Connaissance Vigne Vin 1976, **10**, N° 1, 33-49.

LES NUCLEOTIDES DU VIN SEPARATION, CONCENTRATION ET ANALYSE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR ECHANGEUR D'ANIONS

M. FEUILLAT * et J.N. MORFAUX **
* Ecole Nationale d'Ingénieurs des Travaux Agricoles
Faculté des Sciences
51000 Reims (France)
** Institut National de la Recherche Agronomique
Station de Technologie Alimentaire
CERTIA, 369, rue Jules Guesde, Flers-Bourg 59650 Villeneuve-d'Ascq (France)

Travail effectué avec la collaboration technique de J. P. GENEST

INTRODUCTION

L'azote organique ne présente pas dans les vins une composition moyenne constante. La teneur varie :

— en quantité : d'un cépage à un autre, d'une année à l'autre, et selon le mode de vinification ;

— en qualité : les trois fractions principales de l'azote organique (acides aminés, peptides et protéines) peuvent être dans des rapports différents selon les conditions climatiques, culturales, etc...

L'azote aminé et l'azote protéique ont déjà fait l'objet de plusieurs études dans les moûts et les vins. On peut citer de façon non exhaustive : DUPUY et **al.** (1968), POUX et OURNAC (1970), FEUILLAT et BERGERET (1967, 1972, 1973), FEUILLAT (1974), POUX (1974), BIDAN (1975).

L'azote peptidique représente, quantitativement la fraction la plus importante de l'azote total (25 à 40 p. 100), selon POUX et OURNAC (1970) et FEUILLAT (1974). Son rôle œnologique reste cependant mal défini. Les oligopeptides pourraient être assimilés par les levures au même titre que les acides aminés et jouer également un rôle dans le

développement des bactéries lactiques, alors que les polypeptides pourraient, comme les protéines, intervenir sur la stabilité physico-chimique des vins.

En outre, les vins contiennent, en quantité beaucoup plus faible, d'autres formes d'azote organique : azote vitaminique, azote amidé.

Dans ce travail, nous nous intéressons plus spécialement à la fraction « nucléique » de l'azote du vin qui est mal connue, non seulement du point de vue de sa composition qualitative et quantitative, mais encore à cause de l'ignorance actuelle de son importance œnologique. La présence de bases azotées puriques et pyrimidiques a été mise en évidence dans les travaux réalisés dès 1958 par BOURDET et HERARD. En 1965, TERCELJ isole des nucléosides et des nucléotides. Par fractionnement des constituants du vin sur colonne de Séphadex G 25, SOMERS et ZIEMELIS (1972) montrent que certains composés absorbant dans l'ultra-violet sont d'origine nucléique et non d'origine phénolique comme cela avait été supposé. Par une technique semblable, FEUILLAT et BERGERET (1973) isolent des fractions renfermant des peptides en mélange ou en association avec des composés présentant les caractéristiques spectrales et colorimétriques des nucléotides. Par une voie différente et suivant les résultats obtenus par DELISLE et **al.** (1961) sur la levure de bière, MORFAUX (1968) a montré, en étudiant l'exsorption de l'azote soluble chez **S. cerevisiae,** qu'une certaine fraction de l'azote soluble excrété par les levures après fermentation est vraisemblablement de nature nucléotidique.

Les techniques généralement préconisées pour la purification de la fraction nucléique des milieux biologiques telles que la précipitation par l'acide trichloracétique, les chromatographies d'adsorption sur polyvinyl-pyrrolidone ou sur charbon actif ont fait l'objet d'essais dans le vin par GENEST (1974) mais aucune n'a donné pleinement satisfaction à cause des pertes trop importantes de nucléotides pouvant résulter, soit de leur hydrolyse partielle par les acides forts mis en œuvre, soit de leur élution incomplète sur les adsorbants.

Dans cette étude, ces techniques ont été remplacées par des chromatographies successives du vin sur échangeur d'ions et sur colonne de Séphadex. Ces traitements permettent d'isoler et de purifier la fraction nucléotidique du vin qui est ensuite analysée par chromatographie sur échangeur d'anions.

MATERIEL ET METHODES

1. — Principe de la méthode de séparation et de purification des nucléotides du vin.

La méthode consiste à fixer les acides aminés et les oligopeptides du vin (azote cationique) par chromatographie sur colonne échangeuse de cations, puis à extraire et à purifier les nucléotides présents dans les eaux de lavage (azote anionique et neutre) par passages successifs sur colonne de Séphadex G 10 qui exclut les composés recherchés, puis sur colonne de Séphadex G 25 qui permet l'élimination des protéines et des polypeptides. La fraction d'éluat ainsi purifiée et concentrée est chromatographiée sur colonne échangeuse d'anions en vue de séparer les nucléotides du vin.

2. — Matériel et réactifs.

• **Colonne échangeuse de cations** : Une colonne de verre de 1 cm de diamètre et d'une hauteur de 20 cm est remplie de résine cationique Dowex 50 x 4 (20-50 mesh) et mise sous forme H^+ par passage d'acide chlorhydrique N puis lavage à l'eau distillée jusqu'à élimination des chlorures.

• **Colonnes de Séphadex G 10 et de Séphadex G 25** : On utilise des colonnes en verre d'une section de 4,9 cm^2, d'une hauteur de 50 cm pour le Séphadex G 10 et d'une hauteur de 100 cm pour le Séphadex G 25. Les gels sont d'abord mis à gonfler dans un excès d'éluant constitué par le mélange à volumes égaux de tampon acétate pH 6 et d'une solution de NaCl 0,1 M. Le débit des colonnes est réglé à 40 ml par heure à l'aide d'une pompe péristaltique. L'éluat est collecté par fractions de 3 ml, puis analysé par absorption dans l'ultra-violet (260 nm) à l'aide d'un passeur d'échantillons monté en association avec un spectrophotomètre à double faisceau équipé d'une cuve à circulation et lui-même couplé avec un enregistreur potentiométrique.

Les recherches de ribose d'origine nucléique sont effectuées dans les mêmes fractions d'éluat par coloration à l'orcinol en milieu perchlorique, puis absorptiométrie à 665 nm. Enfin, la caractérisation des peptides présents dans l'éluat en mélange ou en association avec les nucléotides est faite à l'aide de colorations à la ninhydrine à 95 °C.

• **Colonne échangeuse d'anions :** L'échangeur est la résine Dowex 1 x 8 (50-100 mesh) utilisée sous forme formiate dans une colonne de 1 cm de diamètre et remplie de résine sur 40 cm de hauteur.

La régénération de la résine est effectuée par le passage d'acide formique de normalité croissante : 1N, 2N, 3N, 4N et par des lavages à l'eau bipermutée.

L'échantillon est déposé au sommet de la colonne. Avant de commencer l'élution, la résine est lavée par 50 ml d'eau bipermutée afin d'éliminer les substances non fixées.

L'élution se divise en deux phases :

— première phase constituée par le gradient de pH : H_2O (250 ml) — HCOOH 4N (250 ml)

— seconde phase constituée par le gradient de concentration : HCOOH 4N (250 ml) — $HCOONH_4$ 2M (250 ml).

Le même appareillage que celui décrit pour la chromatographie sur Séphadex est mis en œuvre :

— une pompe péristaltique qui assure un débit de la colonne de 30 ml par heure

— un collecteur de fractions (fractions collectées par 3 ml)

— un passeur d'échantillons couplé avec un spectrophotomètre pour l'étude des fractions d'éluat par absorption dans l'ultra-violet à 260 nm.

3. — **Mode opératoire.**

Les différentes opérations du traitement d'un échantillon de vin se succèdent dans l'ordre indiqué au tableau I.

Chacun des traitements proposés pour l'isolement et la purification des nucléotides du vin a été préalablement vérifié avec une solution aqueuse de nucléotides témoins correspondant au mélange AMP, CMP, GMP, UMP, ATP.

TABLEAU I

Organigramme des manipulations pour séparer les nucléotides du vin

Echantillon de vin (100 ml)
chromatographie sur Dowex 50 x 4

↓

Eaux de lavage (300 ml)
concentration par lyophilisation

↓

Eaux de lavage concentrées (10 ml)
chromatographie sur Séphadex G 10

↓

Fraction de l'éluat
renfermant les substances exclues (60-150 ml)
Cette fraction correspond au premier pic absorbant dans l'ultra-violet
concentration par lyophilisation

↓

Fraction concentrée (10 ml)
chromatographie sur Séphadex G 25

↓

Fraction de l'éluat
renfermant les substances non exclues (240-525 ml)
concentration par lyophilisation

↓

Fraction concentrée (5 ml)
Chromatographie sur Dowex 1 x 8
des nucléotides

↓

RESULTATS

I. — Isolement et purification des nucléotides

1. — Analyse de solutions de composition connue en nucléotides.

La chromatographie sur résine Dowex 50 x 4 de 50 ml d'une solution de nucléotides témoins (fig. 1) et l'étude de l'éluat par absorption

dans l'ultra-violet (260 nm) montrent que, dans les conditions expérimentales précédemment exposées, la totalité de ces composés est éluée par 300 ml d'eau qui constitueront donc le volume utilisé pour le lavage de la résine lors du traitement d'un échantillon de vin.

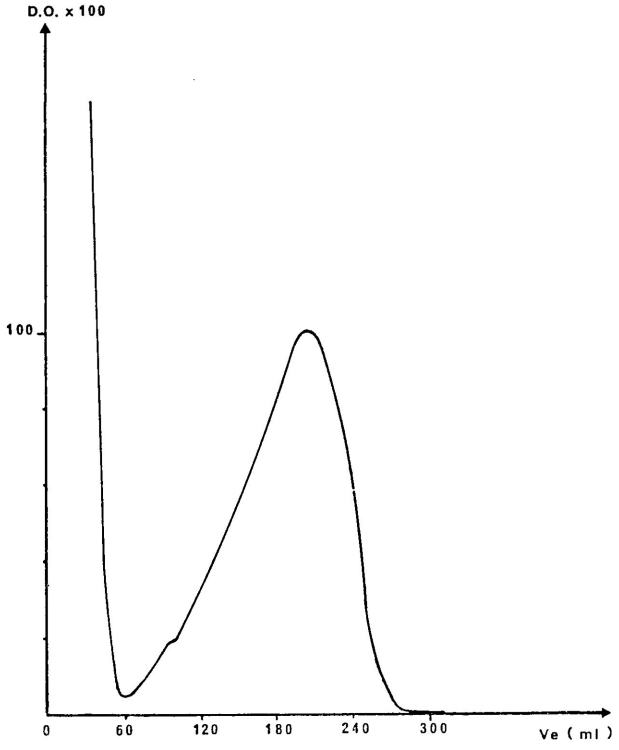


Fig. 1. — Chromatographie sur résine **Dowex** 50 x 4 d'un mélange de nucléotides témoins. Les teneurs, exprimées en mg par litre, sont les suivantes :

AMP	: 1,4	ATP	: 0,9
GMP	: 1,2	UTP	: 0,6
UMP	: 0,7 (passage de 2,5 ml)		

De même, la chromatographie sur colonne de Séphadex G 10 (fig. 2) indique que pour cette qualité de gel, les nucléotides sont élués dans un volume de tampon sensiblement égal au volume d'exclusion de la colonne déterminé à l'aide d'une solution de bleu de dextrane (PM = 2.10^6) à 0,2 p. 100. Par contre, par chromatographie sur colonne de Séphadex G 25 (fig. 3), il apparaît que les nucléotides subissent un début de fractionnement compte tenu de leur diffusion dans le gel et qu'un volume important d'éluat doit être collecté (300 à 600 ml) pour les recueillir quantitativement.

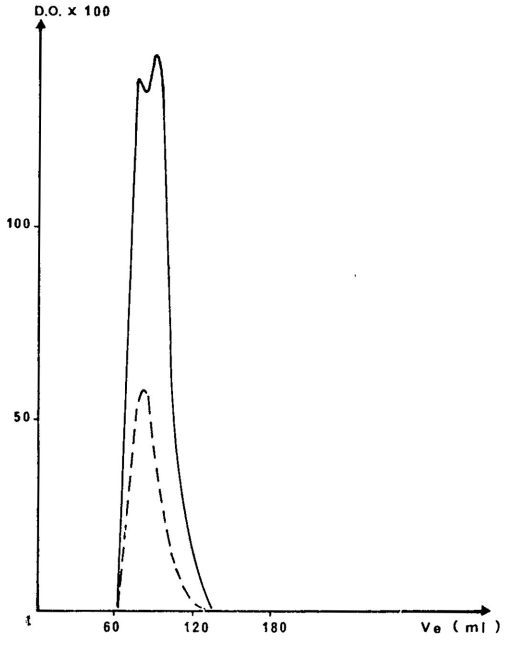


Fig. 2. — Etalonnage d'une colonne de **Séphadex** G 10 par une solution aqueuse de nucléotides témoins. Les teneurs, exprimées en mg par litre, ,sont les suivantes :

AMP	: 0,45	UMP	: 0,46
CMP	: 0,60	ATP	: 0,70
GMP	: 0,53	UTP	: 0,36

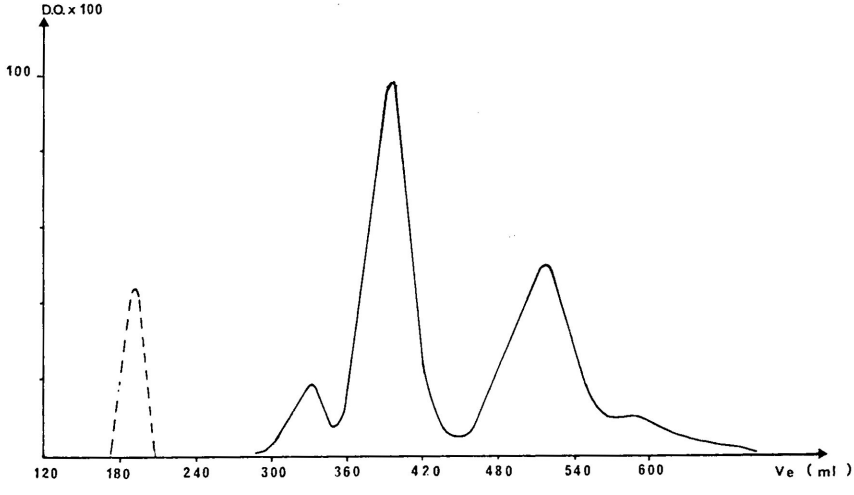


Fig. 3. — Chromatographie sur colonne de **Séphadex** G 25 d'une solution de nucléotides témoins (10 ml). Les teneurs, exprimées en mg par litre, sont les suivantes :

AMP	: 0,07	UMP	: 0,06
CMP	: 0,07	ATP	: 0,08
GMP	: 0,03	UTP	: 0,08

2. — **Analyse du vin.**

La chromatographie sur Séphadex G 10 des eaux de lavage de la colonne de Dowex 50 x 4 préalablement concentrées par lyophilisation (fig. 4) permet de séparer une fraction d'éluat (60 à 150 ml) dont l'absorption dans l'ultra-violet correspond au moins partiellement à la présence des nucléotides du vin, étant donné, d'une part l'exclusion de ces composés vérifiée précédemment et étant donné d'autre part la coloration positive à l'orcinol qui indique la présence de ribose.

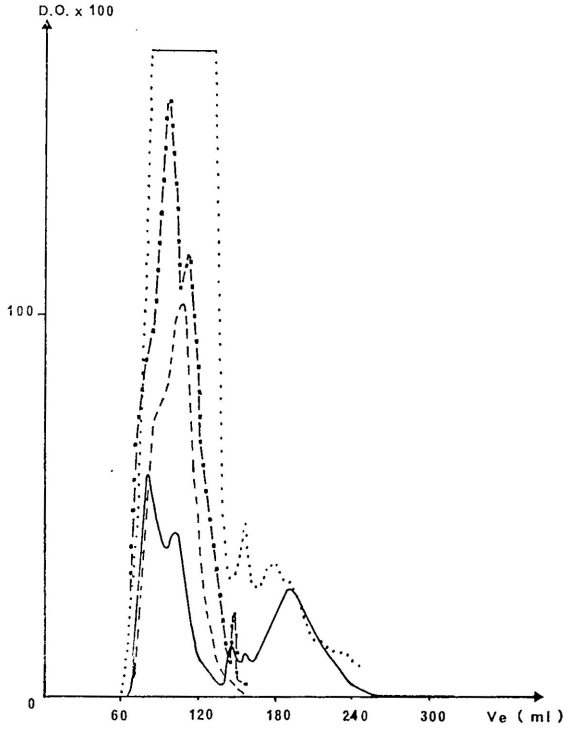


Fig. 4. — Chromatographie sur colonne de **Séphadex** G 10 des eaux de lavage de la colonne de **Dowex** 50 x 4 concentrées à 10 ml.

L'enrichissement en nucléotides de cette même fraction d'éluat ramenée par ailleurs à 10 ml par concentration sous vide à basse température, puis chromatographiée de nouveau sur Séphadex G 10, confirme parfaitement le volume d'élution des composés recherchés.

La chromatographie sur Séphadex G 25 (fig. 5) permet d'éliminer par exclusion (150 à 225 ml) des protéines et des polypeptides

(PM $\geq$ 5000) qui, jusqu'à ce stade, étaient encore contenus dans les fractions traitées et dont la présence correspondait, au moins partiellement, aux colorations positives à la ninhydrine de ces mêmes fractions.

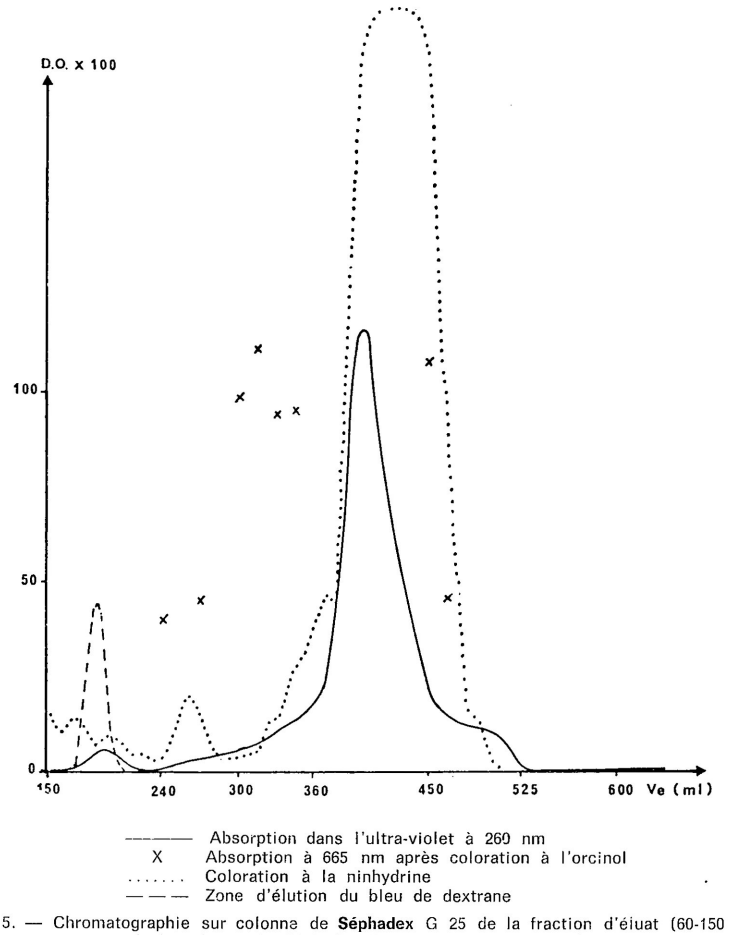


Fig. 5. — Chromatographie sur colonne de **Séphadex** G 25 de la fraction d'éluat (60-150 ml) de la colonne de **Séphadex** G 10 concentrée à 10 ml.

L'éluat collecté au-delà du volume d'exclusion est analysé à la fois par absorption dans l'ultra-violet, par coloration à l'orcinol et par coloration à la ninhydrine. Après enregistrement, on observe trois zones distinctes d'élution :

— la première (240 à 360 ml) absorbe peu dans l'ultra-violet mais donne des colorations à l'orcinol franchement positives avec un maximum d'absorption à 665 nm ;

— la seconde (360 à 450 ml) absorbe fortement dans l'ultra-violet, colore fortement la ninhydrine mais donne, avec l'orcinol, des colorations de nuance jaune ne présentant plus de maximum à 665 nm ;

— la troisième (450 à 525 ml) présente les mêmes caractéristiques que la première : faible absorption dans l'ultra-violet, colorations positives à l'orcinol.

D'après ces observations, on peut supposer que la première fraction d'éluat qui absorbe le moins dans l'ultra-violet renferme essentiellement des composés contenant du ribose et vraisemblablement des nucléotides, puisque les pentoses à l'état libre et les nucléosides pouvant être présents dans le vin et interférer dans les colorations à l'orcinol ont été éliminés par tamisage moléculaire lors de la chromatographie sur Séphadex G 10. La forte absorption dans l'ultra-violet de la deuxième fraction d'éluat caractérise plutôt la présence de polyphénols en mélange avec des composés azotés positifs à la ninhydrine et également avec des reliquats de nucléotides qui, comme nous l'avons vu lors de l'étalonnage de la même colonne avec des mélanges témoins, diffusent largement dans le gel et qui, d'ailleurs, redonnent une coloration à l'orcinol franchement positive en fin d'élution.

C'est donc l'ensemble des fractions d'éluat non exclues sur Séphadex G 25 qui sera concentré en vue d'une séparation des nucléotides sur la colonne de résine Dowex 1 x 8.

II. — **Chromatographie sur résine Dowex 1 x 8.**

1. — **Analyse qualitative.**

La colonne est préalablement étalonnée par un mélange connu de nucléotides en vue de repérer la zone d'élution de chacun d'eux et d'en déterminer les principales caractéristiques spectrométriques.

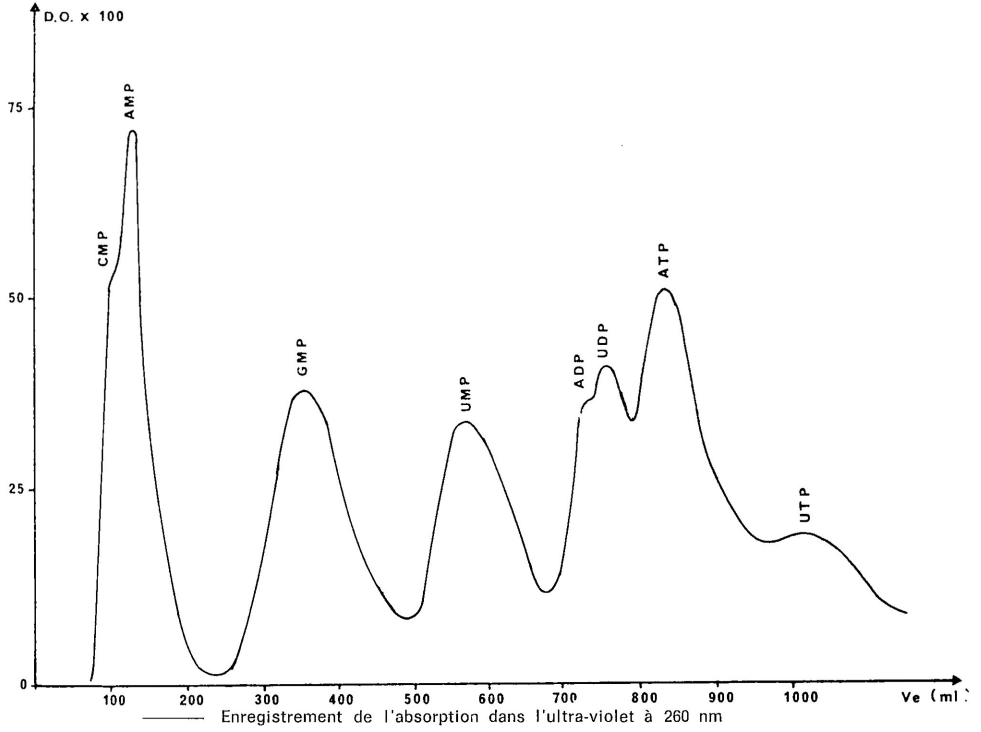
Pour tous les essais effectués, nous avons obtenu un chromatogramme semblable à celui donné sur la figure 6. L'élution se fait en fonction de la polarité avec, dans l'ordre :

— les nucléotides monophosphates : CMP, AMP, GMP, UMP ;

— les nucléotides diphosphates ;

— les nucléotides triphosphates

et nous avons vérifié que le traitement préalable des solutions par passages successifs sur colonne échangeuse de cations et sur colonnes de Séphadex ne modifie pas cette courbe d'élution.



Enregistrement de l'absorption dans l'ultra-violet à 260 nm

Fig. 6. — Chromatographie sur résine échangeuse d'ions **Dowex** 1 x 8 d'un mélange de nucléotides (3 ml). Les teneurs, exprimées en mg par litre, sont les suivantes :

AMP	: 1,4	APT	: 0,9
CMP	: 1,1	UTP	: 0,6
GMP	: 0,7	UDP	: 1,0
UMP	: 1,2	ADP	: 0,9

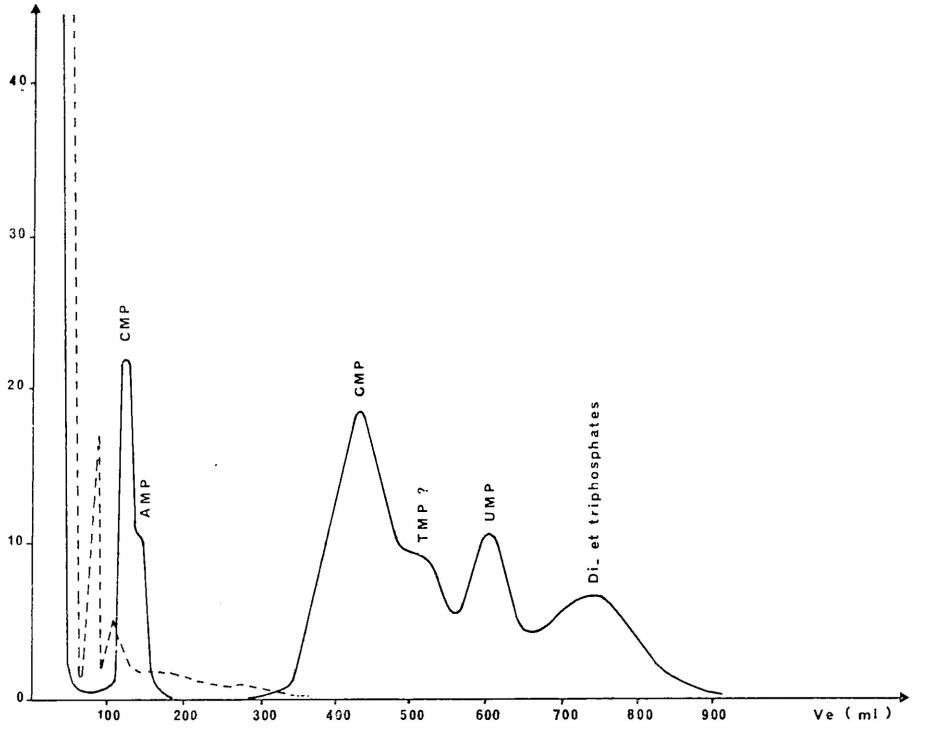
TABLEAU II

Caractéristiques de l'éluat de la colonne de Dowex 1 x 8 après chromatographie d'un mélange de nucléotides de composition connue

Volume d'élution (ml)	Maximum du spectre d'absorption (nm)	D.O. 280 nm / D.O. 260 nm	Nature des constituants isolés
75 - 110	272	1,31	C.M.P.
110 - 250	256	0,26	A.M.P.
250 - 500	254	0,60	G.M.P.
500 - 675	260	0,80	U.M.P.
675 - 700	254	0,40	A.D.P.
700 - 750	260	0,32	U.D.P.
750 - 950	256	0,33	A.T.P.
950 - 1150	260	0,50	U.T.P.

Les caractéristiques des fractions séparées sont données dans le tableau II et l'identification en est faite par référence aux spectres des solutions pures de chacun des nucléotides analysés.

La chromatographie dans les mêmes conditions d'un vin de Chardonnay récolté en Champagne et préalablement fractionné selon le protocole décrit, aboutit, après enregistrement dans l'ultra-violet et coloration à la ninhydrine des fractions d'éluat, au profil des séparations représenté sur la figure 7.



——— Enregistrement de l'absorption à 260 nm des fractions d'éluat.
— — — Coloration à la ninhydrine.

Fig. 7. — Chromatographie sur colonne de **Dowex** 1 x 8 d'un vin de Chardonnay récolté en Champagne, préalablement fractionné sur colonne échangeuse de cations et sur colonne de **Séphadex.**

Une première zone d'élution (0-100 ml) correspond aux substances non fixées sur la résine et les réactions positives à la ninhydrine indiquent la présence de composés neutres.

Au-delà de 100 ml d'élution, il y a séparation de plusieurs fractions absorbant dans l'ultra-violet, ne colorant pas la ninhydrine et dont les caractéristiques spectrales (tableau III) sont semblables à celles des

nucléotides témoins avec, en particulier, l'identification possible de quatre nucléotides monophosphates : le C.M.P., l'A.M.P., le G.M.P. et l'U.M.P. Un cinquième nucléotide monophosphate pourrait être, d'après les propriétés spectrales, le T.M.P. Par contre, les nucléotides di et triphosphates ne sont présents qu'en faible quantité et leur séparation dans l'échantillon analysé n'a pas été possible, la fraction d'éluat correspondante (650-900 ml) pouvant renfermer en mélange l'A.D.P., l'U.D.P. et l'A.T.P.

TABLEAU III

Caractéristiques de l'éluat de la colonne de Dowex 1 x 8 après chromatographie d'un vin de Chardonnay préalablement fractionné sur colonne échangeuse de cations et sur colonnes de Séphadex

Volume d'élution (ml)	Maximum du spectre d'absorption (nm)	D.O. 280 nm / D.O. 260 nm	Nature des constituants identifiés
100 - 130	276	1,49	C.M.P.
130 - 200	256	0,38	A.M.P.
300 - 475	254	0,60	G.M.P.
475 - 550	260	0,26	T.M.P.
550 - 650	260	0,75	U.M.P.
650 - 900	262	0,59	A.D.P., U.D.P., A.T.P., C.T.P.

2. — **Analyse quantitative.**

Un essai d'analyse quantitative des nucléotides du vin a été réalisé en intégrant les pics d'absorption repérés dans l'ultra-violet :

— pour le chromatogramme d'un échantillon de vin d'une part,

— pour le chromatogramme de la solution de composition et de concentration connues en nucléotides, d'autre part.

La comparaison des aires obtenues pour chaque nucléotide nous a permis d'établir le tableau IV.

Les résultats obtenus n'ont qu'une valeur indicative à cause des manipulations successives pouvant entraîner des pertes et du fait que nous n'avons pas tenu compte du degré d'hydratation des nucléotides témoins.

Cependant, il convient de retenir la faible teneur du vin en nucléotides : 6,40 mg d'azote par litre, ce qui représente un peu moins de 1 p. 100 de l'azote total qui, déterminé selon la méthode de Kjeldahl, s'élevait pour l'échantillon traité à 683 mg d'azote par litre. Parmi les nucléotides identifiés, il y a dominance de l'acide guanylique monophosphate.

TABLEAU IV

Essai de dosage des nucléotides du vin

Nucléotides	Teneur (mg par l)	Pourcentage	Teneur (mg d'azote par l)	Teneur (p. 100)
C.M.P.	8,50	20,50	1,00	15,60
A.M.P.	1,80	4,30	0,30	4,60
G.M.P. (+T.M.P.)	19,30	46,70	3,70	57,80
U.M.P.	7,10	17,10	0,60	9,20
Di- et tri-phosphates	4,68	11,10	0,80	12,50
Total	41,30	100,00	6,40	100,00

CONCLUSION

Le fractionnement des composés azotés du vin par échange d'ions et par tamisage moléculaire permet d'isoler et de concentrer une fraction renfermant les nucléotides libres qui sont ensuite séparés, identifiés et dosés par chromatographie sur une colonne échangeuse d'anions.

La méthode proposée reste assez longue et laborieuse. Nous nous efforçons actuellement de la simplifier et d'en améliorer la sensibilité en réduisant le nombre des manipulations.

Toutefois, compte tenu de la faible teneur du vin en nucléotides, seules une concentration et une purification suffisamment poussées pourront permettre un dosage précis de ces constituants et l'étude de leur évolution au cours de l'élaboration et du stockage du vin.

Le résultat obtenu estimant la teneur en azote nucléotidique à environ 1 p. 100 de l'azote total dans un vin de Chardonnay avant champagnisation est comparable aux résultats trouvés dans d'autres vins par TERCELJ (1965) précédemment cité. Dans un travail plus récent également cité, POUX (1974) isole à partir d'un moût de Grenache blanc, une

fraction d'azote anionique représentant aussi environ 1 p. 100 de l'azote total. Cette fraction renferme très certainement les nucléotides apportés par le raisin et elle est enrichie par le chauffage des vendanges.

Le facteur le plus important de la teneur du vin en nucléotides reste certainement le séjour sur lie, ces composés pouvant être libérés par la cellule de levure, à la fois par exsorption et par autolyse, selon des mécanismes plus souvent évoqués pour l'enrichissement en acides aminés. L'un d'entre nous (FEUILLAT, 1974) a déjà souligné l'importance toute particulière de ces phénomènes d'échange entre la levure et le vin pour l'élaboration des vins mousseux, l'une des supériorités de la méthode champenoise pouvant relever d'échanges particulièrement intenses.

Les effets des nucléotides sur les caractères organoleptiques des produits alimentaires sont actuellement reconnus. Ainsi, l'addition d'acide guanylique monophosphate peut augmenter la flaveur d'un aliment. La formation à partir de l'acide adénylique triphosphate de corps à saveur amère caractéristique, tels que l'inosine et l'hypoxanthine identifiés notamment dans la viande en cours de maturation, a été également envisagée en brasserie, un stockage prolongé de la bière sur levure pouvant lui communiquer un caractère « dry ».

Les coenzymes nucléotiques tels que le N.A.D., le F.A.D. peuvent, en tant que transporteurs d'hydrogène et par réaction avec les acides aminés soufrés, jouer un rôle important dans la formation des goûts de réduction et de « lumière » auxquels sont particulièrement sensibles les vins champagnisés.

Ainsi, malgré sa faible teneur, la fraction nucléotidique du vin mérite d'être mieux connue.

RESUME

La fraction de l'azote « nucléique » du vin est mal connue, non seulement du point de vue de sa composition, mais encore à cause de l'ignorance actuelle de son importance œnologique. Cette étude propose une technique permettant d'isoler et de purifier la fraction nucléotidique de l'azote libre qui est ensuite analysée par chromatographie sur échangeur d'ions.

Manuscrit le 2 février 1976.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BIDAN P., 1975. Relation entre la teneur des vins en alcools supérieurs et la teneur des moûts en substances azotées, en particulier, en acides aminés. **Bull. O.I.V., 536,** 842.

BOURDET A., HERARD J., 1958. Influence de l'autolyse des levures sur la composition azotée et phosphorée des vins. **Ann. Technol. Agric., 2,** 77.

DELISLE A.L., PHAFF B.J., 1961. The release of nitrogenous substances by brewer's yeast. **Am. Soc. Brew Chem. Proc.,** 103.

DUPUY P., MORFAUX J.N., USCIATI M., 1967. Métabolisme azoté des levures en œnologie. IIe Symposium International d'Œnologie, Bordeaux-Cognac, Inra Paris, 167.

FEUILLAT M., BERGERET J., 1967. Identification et dosage des amino-acides dans les moûts et les vins de Bourgogne. **C.R. Acad. Sc., 264,** série D., 1757.

FEUILLAT M., BERGERET J., 1972. Séparation, concentration et analyse par électrophorèse sur gel de polyacrylamide des protéines solubles du raisin et du vin. **Bull. Soc. Chim., 5,** 2085.

FEUILLAT M., BERGERET J., 1973. Analyse qualitative des peptides du vin par chromatographie sur échangeur d'ions. **C.R. Acad. Sc., 276,** série D, 1057.

FEUILLAT M., 1974. Contribution à l'étude des composés azotés du moût de raisin et du vin. Thèse Doctorat d'Etat, Dijon.

GENEST J.P., 1974. Contribution à l'étude des composés nucléiques du vin. **Mémoire de fin d'études E.N.I.T.A.**, Dijon-Quétigny

MORFAUX J.N., 1968. Acides aminés des vins, mécanismes d'exsorption des acides aminés libres provenant des levures. IIe Colloque International d'Œnologie, Fribourg, R.F.A.

POUX C., OURNAC A., 1970. Acides aminés libres et polypeptidiques du vin. **Ann. Technol. Agric., 19**, 3, 217.

POUX C., 1974. Chauffage de la vendange et composés azotés. **Ann. Technol. Agric., 6,** 695.

SOMERS T.C.. ZIEMELIS G., 1972. Interpretation of ultraviolet absorption in white wines. **J. Sci. Food Agric., 23,** 441.

TERCELJ D., 1965. Etude des composés azotés du vin. **Ann. Technol. Agric., 14,** 4, 307.