The duration of alcoholic fermentation was very different with the no-tillage trial must and the other grass-cover musts. The duration was found to be quite closely correlated to the content of nitrogen components in the must and more particularly to amino acids. Several supplementations were tested during the two experimental years. It should be noted that European legislation doesn't allow the use of some of them. The durations of alcoholic fermentation of musts with these added activators were shortened. Again, fermentation duration was quite closely correlated to the content of nitrogen components in the must and more particularly to amino acids. It is noteworthy that numerous kinds of amino acids were present. Some of them were very important either by virtue of their nature or their concentration levels. A statistical analysis showed some composition similarities between some musts, but there were composition differences which would explain their fermentation kinetics.

**Mots clés** : complémentation azotée, enherbement permanent, cinétiques de fermentation, acides aminés.

**Key words** : nitrogen supplementation, permanent grass cover, fermentation kinetics, amino acids.

1 : correspondance : c_larcheveque@hotmail.com



*J. Int. Sci. Vigne Vin*, 1999, **33**, n°4, 161-175
©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

## INTRODUCTION

Si l'enherbement permanent est une technique efficace pour limiter la vigueur de la vigne, le niveau de concurrence exercé par l'herbe peut affecter l'alimentation azotée de la plante (MAIGRE et MURISIER, 1991). Cela entraîne de profondes modifications de la composition azotée des moûts préjudiciables à leur fermentation alcoolique (MAIGRE *et al.*, 1995 ; DUPUCH, 1997 ; LARCHEVEQUE *et al.*, 1998a et 1998b).

L'expérimentation que nous avons conduite sur deux récoltes consécutives, a pour objectif de tester différentes supplémentations destinées à améliorer la cinétique fermentaire des moûts provenant de parcelles enherbées. Certaines sont connues et permises par la législation en vigueur, d'autres n'avaient pas encore été expérimentées. Cette étude a pour but d'étudier l'effet de ces supplémentations sur la composition en acides aminés des moûts et par conséquent sur le bon déroulement de la fermention alcoolique.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### I- DESCRIPTION DU DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL

La vigne étudiée, dans la région de Sainte-Foy-la-Grande près de Bordeaux, a déjà été décrite (LARCHEVEQUE *et al.*, 1998b). Le cépage est la Muscadelle greffée sur le porte-greffe 3309 C. L'enherbement permanent, à base de ray-grass anglais et de fétuque rouge, a été mis en place en 1991 sur tous les interlignes.

Le dispositif expérimental utilisé comprenait des parcelles témoins désherbées (T) et des parcelles enherbées (E) destinées à fournir les moûts sur lesquels différents activateurs de la fermentation alcoolique ont été testés.

Les différentes modalités étudiées sont désignées par les codes suivants :

- T : témoin,

- T1 : ajout de sulfate d'ammonium (20 g/hl) et de thiamine (50 mg/hl) au début de la fermentation alcoolique ; la comparaison entre T et T1 permettra d'évaluer l'effet de ce mélange sur le déroulement de la fermentation alcoolique d'un moût *a priori* bien pourvu en azote assimilable.

- E : pas d'activateur,

- E1 : ajout de sulfate d'ammonium (20 g/hl) et de thiamine (50 mg/hl) au début de la fermentation alcoolique ; afin de mettre en évidence l'effet de ces produits sur la cinétique fermentaire et de positionner la modalité E1 par rapport au témoin désherbé.

- E11 : ajout de sulfate d'ammonium (30 g/hl) et de thiamine (50 mg/hl) au début de la fermentation alcoolique,

- E12 : ajout de sulfate d'ammonium (20 g/hl) et de thiamine (50 mg/hl) au début de la fermentation alcoolique, couplé à une oxygénation du moût à une densité de 1060.

Le rôle d'une oxygénation pour une supplémentation identique (E12) et l'effet d'une dose plus élevée (E11) seront ainsi étudiés.

- E2 : ajout d'autolysat de levures (20 g/hl), destiné à améliorer la richesse en acides aminés,

- E3 : ajout de Fermaid E (40 g/hl) avant le levurage ; ce produit contient des levures inactives (source d'acides aminés, de protéines, de polysaccharides, de sels minéraux, de vitamines, d'acides nucléiques, de stérols, et d'acides gras à longue chaîne).

- E4 : ajouts de Vitaferment (15 g/hl) et de Bioactiv (30 g/hl) au levurage, de Granucel (30 g/hl) le lendemain. Une aération à la densité de 1050 et un deuxième ajout de Vitaferment (15 g/hl) sont réalisés, suivis d'une aération à une densité d'environ 1020.

Le Vitaferment est composé de sulfate d'ammonium et de thiamine, le Bioactiv de levures inertes, d'écorces de levures et de cellulose. Associés au Granucel (qui contient de la cellulose venant ainsi renforcer l'effet support du Bioactiv sur les levures) et à une aération (à la densité de 1050), il améliore la viabilité des levures. La seconde aération a pour but de favoriser la fin de la fermentation alcoolique, les levures transformant avec difficulté les derniers grammes de sucres, particulièrement dans le cas des moûts blancs qui proviennent de parcelles enherbées.

- E5 : ajout d'une formulation (1 000 g/hl) contenant 79 g de protéines pour 100 g de produit et riche en certains acides aminés (tableau I),

- E6 : ajout d'une formulation (1 000 g/hl) contenant 82 g de protéines pour 100 g de produit et dont la composition en acides aminés est différente de la précédente (tableau I).

Les formulations E5 et E6, non autorisées par la législation, ne sont pas d'origine levurienne. Elles permettent de vérifier l'importance des acides aminés sur le bon déroulement d'une fermentation.

Les codes sont précédés de la lettre « a » ou « b » selon qu'il s'agit des années 1995 ou 1996.


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

**TABLEAU I**
**Composition en acides aminés des formulations bE5 et bE6**
(en g d'acides aminés pour 100 g d'activateur)

**Table I - Amino acids composition of the bE5 and bE6 supplementations**
(amino acids percentage in 100 g of activator)

| Acides aminés | Formulation bE5 | Formulation bE6 |
|---|---|---|
| acide aspartique | 10,20 | 7,09 |
| acide glutamique | 8,80 | 10,91 |
| alanine | 3,95 | 5,70 |
| arginine | 3,95 | 5,53 |
| cystine | 1,50 | 0,70 |
| glycine | 3,95 | 8,04 |
| histidine | 1,75 | 1,60 |
| iso-leucine | 4,65 | 3,28 |
| leucine | 8,15 | 5,12 |
| lysine | 6,15 | 6,07 |
| méthionine | 1,90 | 2,17 |
| phénylalanine | 5,00 | 2,58 |
| proline | 4,10 | 4,43 |
| sérine | 4,40 | 3,65 |
| thréonine | 4,75 | 3,03 |
| tyrosine | 4,35 | 2,21 |
| tryptophane | 1,10 | 0,57 |
| valine | 5,55 | 3,77 |

**TABLEAU II**
**Durée de la fermentation alcoolique, teneur initiale en sucre (g/l) et différence avec le témoin désherbé**

**Table II - Duration of alcoholic fermentation, initial sugar content (g/l) and comparison with the no-tillage control**

| Modalités | Durée de la fermentation alcoolique (en jours) | Teneur initiale en sucre (en g/l) | Différence de teneur en sucre par rapport au témoin |
|---|---|---|---|
| aT | 16 | 172 | - |
| aT1 | 14 | 172 | - |
| aE | 50 | 199,5 | +27,5 g/l |
| aE1 | 23 | 199,5 | +27,5 g/l |
| aE2 | 43 | 199,5 | +27,5 g/l |
| aE3 | 32 | 199,5 | +27,5 g/l |
| aE4 | 29 | 197 | +25,0 g/l |
| bT | 11 | 164,5 | - |
| bE | 20 | 192,0 | +27,5 g/l |
| bE1 | 16 | 189,5 | +25,0 g/l |
| bE11 | 19 | 192,0 | +27,5 g/l |
| bE12 | 18 | 189,5 | +25,0 g/l |
| bE3 | 17 | 189,5 | +25,0 g/l |
| bE5 | 15 | 192,0 | +27,5 g/l |
| bE6 | 12 | 189,5 | +25,0 g/l |

Les modalités étudiées sont :

- en 1995 : aT, aT1, aE, aE1, aE2, aE3 et aE4.

- en 1996 : bT, bE, bE1, bE11, bE12, bE3, bE5 et bE6.

II- DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE DE VINIFICATION

Exceptées les particularités mentionnées précédemment, la vinification est conduite de manière identique à celle déjà décrite par LARCHEVEQUE *et al.* (1998b).

III- ANALYSES DES MOÛTS ET DES VINS

L'acidité totale est déterminée sur les moûts des parcelles T et E. Le dosage de l'azote ammoniacal est effectué par la méthode de Kjeldahl ; celui des acides aminés par C.L.H.P., après dérivation au FMOC (9-fluorénylméthyl chloroformate) selon la méthode de CUNICO *et al.* (1985) adaptée aux échantillons de moûts et de vins.

## RÉSULTATS - DISCUSSION

L'effet de l'enherbement s'est traduit non seulement par un état sanitaire meilleur : absence de pourriture grise (LARCHEVEQUE *et al.*, 1998b), mais aussi par une nette diminution des rendements (2,5 kg de raisin par souche en moyenne contre 4,4 kg pour les souches désherbées) et par une diminution de l'acidité totale (exprimée en g/l $H_2SO_4$) : 4,5 contre 5,2 g/l pour la parcelle désherbée en 1995 et 4,7 contre 5,7 g/l en 1996.

I- INFLUENCE DE L'ENHERBEMENT SUR LES CINÉTIQUES DE FERMENTATION DES MOÛTS

1) Durée des fermentations alcooliques

Les moûts provenant des parcelles E ont des teneurs en sucre nettement plus élevées que celle du témoin désherbé quelle que soit l'année (tableau II), ce qui est en accord avec les résultats obtenus par MAIGRE et MURISIER (1991). Les différences sont du même ordre de grandeur pour les deux années (tableau II).

Si les durées de fermentation des moûts aT et bT sont nettement écourtées par rapport à celles des moûts aE et bE (écart de 34 jours en 1995 et de 9 jours en 1996), on note que les fermentations des moûts issus des parcelles E sont extrêmement lentes en 1995 (tableau II).

Parmi les différents activateurs de croissance utilisés en 1995, seuls le sulfate d'ammonium et la thiamine (aE1) ont permis de réduire de moitié la durée de


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

la fermentation par rapport à aE. Le même ajout à un moût correctement pourvu en azote (aT1) diminue de 2 jours la durée de fermentation (comparée à aT). L'addition d'autolysat de levures (aE2) n'est pas vraiment efficace : 7 jours de moins seulement que pour le moût aE. Les moûts ayant reçu une supplémentation de Fermaid E ou de Vitaferment et Bioactiv présentent des durées de fermentation respectivement plus courtes de 18 jours (aE3) et de 21 jours (aE4) par rapport à aE. Ces résultats sont en accord avec ceux de TRIOLI et DULAU (1995) qui font état d'une réduction de la durée de fermentation de l'ordre de 30 p. cent des moûts additionnés de 20 g/hl de Fermaid E.

En 1996, la durée de fermentation la plus courte est obtenue pour le moût bE6, (un jour de plus que le témoin désherbé). Viennent ensuite les moûts bE5 et bE1 dont les durées de fermentation sont respectivement de 15 et 16 jours. Les ajouts de Fermaid E, de sulfate d'ammonium à 30 g/hl ou à 20 g/hl couplé à une oxygénation ont un effet moins marqué. L'augmentation de 10 g/hl en sulfate d'ammonium et l'oxygénation réalisée à une densité de 1060 n'écourtent pas la durée de fermentation.

2) Teneur en sucre des moûts après 5 jours de fermentation alcoolique

En 1995, l'activité fermentaire des moûts provenant des parcelles enherbées (avec ou sans supplémentation azotée) est considérablement ralentie. Si la teneur initiale en sucre de aE est supérieure de 27,5 g/l à celle de la modalité désherbée après 5 jours de fermentation alcoolique, seulement 40 g/l de sucre ont été consommés par les levures, soit une diminution de 52,5 g/l par rapport au témoin (tableau III et figure 1).

Le rendement de la transformation du sucre en alcool est amélioré par le Fermaid E (33,8 p. cent) et par l'ajout de 20 g de sulfate d'ammonium et de thiamine (32,6 p. cent) (tableau III et figure 1). Le sulfate d'ammonium et la thiamine ajoutés au moût témoin

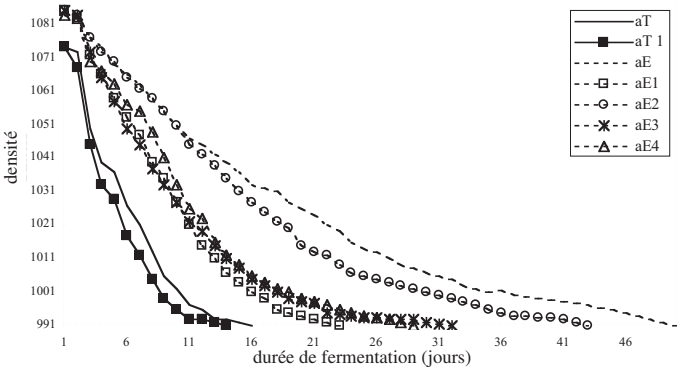



**Fig. 1- Courbes de fermentation des modalités désherbées et enherbées (avec ou sans ajoût d'activateur) pour le millésime 1995**

**Fig.1- Fermentation curves of the no-tillage musts and the grass covered trials (with ou without activator) - vintage 1995)**

**TABLEAU III**
**Différences entre les modalités après 5 jours de fermentation**

| modalités | densité initiale | densité après 5 jours | quantité de sucre restante après 5 jours (en g/l)* | quantité de sucre transformée par les levures après 5 jours | | degré alcoolique du milieu après 5 jours** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | en g/l | en % | |
| aT | 1074 | 1037 | 79,5 | 92,5 | 53,8 | 5,29 |
| aT1 | 1074 | 1029 | 59,5 | 112,5 | 65,4 | 6,43 |
| aE | 1085 | 1069 | 159,5 | 40,0 | 20,0 | 2,29 |
| aE1 | 1085 | 1059 | 134,5 | 65,0 | 32,6 | 3,71 |
| aE2 | 1085 | 1070 | 162,0 | 37,5 | 18,8 | 2,14 |
| aE3 | 1085 | 1058 | 132,0 | 67,5 | 33,8 | 3,86 |
| aE4 | 1084 | 1063 | 144,5 | 52,5 | 26,7 | 3,00 |
| bT | 1071 | 1021 | 39,5 | 125,0 | 76,0 | 7,14 |
| bE | 1082 | 1050 | 112,0 | 80,0 | 41,7 | 4,57 |
| bE1 | 1081 | 1042 | 92,0 | 97,5 | 51,5 | 5,57 |
| bE11 | 1082 | 1044 | 97,0 | 95,0 | 49,5 | 5,43 |
| bE12 | 1081 | 1044 | 97,0 | 92,5 | 48,8 | 5,20 |
| bE3 | 1081 | 1039 | 84,5 | 105,0 | 55,4 | 6,00 |
| bE5 | 1082 | 1044 | 97,0 | 95,0 | 49,5 | 5,43 |
| bE6 | 1081 | 1017 | 29,5 | 160,0 | 84,4 | 9,14 |

(*) : Quantité de sucre restante après 5 jours = 2,5 x d20 (après 5 jours) - 2513
(**) : Degré alcoolique après 5 jours = Quantité de sucre transformée après 5 jours / 17,5


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

(aT1) permettent d'obtenir le meilleur rendement (figure 1). TRIOLI et DULAU (1995) constatent une diminution du temps de latence lorsqu'il y a addition de Fermaid E de façon préventive. La thiamine couplée à une augmentation de l'azote assimilable (due à la présence d'azote ammoniacal et d'acides aminés) permet, selon ces auteurs, une amélioration de la cinétique fermentaire. L'effet positif de la thiamine sur la cinétique fermentaire a été également souligné par BATAILLON *et al.* (1995) et SABLAYROLLES (1995). L'efficacité du sulfate d'ammonium (ou du phosphate d'ammonium selon les cas) semblerait améliorée lorsque l'apport est effectué à la fin de la croissance cellulaire et jusqu'à la mi-fermentation (BELY *et al.*, 1991 ; SABLAYROLLES, 1995 ; FUGELSANG et MULLER, 1995). LORENZINI (1996) note que

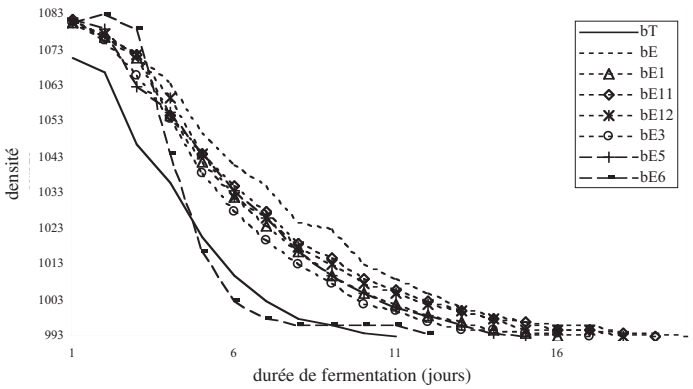



**Fig. 2 - Courbes de fermentation des modalités désherbées et enherbées (avec ou sans ajoût d'activateur) pour le millésime 1996**

**Fig. 2 - Fermentation curves of the no-tillage standard and the grass covered trials (with ou without activator) - vintage 1996)**

**TABLEAU IV**
**Teneurs en azote ammoniacal (mg/l) des moûts des deux années**

**Table IV - Ammoniacal nitrogen contents (mg/l) of musts (1995 and 1996)**

| modalités | azote ammoniacal (mg/l) |
|---|---|
| aT | 45,5 |
| aT1 | 52,4 |
| aE | 8,7 |
| aE1 | 10,4 |
| aE2 | 12,2 |
| aE3 | 9,2 |
| aE4 | 11,3 |
| bT | 144,2 |
| bE | 54,3 |
| bE1 | 48,7 |
| bE3 | 106,4 |
| bE5 | 63,3 |
| bE6 | 114,8 |

l'adjonction de phosphate d'ammonium avant ou en cours de fermentation donne les mêmes résultats, bien que les critères d'efficacité fermentaire et d'énergie requise pour la régulation des températures semblent placer le meilleur moment pour une correction azotée entre le tiers et la moitié de la fermentation. MONTEIRO et BISSON (1991a) notent un faible effet stimulant du sulfate d'ammonium sur la vitesse et la durée de la fermentation d'un moût de Chenin blanc (surtout avec des jus de pH inférieur à 3).

L'addition d'autolysat de levure est la moins efficace.

En 1996, le rendement de transformation du sucre en alcool pour le moût bT, après 5 jours de fermentation, est nettement supérieur à celui de bE : 76,0 p. cent contre 41,7 p. cent, la différence de teneur initiale en sucre étant du même ordre qu'en 1995 (tableau III et figure 2). L'ajout de sulfate d'ammonium et de thiamine augmente le rendement par rapport à bE dans les mêmes proportions qu'en 1995. En majorant de 10 g/hl le sulfate d'ammonium (bE11), on ne constate pas d'amélioration. Pour LORENZINI (1996), des ajouts trop importants peuvent conduire les levures à former de l'arginine, précurseur avec l'urée, du carbamate d'éthyle (KUNKEE, 1991 ; MONTEIRO et BISSON, 1992).

L'oxygénation à une densité de 1060 couplée à l'ajout de cet activateur (bE12) ne s'avère pas performante (figure 2). Le besoin en oxygène et en lipides apparaît tôt dans la fermentation pour une bonne viabilité des levures et une fermentation non perturbée (TRAVERSO-RUEDA et KUNKEE, 1982). INGLEDEW et KUNKEE (1985) notent qu'un nombre de cellules élevé est atteint plus tôt sous atmosphère d'air et en présence d'extrait de levures. Ces auteurs remarquent également que l'addition d'azote assimilable par les levures et d'air en excès rend les fermentations très rapides. Pour SABLAYROLLES (1995), le moment de l'oxygénation est très important : globalement, il est plus profitable d'effectuer les apports à la fin de la croissance cellulaire, jusqu'à la mi-fermentation. FEUILLAT et GUERREAU (1996) insistent sur le double effet stimulant des activateurs d'origine levurienne vis-à-vis de la croissance des levures : d'une part, une supplémentation du milieu en azote assimilable, en polysaccharides et en acides gras à longue chaîne ($C_{16}$-$C_{18}$), d'autre part, une détoxication pour les préparations qui comportent une fraction soluble (cellules inertes, cellulose). Leur apport au milieu en polysaccharides et en acides gras est comparable à celui des bourbes fines (FEUILLAT, 1996). L'apport de Fermaid E est aussi efficace qu'en 1995 (tableau III et figure 2).


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

**TABLEAU V**
**Évolution des teneurs globales en acides aminés (mg/l) des moûts et des vins de 1995**

**Table V - Evolution of total amino acids contents (mg/l) of musts and wines (1995)**

| | aT | aT1 | aE | aE1 | aE2 | aE3 | aE4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| moûts | 0,746 | 0,560 | 0,321 | 0,388 | 0,449 | 0,340 | 0,350 |
| vins | 0,298 | 0,388 | 0,083 | 0,100 | 0,033 | 0,219 | 0,034 |

**TABLEAU VI**
**Évolution des teneurs globales en acides aminés (mg/l) des moûts et des vins de 1996**

**Table VI - Evolution of total amino acids contents (mg/l) of musts and wines (1996)**

| | bT | bE | bE1 | bE11 | bE12 | bE3 | bE5 | bE6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| moûts | 1419,49 | 757,54 | 817,60 | 563,54 | 781,21 | 1075,13 | 899,12 | 2743,20 |
| vins | 553,91 | 244,05 | 274,91 | 273,89 | 223,45 | 184,03 | 33,99 | 623,66 |

La quantité de sucre consommée après 5 jours pour la formulation bE5 est identique à celle de bE11, et légèrement inférieure à celles de bE1 et de bE3. Néanmoins, en terme de durée totale de fermentation alcoolique, cette supplémentation est encore plus efficace que bE1 et bE3. La formulation bE6 est la plus performante : la quantité de sucre transformée par les levures après 5 jours est la plus élevée (84,4 p. cent), dépassant même celle du témoin bT. La durée de fermentation de ce moût n'est que de 1 jour supérieure à celle du témoin désherbé (figure 2).

## II- INFLUENCE DE L'ENHERBEMENT ET DE DIFFÉRENTS ACTIVATEURS SUR LA COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS DES MOÛTS

Comme il a déjà été signalé (MAIGRE *et al.*, 1995 ; LARCHEVEQUE *et al.*, 1998a et 1998b), l'influence de l'enherbement sur la teneur en composés azotés des moûts est très marquée. La teneur en azote ammoniacal est très faible pour la modalité enherbée, en particulier en 1995, où la concentration nettement inférieure à 25 mg/l laisse présager une fermentation plutôt lente (tableau IV). Les activateurs ajoutés aux moûts des modalités enherbées n'augmentent pas suffisamment la concentration en azote ammoniacal. La valeur admise de 25 mg/l est loin d'être atteinte. En 1996, avec 54,3 mg/l d'azote ammoniacal, le moût bE a la teneur la plus faible. Les teneurs pour les modalités bE3, bE5 et bE6 augmentent de manière conséquente, sans pour autant atteindre la valeur de la modalité bT.

### 1) Influence sur les teneurs globales en acides aminés

Les moûts de 1996 ont des teneurs en acides aminés environ 1 000 fois supérieures à celles des moûts de 1995 (tableaux V et VI). Le moût de la modalité désherbée présente une teneur en acides aminés environ deux fois supérieure à celle de la modalité enherbée pour les deux années (tableaux V et VI). En 1995, aucune supplémentation ne permet d'atteindre la teneur globale en acides aminés du moût aT. Il en est de même en 1996, excepté le moût bE6 dont la teneur est quasiment le double de celle de bT.

### 2) Influence sur les différents acides aminés

En 1995, la diversité en acides aminés des moûts est plus grande qu'en 1996 (tableaux VII et VIII). Certains acides aminés présents en 1995 n'ont pas été mis en évidence en 1996 : citrulline, ornithine, hydroxyproline (sauf pour les modalités bE3 et bE6), histidine (sauf pour les modalités bE5 et bE6), auxquelles viennent s'ajouter la taurine, la glycine, la valine, la phénylalanine, l'iso-leucine et la lysine (excepté pour la modalité bE6). Le moût bE6 se distingue par sa grande diversité en acides aminés.

Les concentrations globales en acides aminés sont plus élevées en 1996, toutefois les acides aminés majoritaires sont quasi-identiques. La proline est l'un des acides aminés dominants pour les deux années. On peut noter qu'en 1995, elle occupe le premier rang pour la plupart des modalités, sauf pour aT (18,9 p. cent, 2$^{e}$ rang après la taurine) et aE2 (17,6 p. cent, 2$^{e}$ rang après l'ornithine). En 1996, sa teneur très variable, de 6 p. cent (bE6) à 22 p. cent (bE12) la place parmi les 4 principaux acides aminés de chaque modalité.

En 1995, les autres acides aminés majoritaires sont : l'alanine (de 9,1 à 12,6 p. cent), l'asparagine et la glutamine (de 8,6 à 15 p. cent sauf pour la modalité aT1 qui en contient 4,6 p. cent), l'acide aspartique (de 7 à 10,6 p. cent) et la citrulline (de 7,6 à 17 p. cent). La taurine est présente à des teneurs de 19,2 p. cent et 18,4 p. cent dans les moûts aT et aT1, l'ornithine représente 7,5 p. cent du total des acides aminés du moût aE et 20,3 p. cent de celui du moût aE2. L'arginine, absente des moûts aT et aT1, se trouve à des concentrations


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

comprises entre 8,6 p. cent et 12,5 p. cent dans les moûts aE, aE1 et aE4, les moûts aE2 et aE3 n'en contenant que 6 p. cent.

En 1996, trois acides aminés (arginine, alanine et proline) occupent les premières places dans quasiment toutes les modalités. Ils ont été signalés par de nombreux auteurs comme acides aminés dominants (LAFON-LAFOURCADE et PEYNAUD, 1959 ; KLIEWER, 1969 ; CANTAGREL *et al.*, 1982 ; MIELE, 1986) auxquels viennent s'ajouter l'asparagine/glutamine, l'acide aspartique (HUANG et OUGH, 1991 ; LARCHEVEQUE *et al.*, 1998b). L'arginine est l'acide aminé dominant du moût bT (39,6 p. cent), sa teneur, comprise entre 15,5 et 24 p. cent pour les autres moûts, la place au deuxième ou troisième rang, excepté pour le moût bE6 (7,5 p. cent). L'addition de sulfate d'ammonium et de thiamine fait apparaître l'alanine comme acide aminé dominant (24 p. cent). Les moûts bE3 et bE5 en contiennent 17 p. cent et 19,8 p. cent.

En outre, les moûts bE3, bE5 et bE6 contiennent d'autres acides aminés en quantité relativement importante : la tyrosine (25,2 p. cent) pour bE3, l'histidine (13,4 p. cent) pour bE5, l'hydroxy-lysine (9,9 p. cent) pour bE6, et surtout la phospho-sérine (14,1 p. cent pour la modalité bE5 et 46,7 p. cent pour bE6). L'acide aspartique est présent dans tous les moûts à des teneurs n'excédant pas 6,8 p. cent. De même, l'asparagine/glutamine ne dépasse pas 3,8 p. cent, alors qu'en 1995, ces trois acides aminés étaient présents à des concentrations plus élevées.

## III- INFLUENCE DE L'ENHERBEMENT ET DE DIFFÉRENTS ACTIVATEURS SUR LA COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS DES VINS

### 1) Influence sur les teneurs globales en acides aminés

Comme pour les moûts, une plus grande richesse en acides aminés des vins est observée en 1996 (tableaux V et VI).

La teneur en acides aminés dans la modalité bE est réduite de moitié par rapport à celle de bT, sans pour autant être la plus faible. Les modalités bE3 et bE5, avec des teneurs en acides aminés nettement plus faibles que celle de bE, présentent une amélioration de leurs cinétiques fermentaires. Il semblerait que les activateurs aient été mieux utilisés par les levures.

La quantité d'acides aminés consommée par les levures lors de la transformation du moût en vin en 1996, de 865,58 mg/l pour bT, n'est plus que de 513,49 mg/l pour bE. Seuls bE3 (891,10 mg/l), bE5 (865,13 mg/l) et bE6 (2119,54 mg/l) ont des consommations supérieures ou égales à celle de bT. Pour bE1 et bE12, les consommations d'acides aminés sont du même ordre de grandeur que celle de bE, tandis que pour bE11, la diminution d'acides aminés est nettement moins importante (289,65 mg/l). Ces résultats comparés aux durées de fermentation alcoolique sembleraient indiquer que les levures puisent spécifiquement certains nutriments de l'activateur, tandis que d'autres constituants ne sont pas utilisés. Ainsi, certaines modalités, dont la quantité d'acides aminés consommée est similaire, présentent des cinétiques fermentaires très différentes : bE et bE1, bT et bE5.

A une faible teneur en azote ammoniacal du moût correspond une teneur globale en acides aminés relativement faible, conduisant à des durées de fermentation plus longues. Ce phénomène, déjà constaté par INGLEDEW et KUNKEE (1985), BELY *et al.* (1991), MONTEIRO et BISSON (1991 et 1992), SPAYD *et al.* (1995), LARCHEVEQUE *et al.* (1998b), se remarque davantage en 1995.

Si une certaine quantité d'acides aminés est nécessaire pour une durée de fermentation normale, la diversité et la spécificité de ces derniers paraissent être un facteur important. La comparaison des modalités bE3, bE5 et bE6 met en évidence le rôle primordial des acides aminés dans la fermentescibilité d'un moût : les moûts bE5 et bE6, enrichis en acides aminés, présentent une cinétique fermentaire plus rapide que bE3, bien que les teneurs en azote ammoniacal soient nettement plus élevées pour bE6 et bE3 (tableau IV).

### 2) Influence sur les différents acides aminés

Pour les vins de 1995, la proline est l'acide aminé dominant des modalités aT (54 p. cent) et aT1 (38 p. cent) (tableaux VII et VIII). Elle est également présente en concentration élevée dans les vins aE3 (18,7 p. cent, 1$^{er}$ rang) et aE4 (17,6 p. cent, 2$^{e}$ rang). Tandis que les vins aE et aE1 ont la taurine comme acide aminé majoritaire (22,9 et 17 p. cent). Cet acide aminé est également présent en teneur élevée dans le vin aE2 (15,15 p. cent) mais le premier rang est occupé par l'acide aspartique (18 p. cent), présent dans les autres vins à des teneurs comprises entre 7 et 10 p. cent, excepté le vin aE4 qui n'en contient pas. Les teneurs en phospho-sérine sont très élevées pour les vins aE2 (57,6 p. cent) et aE4 (82,3 p. cent), et de l'ordre de 9 p. cent et 17 p. cent pour les autres vins issus de parcelles enherbées. Les vins issus de parcelles désherbées en sont dépourvus. Le vin aE3 contient 16 p. cent de lysine alors que cet acide aminé est absent dans les autres vins.

En 1996, la proline se trouve dans tous les vins excepté dans la modalité bE5 caractérisée par la présence de deux acides aminés : la phospho-sérine


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

**TABLEAU VII**
**Teneurs en acides aminés (%) des moûts et des vins de 1995**

**Table VII - Amino acids contents (%) of musts and wines (1995)**

| | Moûts | | | | | | | Vins | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | aT | aT1 | aE | aE1 | aE2 | aE3 | aE4 | aT | aT1 | aE | aE1 | aE2 | aE3 | aE4 |
| PSER | 2,41 | 1,96 | | | | | | | | 14,46 | 9,00 | 57,58 | 17,35 | 82,35 |
| PTHR | | | | | | | | | | | | | | |
| Ac.CYS | | | | | | | | | 1,80 | | 7,00 | | | |
| TAU | 19,17 | 18,39 | 4,98 | 4,12 | 2,00 | 3,82 | 3,71 | 1,68 | 9,28 | 22,89 | 17,00 | 15,15 | 4,11 | |
| ARG | | | 12,46 | 9,28 | 6,46 | 5,88 | 8,57 | | | | | | | |
| ASN/GLN | 10,99 | 4,64 | 8,72 | 14,95 | 9,13 | 10,88 | 8,57 | | 1,80 | | | | | |
| OH-PRO | 5,50 | 4,82 | 5,92 | 2,32 | 3,79 | 4,41 | 4,86 | 4,03 | 3,35 | 7,23 | 14,00 | | 2,74 | |
| SER | 4,02 | 4,29 | 4,98 | 4,12 | 3,12 | 5,59 | 5,71 | 4,36 | 3,61 | | | | 3,20 | |
| ASP | 7,77 | 7,50 | 9,97 | 7,73 | 7,13 | 10,59 | 9,14 | 9,40 | 7,22 | 9,64 | 10,00 | 18,18 | 6,85 | |
| GLU | 4,16 | 3,57 | 2,49 | 2,06 | 2,00 | 2,94 | 3,14 | 2,01 | 1,55 | | | | 3,20 | |
| THR | | | | | | | | | 1,80 | | | | | |
| GLY | 0,40 | 0,54 | | | 0,67 | | | 3,36 | 1,29 | 4,82 | | | 4,11 | |
| ALA | 9,52 | 11,61 | 11,84 | 10,05 | 9,13 | 11,76 | 12,57 | 2,35 | 1,80 | 6,02 | 5,00 | 9,09 | 1,83 | |
| PRO | 18,90 | 22,32 | 22,43 | 18,56 | 17,59 | 22,06 | 24,00 | 54,03 | 38,14 | | | | 18,72 | 17,65 |
| MET | | | | | | | | | | | | | | |
| VAL | 1,88 | 1,79 | 1,87 | | | 2,06 | | | | | | | | |
| PHE | 3,22 | 2,50 | | | 2,23 | | 2,57 | 4,36 | 3,87 | | 11,00 | | 4,11 | |
| ILEU | | | | | | | | | 4,38 | 7,23 | 9,00 | | | |
| LEU | | | | | | | | 5,03 | 2,58 | | | | 2,74 | |
| OH-LYS | | | | | | | | | 3,87 | 8,43 | 5,00 | | 4,11 | |
| ORN | 1,88 | 2,14 | 7,48 | 2,06 | 20,27 | 3,24 | 4,29 | 2,35 | 4,38 | 9,64 | 5,00 | | 2,28 | |
| HIS | 2,55 | 3,39 | 4,36 | 1,03 | 4,45 | | | 6,04 | 7,99 | 7,23 | 5,00 | | 8,68 | |
| LYS | | | 4,05 | 6,70 | | | | | | | | | 15,98 | |
| TYR | | | | | | | | | | | | | | |
| CITRU | 7,64 | 10,54 | 14,64 | 17,01 | 12,03 | 16,76 | 12,86 | 1,01 | 0,77 | 2,41 | 3,00 | | | |

(79,8 p. cent) et la sérine (20,2 p. cent). Le vin bE6 contient beaucoup moins de proline que celui des autres modalités (25 p. cent), mais il présente une diversité en acides aminés beaucoup plus grande. Viennent ensuite la phospho-sérine (20,2 p. cent) et l'hydroxylysine (11,8 p. cent). Les autres vins ont des teneurs en phospho-sérine comprises entre 10 p. cent (bT) et 23 p. cent (bE12).

La plupart des acides aminés (arginine, acide γ-aminobutyrique, tyrosine, valine, acide aspartique, acide glutamique, sérine, thréonine, alanine, tryptophane, phénylalanine, leucine, iso-leucine et glutamine) sont consommés rapidement par les levures et disparaissent bien avant la fin de la multiplication cellulaire (MONK *et al.*, 1986 ; HERRAIZ et OUGH, 1993).

L'alanine est consommée en grande partie lors de la transformation du moût en vin et ce, pour les deux millésimes. MONTEIRO et BISSON (1991a) précisent que l'ion ammonium, l'asparagine/glutamine, le glutamate, l'arginine, la sérine et l'alanine sont d'excellentes sources d'azote pour *Saccharomyces.*

Les autres acides aminés sont moins bien utilisés selon les souches de levures : l'acide γ-aminobutyrique est utilisé en dernier et de manière incomplète (MONTEIRO et BISSON, 1991b), la glycine et la méthionine sont peu ou pas consommées (HERRAIZ et OUGH, 1993), la lysine et l'histidine ne peuvent pas être utilisées par *Saccharomyces* comme seule source d'azote (MONTEIRO et BISSON, 1991a), la proline n'est pas consommée pendant la fermentation alcoolique mais une concentration plus faible en fin de fermentation peut trouver une explication dans la synthèse d'éthyl-ester de proline par réaction directe de la proline avec l'éthanol du milieu sans intervention de la levure (HERRAIZ et OUGH, 1993).

On observe, sur les modalités des deux années, une disparition complète ou quasi-complète de l'acide glutamique et de l'asparagine/glutamine. MONTEIRO et BISSON (1991a) notent que ces acides aminés avec


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

**TABLEAU VIII**
**Teneurs en acides aminés (%) des moûts et des vins de 1996**

**Table VIII - Amino acids contents (%) of musts and wines (1996)**

| | Moûts | | | | | | | | Vins | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | bT | bE | bE1 | bE11 | bE12 | bE3 | bE5 | bE6 | bT | bE | bE1 | bE11 | bE12 | bE3 | bE5 | bE6 |
| PSER | 7,84 | 14,86 | 7,42 | 6,42 | | | 14,12 | 46,68 | 10,22 | 19,42 | 17,22 | 14,91 | 23,11 | 20,63 | 79,82 | 20,22 |
| PTHR | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ac.CYS | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TAU | | | | | | | | 1,91 | | | | | | | | 6,92 |
| ARG | 39,66 | 23,07 | 22,97 | 19,18 | 24,12 | 15,76 | 15,50 | 7,48 | 4,47 | | | | | | | 5,62 |
| ASN/GLN | 3,21 | 3,78 | 1,55 | 1,91 | 3,24 | 2,33 | 3,85 | 0,61 | | | | | | | | 0,17 |
| OH-PRO | | | | | | 3,89 | | 1,45 | | | | | | | | 1,10 |
| SER | 5,28 | 9,36 | 5,68 | 9,91 | 7,31 | 5,76 | 6,00 | 3,30 | 2,93 | 10,77 | 5,46 | 5,97 | 3,55 | 4,74 | 20,18 | 1,64 |
| ASP | 4,44 | 6,81 | 6,16 | 6,58 | 6,68 | 4,48 | 5,81 | 1,89 | 3,00 | 3,80 | | 2,33 | | | | 1,04 |
| GLU | 6,78 | 10,56 | 10,38 | 10,27 | 11,55 | 7,52 | 9,18 | 2,90 | 4,54 | 7,73 | 3,14 | 4,03 | 4,34 | 4,86 | | 1,38 |
| THR | | | | | | | | | | | | | | | | |
| GLY | | | | | | | | 0,69 | 1,12 | 2,81 | 0,99 | 1,66 | | | | 0,97 |
| ALA | 8,96 | 10,82 | 24,01 | 24,23 | 25,11 | 19,82 | 17,25 | 5,95 | 2,77 | 4,74 | 3,90 | | | | | 3,97 |
| PRO | 13,97 | 20,72 | 21,83 | 21,49 | 21,99 | 15,21 | 14,86 | 6,01 | 55,64 | 28,94 | 48,60 | 53,97 | 53,69 | 65,63 | | 25,14 |
| MET | | | | | | | | | | | | | | | | 1,35 |
| VAL | | | | | | | | 1,24 | 1,38 | | | | | | | 2,01 |
| PHE | | | | | | | | 2,19 | 4,37 | 3,54 | | 3,59 | | | | 5,26 |
| ILEU | | | | | | | | 1,01 | 1,73 | | | | | | | 1,63 |
| LEU | | | | | | | | 1,80 | 3,78 | | | | | | | 2,89 |
| OH-LYS | | | | | | | | 9,91 | | | | | | | | 11,80 |
| HIS | | | | | | | 13,42 | 3,16 | | 13,64 | 7,70 | 9,30 | | | | |
| LYS | | | | | | | | 1,81 | 4,05 | 4,61 | 3,36 | 4,25 | | 4,14 | | 5,39 |
| TYR | 9,85 | | | | | 25,22 | | | | | 9,63 | | 15,31 | | | 1,50 |

l'ion ammonium sont facilement transformés. Ces sources d'azote sont préférées à l'arginine et leurs teneurs varient, entre autre, avec le niveau d'arginine du moût (MONTEIRO et BISSON, 1991b). L'acide glutamique intervient dans la biosynthèse de la proline (BRYAN, 1976).

Sur toutes les modalités, on constate une diminution de la concentration en arginine qui est absente de tous les vins (excepté bT et bE6 qui en contiennent un peu moins de 5 mg/l). Parallèlement, sur les modalités aE2, aE3 et aE4, on observe une diminution de la concentration en ornithine lors de la transformation du moût en vin, alors qu'elle tend à augmenter très faiblement pour les modalités aT, aT1, aE et aE1. La dégradation de l'arginine par l'arginase peut produire à la fois de l'urée et de l'ornithine. La consommation conjointe d'arginine et d'ornithine pourrait trouver une explication dans la biosynthèse des polyamines, l'ornithine étant le précurseur. MONTEIRO et BISSON (1991 et 1992) signalent que le besoin en polyamines peut conduire à la dégradation d'arginine.

Certains acides aminés réapparaissent dans le milieu, vraisemblablement par relargage des cellules de levures, à des concentrations non corrélées à celles initialement présentes dans les moûts (MONTEIRO et BISSON, 1991b). Parmi ces derniers, la phosphosérine, la sérine et l'histidine voient leurs concentrations augmenter dans le vin pour certaines modalités.

## IV- MISE EN ÉVIDENCE DES ACIDES AMINÉS DISCRIMINANT LES MOÛTS ET LES VINS DES DIFFÉRENTES MODALITÉS PAR L'UTILISATION DE MÉTHODES STATISTIQUES

L'étude des distances euclidiennes des variables centrées réduites effectuée sur les moûts et les vins permet de comparer deux à deux les modalités et de repérer celles qui ont la composition en acides aminés la plus proche. L'analyse en composantes principales (ACP) met en évidence les différences de nature et de concentration en acides aminés.

1) Cas des moûts de 1995

Les moûts aE3 et aE4 sont les plus proches (tableau IX), suivis des moûts aT et aT1. Il y a des ana-


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

logies de composition en acides aminés entre le moût supplémenté en Fermaid et celui recevant l'ajout de Vitaferment et Bioactiv. La durée de fermentation alcoolique est écourtée de 3 jours pour aE4 par rapport à aE3.

Les distances euclidiennes les plus importantes sont (aT-aE2), (aT1-aE2), (aT1-aE1), (aT-aE) et (aT-aE1). Ainsi, l'enherbement ou le désherbage induit des différences qualitatives et quantitatives de la composition en acides aminés des moûts. Ces différences sont encore plus marquées par l'ajout de sulfate d'ammonium et de thiamine.

L'ACP réalisée sur les moûts de 1995 permet l'approche des différences de composition entre les modalités désherbées et enherbées (avec ou sans ajout de divers activateurs). Le plan principal de l'ACP (figure 3) montre l'opposition entre les individus désherbés et enherbés : les moûts aT et aT1 se distinguent nettement des autres sur l'axe 1 par leurs teneurs plus élevées en phénylalanine, phospho-sérine, et taurine, l'absence d'arginine et une faible concentration en citrulline par rapport aux modalités enherbées. Sur le même plan, on note une opposition sur l'axe 2 entre les individus aE1 et aE2 vis-à-vis de aE3, aE et aE4. Les variables qui expliquent une part de la différence

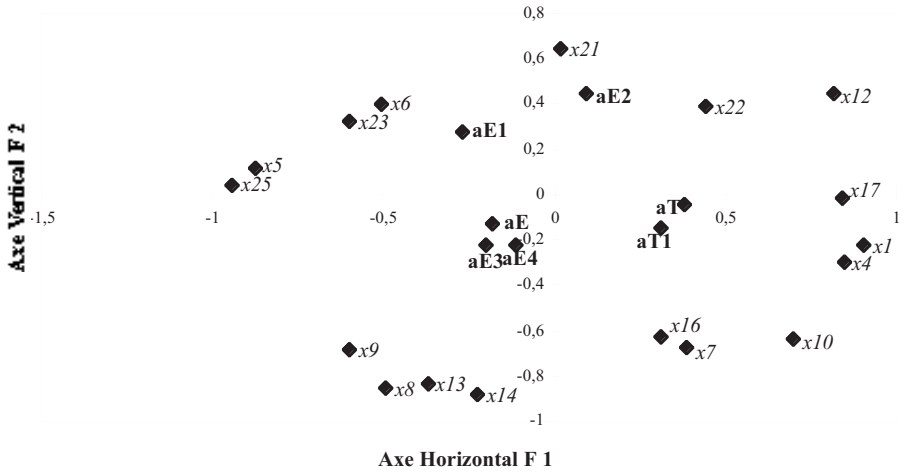



**Fig. 3 - Analyse en composantes principales réalisée sur les données des moûts de 1995**

x1 : phosphosérine ; x2 : phosphothréonine ; x3 : acide cystéique ; x4 : taurine ; x5 : arginine ; x6 : asparagine/glutamine ; x7 : hydroxy-proline ; x8 : sérine ; x9 : acide aspartique ; x10 : acide glutamique ; x11 : thréonine ; x12 : glycine ; x13 : alanine ;x14 : proline ; x15 : méthionine ; x16 : valine ; x17 : phénylalanine ; x18 : iso-leucine ; x19 : leucine ; x20 : hydroxy-lysine ; x21 : ornithine ; x22 : histidine ; x23 : lysine ; x24 : tyrosine ; x25 : citrulline.

**Fig. 3 - Principal component analysis on data of musts (1995)**

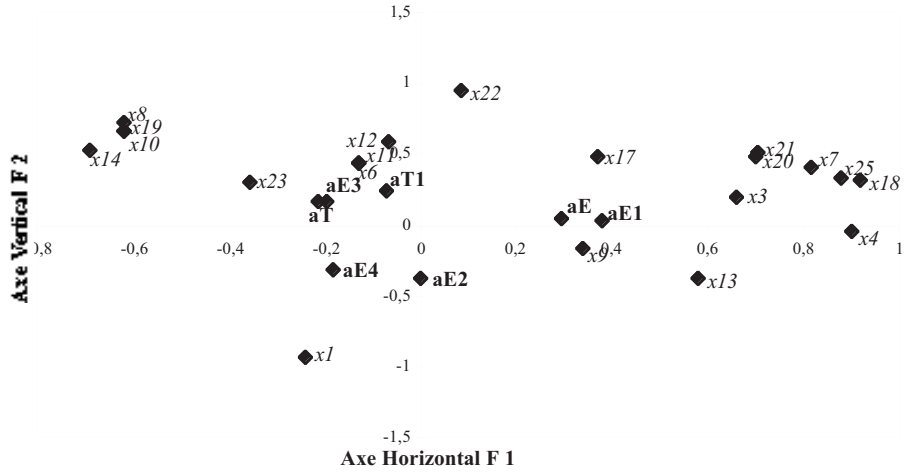



**Fig. 4 - Analyse en composantes principales réalisée sur les données des vins de 1995**

**Fig. 4 - Principal component analysis on data of wines (1995)**


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

de composition sont la sérine, l'alanine, la proline : aE1 et aE2 en sont moins bien pourvus que aE3. De plus, aE2 a une teneur en ornithine relativement élevée, tandis que aE1 est riche en lysine. Des plans secondaires de l'ACP montrent également une opposition entre aT1 et aT par rapport à aE1 et aE, expliquée par la forte teneur en phospho-sérine, taurine et des teneurs en acide glutamique et en glycine supérieures aux enherbés aE1 et aE.

2) Cas des vins de 1995

Les vins aE et aE1 sont les plus proches (tableau IX) suivis des vins aT et aT1, ce qui est à relier avec la faible différence de la durée de fermentation. Les vins les plus éloignés du point de vue de la composition en acides aminés sont aT et aE4 suivis de aT1 et aE4 : l'ajout de Vitaferment et de Bioactiv ne permet pas d'obtenir une composition comparable à celle du témoin désherbé.

Le plan principal de l'ACP (figure 4) confirme le rapprochement des vins aE et aE1, et met en évidence leur éloignement vis-à-vis des autres vins sur l'axe 1. Ces deux vins ont de fortes teneurs en taurine, hydroxy-proline, iso-leucine et citrulline, alors que les autres vins en contiennent peu ou pas du tout. Sur l'axe 2, les vins aE4 et aE2 se distinguent par une forte concentration en phospho-sérine et une absence d'histidine. Le témoin désherbé aT a une plus forte teneur en sérine, acide glutamique, leucine, une très forte teneur en proline et une faible concentration en alanine. Sur des plans complémentaires de l'ACP, le vin aT1 se distingue par

**TABLEAU IX**
**Comparaison des distances euclidiennes sur les données centrées réduites des moûts et des vins de 1995**

**Table IX - Comparison of euclidean distances on centred-reduced data of musts and wines (1995)**

| moûts | distance | vins | distance |
|---|---|---|---|
| aE3-aE4 | 46,57 | aE-aE1 | 346,51 |
| aT-aT1 | 67,83 | aT-aT1 | 378,76 |
| aE-aE4 | 81,43 | aT1-aE3 | 1006,39 |
| aE1-aE3 | 110,45 | aE-aE3 | 1190,89 |
| aE-aE3 | 110,61 | aE1-aE3 | 1241,60 |
| aE-aE1 | 143,25 | aE2-aE4 | 1568,12 |
| aE1-aE4 | 164,21 | aT-aE3 | 1850,80 |
| aE-aE2 | 287,88 | aT1-aE1 | 1872,00 |
| aT1-aE4 | 341,87 | aT1-aE | 2007,15 |
| aE2-aE4 | 350,32 | aE-aE2 | 2351,29 |
| aT1-aE3 | 359,67 | aE2-aE3 | 2693,61 |
| aE2-aE3 | 394,94 | aE1-aE2 | 2977,70 |
| aT-aE3 | 406,08 | aT-aE1 | 3612,35 |
| aT-aE4 | 409,10 | aT-aE | 3851,27 |
| aT1-aE | 433,78 | aE3-aE4 | 4715,48 |
| aE1-aE2 | 469,89 | aT1-aE2 | 5155,21 |
| aT-aE1 | 497,87 | aE-aE4 | 5924,21 |
| aT-aE | 504,55 | aE1-aE4 | 6637,07 |
| aT1-aE1 | 527,11 | aT-aE2 | 6676,00 |
| aT1-aE2 | 702,93 | aT1-aE4 | 7520,99 |
| aT-aE2 | 721,92 | aT-aE4 | 8340,06 |

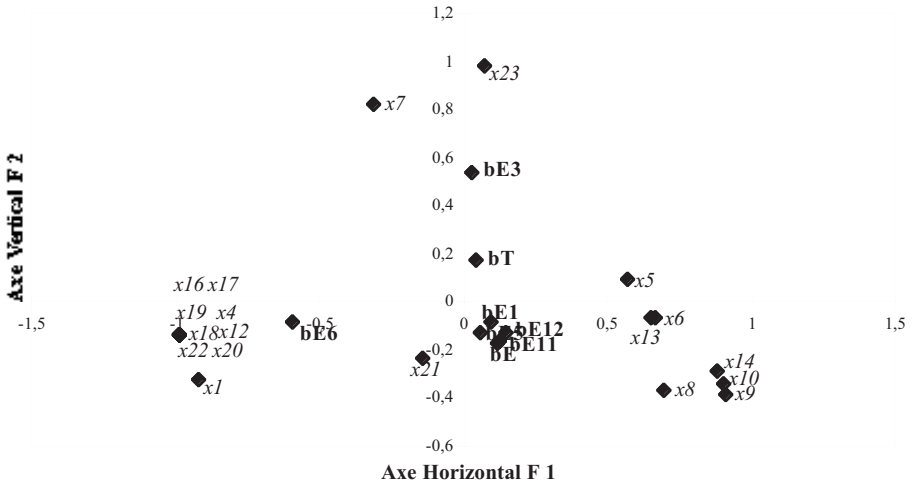



**Fig. 5 - Analyse en composantes principales réalisée sur les données des moûts de 1996**

x1 : phosphosérine; x2 : phosphothréonine; x3 : acide cystéique; x4 : taurine; x5 : arginine; x6 : asparagine/glutamine; x7 : hydroxy-proline; x8 : sérine; x9 : acide aspartique; x10 : acide glutamique; x11 : thréonine; x12 : glycine; x13 : alanine;x14 : proline; x15 : méthionine; x16 : valine; x17 : phénylalanine; x18 : iso-leucine; x19 : leucine; x20 : hydroxy-lysine; x21 : histidine; x22 : lysine; x23 : tyrosine.

**Fig. 5 - Principal component analysis on data of musts (1996)**


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

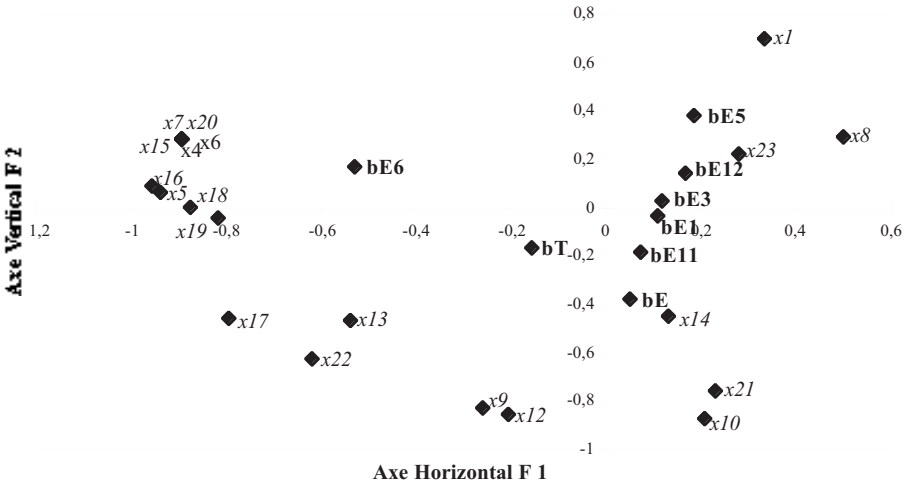



**Fig. 6 - Analyse en composantes principales réalisée sur les données des vins de 1996**

**Fig. 6 - Principal component analysis on data of wines (1996)**

une faible teneur en alanine (comme aT et aE3), mais surtout par la présence de thréonine et d'asparagine/glutamine alors que les autres vins n'en ont pas, et par une forte teneur en proline (comme aT). Le vin aE3 se différencie des autres vins issus de souches enherbées (avec ou sans ajout d'activateur) sur l'axe 2 et tend à présenter des analogies de composition avec les vins aT et aT1 : ils contiennent tous les trois de la sérine, de la leucine, de l'acide glutamique alors que les autres en sont dépourvus.

3) Cas des moûts de 1996

Les moûts les plus proches sont bE1 et bE11, suivis de bE1 et bE12, puis de bE11 et bE12 (tableau X). Ces remaniements très semblables dans la composition en acides aminés de ces trois moûts, induits par l'ajout de sulfate d'ammonium et de thiamine couplé ou non à une oxygénation, se traduisent par un écart de 3 jours maximum de la durée de fermentation alcoolique. A l'opposé, les moûts qui présentent des différences importantes de composition sont bE3 et bE6, suivis de bE12 et bE6. Cela peut s'expliquer par une distribution en acides aminés tout à fait différente selon la nature de l'apport. bE6 est le moût le plus performant, tandis que bE3 et bE12 n'ont que 1 jour de fermentation d'écart entre eux, tout en nécessitant 5 à 6 jours de plus que bE6. La distance euclidienne élevée entre bT et bE6 (dont les durées de fermentation sont équivalentes) pourrait s'expliquer par une cinétique semblable bien que les levures aient à leur disposition des acides aminés différents (en nature ou en concentration).

L'ACP conduite sur les moûts de 1996 permet de préciser les différences de composition en acides aminés des moûts bE12, bE3 et bE6 (figure 5). Le moût bE6 a de fortes teneurs en phospho-sérine, hydroxylysine et des teneurs inférieures à 5 p. cent en taurine, glycine, valine, phénylalanine, iso-leucine, leucine et lysine alors que les autres moûts en sont dépourvus. En revanche, il est plutôt pauvre en sérine, acide glutamique, acide aspartique et proline comparé à bE12 et bE3. Il en est de même pour bE1 et bE11, assez semblables à bE12. L'axe 2 permet de préciser les caractéristiques de bE3, riche en tyrosine, assez bien pourvu en hydroxy-proline mais pauvre en histidine. L'éloignement des modalités bE6 et bE12 apparaît sur les plans secondaires de l'ACP. Ils caractérisent en outre l'opposition entre bE5 et les moûts bE1, bE11 et bE12. La modalité bE5 est riche en histidine et contient plus d'asparagine/glutamine, alors que les trois moûts précédents contiennent de fortes teneurs d'alanine, de proline, et paraissent bien pourvus en acide glutamique et en acide aspartique. La comparaison de bE5 avec le moût témoin bT fait apparaître une plus grande richesse en arginine pour bT, tandis que bE5 est mieux pourvu en asparagine/glutamine, en alanine et en histidine.

4) Cas des vins de 1996

Les distances euclidiennes observées sur les vins de 1996 (tableau X) permettent de confirmer les résultats obtenus sur les moûts, à savoir une ressemblance de composition des modalités bE1 et bE11, bT et bE11, mais aussi bE1 et bE12. L'ajout de sulfate d'ammonium et de thiamine (avec ou sans oxygénation) ne change pas profondément la composition en acides aminés du vin comparé à celui du témoin désherbé. Il s'avère être un moyen efficace pour supplémenter le moût d'une parcelle enherbée. Les plus grandes distances euclidiennes sont observées pour la comparaison bT-bE5, puis bE3-bE5, et bE11-bE5. Les activateurs utilisés dans les modalités bE3 et bE5 permettent d'obtenir des durées de fermentation alcoolique écourtées par rapport au mélange « sulfate d'ammonium-thiamine


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

», certainement en relation avec une distribution différente en acides aminés.

Le plan principal de l'ACP (figure 6) montre une nette opposition sur l'axe 1 entre le vin bE6 et les vins bE, bE11 et bE5. La modalité bE6 est riche en 4 acides aminés : arginine, valine, iso-leucine et leucine comme le témoin bT, et contient en outre de la taurine, asparagine/glutamine, hydroxy-proline, méthionine et hydroxy-lysine alors que ces composés sont absents dans les autres vins. Ces observations mettent en évidence des analogies entre bT et bE6 dont les cinétiques fermentaires sont semblables. Sur ce même plan, bE5 se distingue par sa forte concentration en phosphosérine, et il est également bien pourvu en sérine. A l'opposé, sur l'axe 2, les vins bE et bE11 se caractérisent par des teneurs élevées en histidine, et plus particulièrement en acide glutamique, acide aspartique et glycine pour bE, alors que bE12 a des teneurs nulles ou beaucoup plus faibles en ces mêmes acides aminés. L'analyse des plans secondaires de l'ACP montre que les vins bE6 et bE1 sont en opposition, bT occupant une position intermédiaire. Si bE6 est caractérisé par des teneurs relativement élevées en taurine, asparagine/glutamine, hydroxy-proline, méthionine et hydroxy-lysine, bE1 en est dépourvu. En revanche, il contient de l'histidine et de la tyrosine. Le vin témoin se distingue des deux autres par sa richesse en arginine, iso-leucine et leucine. Il est plutôt pauvre en acides aminés qui caractérisent bE6 et en tyrosine.

La composition en acides aminés permet ainsi de discriminer les moûts et les vins provenant des parcelles T ou E et, pour ces derniers, de distinguer la nature de l'ajout. L'étude des modalités communes aux deux années montrent que les acides aminés qui permettent de les différencier entre elles ne sont pas les mêmes d'une année à l'autre. Il y a une nette influence du millésime, caractérisé par un ensemble d'acides aminés spécifiques communs aux différentes modalités, comme il a déjà été observé pour les moûts et les vins de Merlot (LARCHEVEQUE *et al.*, 1998a).

## CONCLUSION

Les différents activateurs de la fermentation alcoolique, riches en acides aminés, testés sur deux millésimes consécutifs, ont permis de vérifier l'importance de ces composés sur le déroulement de la fermentation alcoolique de moûts carencés en azote assimilable. En 1995, le sulfate d'ammonium et la thiamine (aE1) ont réduit de moitié la durée de la fermentation par rapport au moût issu de parcelle enherbée (aE). Ce même ajout à un moût correctement pourvu en azote (aT1) diminue de 2 jours la durée de fermentation comparé à aT. En 1996, seules les formulations bE5 et surtout bE6 ont permis de diminuer considérablement les durées de fermentation et d'égaler quasiment celle du témoin désherbé : bE6 n'a nécessité qu'un jour de plus que bT. Pour la modalité bE6, la quantité de sucre transformée par les levures après 5 jours de fermentation est supérieure à celle du témoin bT. Cette supplémentation est efficace dès le début de la fermentation alcoolique. Cette observation trouve une explication dans l'importance de la teneur globale en acides aminés du moût bE6 qui est deux fois supérieure à celle de bT. En outre, on note une grande diversité en acides aminés pour bE6 comparée à celle des autres moûts.

Si la plupart des acides aminés sont consommés par les levures, on observe une analogie pour l'utilisation de l'arginine par les modalités bT et bE6.

La composition en acides aminés permet une discrimination des moûts et des vins provenant de par-

**TABLEAU X**

**Comparaison des distances euclidiennes sur les données centrées réduites des moûts et des vins de 1996**

**Table X - Comparison of euclidean distances on centred-reduced data of musts and wines (1996)**

| moûts | distance | vins | distance |
|---|---|---|---|
| bE1-bE11 | 33,79 | bE1-bE11 | 165,20 |
| bE1-bE12 | 64,80 | bT-bE11 | 169,05 |
| bE11-bE12 | 76,87 | bE1-bE12 | 184,65 |
| bE-bE1 | 249,52 | bE11-bE3 | 278,50 |
| bE-bE11 | 270,70 | bT-bE3 | 287,65 |
| bE-bE5 | 327,88 | bT-bE1 | 327,99 |
| bE11-bE5 | 366,41 | bE12-bE3 | 401,72 |
| bE1-bE5 | 381,93 | bE11-bE12 | 433,05 |
| bE-bE12 | 433,23 | bE1-bE3 | 473,97 |
| bT-bE | 507,81 | bT-bE12 | 497,12 |
| bE12-bE5 | 574,80 | bE-bE6 | 578,91 |
| bT-bE1 | 683,01 | bE-bE1 | 600,98 |
| bT-bE12 | 757,17 | bE-bE11 | 728,29 |
| bE11-bE3 | 792,62 | bE1-bE6 | 971,82 |
| bE12-bE3 | 819,42 | bT-bE | 1102,59 |
| bE1-bE3 | 831,34 | bE-bE12 | 1188,82 |
| bT-bE11 | 848,47 | bE11-bE6 | 1232,14 |
| bT-bE5 | 978,67 | bT-bE6 | 1244,32 |
| bT-bE3 | 1004,80 | bE12-bE6 | 1337,72 |
| bE3-bE5 | 1044,47 | bE-bE3 | 1635,76 |
| bE-bE3 | 1066,59 | bE3-bE6 | 1947,08 |
| bE5-bE6 | 1627,05 | bE5-bE6 | 4843,24 |
| bE-bE6 | 1753,82 | bE-bE5 | 4898,51 |
| bE1-bE6 | 2566,73 | bE12-bE5 | 6628,38 |
| bE11-bE6 | 2581,53 | bE1-bE5 | 6685,79 |
| bT-bE6 | 2874,81 | bE11-bE5 | 7468,78 |
| bE12-bE6 | 3327,64 | bE3-bE5 | 8090,21 |
| bE3-bE6 | 3330,25 | bT-bE5 | 8349,93 |


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

celles désherbées ou enherbées, et pour ce dernier cas, une distinction liée à la nature de l'ajout est possible. L'étude statistique conduite sur les moûts et les vins des diverses modalités confirme que des remaniements dans la composition en acides aminés se produisent. La distribution des acides aminés diffère avec la nature de l'apport et les durées de la fermentation alcoolique en dépendent. En 1996, des remaniements semblables dans la composition en acides aminés des moûts bE1, bE11 et bE12, induits par des ajouts de sulfate d'ammonium et de thiamine, couplés ou non à une oxygénation, se traduisent par un écart de 3 jours maximum de la durée de fermentation alcoolique. Des différences importantes de composition avec le moût bE6 expliquent les 4 à 7 jours de fermentation supplémentaires.

Des formulations comparables du point de vue de la nature des acides aminés, utilisées à des concentrations différentes, induisent des comportements fermentaires différents. La teneur globale en acides aminés est un paramètre important, mais la présence de certains d'entre-eux à un seuil de concentration minimum est indispensable pour satisfaire les besoins nutritionnels des levures.

Remerciements : Nous adressons tous nos remerciements au Conseil Régional d'Aquitaine, à l'Office National Interprofessionnel des Vins et aux vignobles UNIVITIS.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BATAILLON M., SABLAYROLLES J.M., SALMON J.M. et BARRE P., 1995. Assimilation précoce de la thiamine par la levure en conditions œnologiques : conséquences sur le déroulement de la fermentation alcoolique. éd. Lavoisier, *Ve Symp. Int. Œnol.*, Bordeaux (France), 213-217.

BELY M., SABLAYROLLES J.M. et BARRE P., 1991. Automatic detection and correction of assimilable nitrogen deficiency during alcoholic fermentation under enological conditions. *In : The American Society for Enology and Viticulture,* ed. J.M. Rantz, Proc. Symp. on Nitrogen in grapes and wine, Seattle (USA), 211-214.

BRYAN J.K., 1976. Aminoacid biosynthesis and its regulation. *In: Plant biochemistry*, Bonner J. et Varner J.E. eds., 3.ed. New York, Academic Press, 525-560.

CANTAGREL R., SYMONDS P. et CARLES J., 1982. Composition en acides aminés du moût en fonction du cépage et de la technologie et son influence sur la qualité du vin. *Sci. Aliments*, **2**, 109-142.

CUNICO R.L., DUNSON P., MAYER A. et WEHR C.T., 1985. Automated amino acid analysis using precolumn derivatization with FMOC. *5 th Int. Symp. on HPLC of proteins, peptides and polynucleotides*, Nov 4-6, Toronto (Canada).

DUPUCH V., 1997. Entretien des sols viticoles et conséquences œnologiques. *Progr. Agric. Vitic.*, **114**, 152-156.

FEUILLAT M., 1996. Influence de la clarification des moûts sur la fermentescibilité des vins blancs. *Rev. Fr. Œnol.,* **159**, 35-38.

FEUILLAT M. et GUERREAU J., 1996. Les nouveaux activateurs de la fermentation alcoolique. *Bull. O.I.V.*, **789/790**, 988-998.

FUGELSANG K.C. et MULLER C.J., 1995. Dotazione azotata del mosto e pratiche di cantina. *Vignevini*, **4**, 42-44.

HERRAIZ T. et OUGH C.S., 1993. Formation of ethyl esters of amino acids by yeasts during the alcoholic fermentation of grape juice. *Am. J. Enol. Vitic.*, **44**, 41-48.

HUANG Z. et OUGH C.S., 1991. Amino acid profiles of commercial grape juices and wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **42**, 261-267.

INGLEDEW W.M. et KUNKEE R.E., 1985. Factors influencing sluggish fermentations of grape juice. *Am. J. Enol. Vitic.*, **36**, 65-76.

KLIEWER W.M., 1969. Free amino acids and other nitrogenous substances of table grape varieties. *J. Food Sci.*, **34**, 274-278.

KUNKEE R.E., 1991. Relationship between Nitrogen content of must and sluggish fermentation. In : The American Society for Enology and Viticulture, ed., J.M. Rantz, *Proc. Int. Symp. on Nitrogen in grapes and wine*. Seattle (USA), 148-155.

LAFON-LAFOURCADE S. et PEYNAUD E., 1959. Dosage microbiologique des acides aminés des moûts de raisin et des vins. *Vitis*, **2**, 45-66.

LARCHEVEQUE C., CASANOVA A., DUPUCH V. et RENARD R., 1998a. Influence de la fumure azotée sur une vigne de *Vitis vinifera* L. var. Merlot avec enherbement permanent (composition azotée, nature et teneur des acides aminés des moûts et des vins). *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **32**, n°1, 27-43.

LARCHEVEQUE C., CASANOVA A. et DUPUCH V., 1998b. Relation entre la fermentescibilité des moûts et la teneur en composés azotés. Influence d'une fumure azotée sur la nature et la concentration des principaux acides aminés des moûts d'une vigne de *Vitis vinifera* L. var. Muscadelle avec enherbement permanent. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **32**, n°3, 137-151.

LORENZINI F., 1996. Teneur en azote et fermentescibilité des moûts de Chasselas. *Rev. suisse Vitic., Arboric., Hortic.*, **28**, 169-174.

MAIGRE D. et MURISIER F., 1991. Bilan intermédiaire d'un essai d'entretien du sol en viticulture. *Rev. suisse Vitic., Arboric., Hortic.*, **23**, 343-349.


©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

MAIGRE D. et MURISIER F., 1992. Comparaison de techniques d'entretien des sols viticoles dans trois sites pédoclimatiques différents de Suisse romande. *Rev. suisse Vitic., Arboric., Hortic.*, **24**, 173-177.

MAIGRE D., AERNY J. et MURISIER F., 1995. Entretien des sols viticoles et qualité des vins de Chasselas : influence de l'enherbement permanent et de la fumure azotée. *Rev. suisse Vitic., Arboric., Hortic.*, **27**, 237-251.

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 d'Université*, Bordeaux II, 153 p.

MONK P.R., HOOK D. et FREEMAN B.M., 1986. Amino acid metabolism by yeasts. *In : Proc. 6th Australian wine industry technical conference*, 129-33.

MONTEIRO F.F. et BISSON L.F., 1991a. Biological assay of nitrogen content of grape juice and prediction of sluggish fermentations. *Am. J. Enol. Vitic.*, **42**, 47-57.

MONTEIRO F.F. et BISSON L.F., 1991b. Amino acid utilization and urea formation during vinification fermentations. *Am. J. Enol. Vitic.*, **42**, 199-208.

MONTEIRO F.F. et BISSON L.F., 1992. Nitrogen supplementation of grape juice. I- Effect on amino acid utilization during fermentation. *Am. J. Enol. Vitic.*, **43**, 1-10.

SABLAYROLLES J.M., 1995. I " mosti a rischio " : ruolo del azoto e dell' ossigeno. *Vignevini*, **4**, 49-51.

SPAYD S.E., NAGEL C.W. et EDWARDS C.G., 1995. Yeast growth in Riesling juice as affected by vineyard nitrogen fertilization. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 49-55.

TRAVERSO-RUEDA S. et KUNKEE R.E., 1982. The role of sterols on growth and fermentation of wine yeasts under vinification conditions. *Dev. Ind. Microbiol.*, **23**, 131-43.

TRIOLI G. et DULAU L., 1995. Fermaid E : effets sur la cinétique fermentaire et les caractéristiques du vin. *Rev. Fr. Œnol.*, **154**, 39-40.

Reçu le 15 septembre 1999
accepté pour publication le 15 novembre 1999

 ©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)