Connaissance Vigne Vin, 1984, **18,** N° 1, 27-48.

ACIDES AMINÉS DANS LES VINS MOUSSEUX*

O. COLAGRANDE, A. SILVA et A. CASOLI

Istituto di Enologia, Facoltà di Agraria
Università Cattolica del Sacro Cuore
29100 Piacenza (Italie).

INTRODUCTION

Parmi les composés azotés des vins mousseux les acides aminés présentent une importance particulière. Ils constituent, d'une part une importante source d'azote pour les levures lors de la seconde fermentation et, d'autre part, ils sont soit directement, soit après dégradation, les précurseurs de nombreuses substances aromatiques (BIDAN, 1975). Les connaissances sur ce dernier point ne sont pas très nombreuses, mais des travaux sont en cours dans notre laboratoire pour rechercher si une corrélation existe entre la présence de certains acides aminés et la formation de substances aromatiques.

LOYAUX et *al.* (1977 et 1981) ont remarqué, dans des vieux champagnes, la présence de deux composants aromatiques : le diméthyl-4,5 tétrahydrofurane 2,3-dione et le vitispirane qui ont pour origine respectivement la thréonine et la méthionine. Toujours sur des vieux champagnes, il a été identifié l'éthoxy-5-butyrolactone qui serait un produit du métabolisme de l'acide glutamique.

De nombreux auteurs ont cherché à caractériser analytiquement les vins mousseux selon les méthodes d'élaboration (contact prolongé du vin avec les levures en bouteille, contact plus ou moins bref en cuves closes) sur la base de leur composition en acides aminés (BERGNER, 1968 ; CARBALLO CAABEIRO, 1968 ; COLAGRANDE, 1981 ; DE FRANCESCO et *al.*, 1973 ; FEUILLAT, 1981 et 1982 ; MARGHERI, 1971 et 1982 ; PERIN et *al.*, 1974 ; RODOPULO, 1970 ; SPETTOLI et *al.*, 1982 ; SUAREZ, 1979).

Les résultats obtenus par les différents auteurs sont contradictoires. Certains (MARGHERI et *al.*, 1982) ne trouvent pas de différences notables entre les teneurs en acides aminés de vins mousseux obtenus par différentes techniques. D'autres (BERGNER, 1968 ; FEUILLAT, 1981 et 1982 ; SUAREZ et *al.*, 1979) montrent une augmentation de la teneur de quelques acides aminés, en particulier de la lysine, de l'acide glutamique et de l'alanine en vin mousseux champenois avec séjour prolongé sur les levures.

* Recherche effectuée avec la contribution du C.N.R. (Conseil National de la Recherche scientifique — contribution n° 83.00622.06).

Ces augmentations seraient à attribuer à un processus de dégradation enzymatique des constituants cytoplasmiques de la cellule de levure et à leur libération dans le milieu environnant.

En effet, selon certains chercheurs, la préparation des vins mousseux par la méthode champenoise, compte tenu du séjour prolongé sur les levures et de l'intensité du contact pendant le remuage, est un des rares cas dans le domaine de l'élaboration du vin où le processus d'autolyse intervient, avec pour conséquence l'accroissement de la teneur en quelques acides aminés et en petits peptides (BIDAN, 1975 ; FEUILLAT, 1981 et 1982).

Dans le but d'éclaircir les processus biochimiques très complexes qui interviennent pendant les phases de la champagnisation, nous étudions depuis plusieurs années l'évolution des différentes fractions azotées des vins mousseux, ainsi que leur influence sur les caractéristiques qualitatives du produit fini (COLAGRANDE et *al.*, 1977 et 1981 ; MAZZOLENI, 1981).

Pendant la première phase de cette étude, nous avons travaillé sur le fractionnement, grâce à des techniques analytiques telles que l'ultrafiltration, la filtration sur gel et la chromatographie liquide à haute pression, des composés azotés en trois groupes : acides aminés et oligopeptides (poids moléculaire $<$ 1 000), peptides (poids moléculaire entre 1 000 et 5 000), polypeptides et protéines (poids moléculaire $\geqslant$ 5 000).

Les résultats de nos recherches conduites sur les vins mousseux préparés soit par la méthode en cuve close (procédé Charmat et procédé Charmat avec traitement thermique après la prise de mousse en présence de levures) soit par la méthode champenoise nous ont permis de faire les observations suivantes :

— le séjour prolongé sur les levures donne lieu à une augmentation de l'azote soluble (poids moléculaire $<$ 1 000) et en particulier des oligopeptides (la teneur en azote oligopeptidique double après 12 ans de contact avec les levures) ; mais il ne semble pas avoir d'effet important sur les composés macromoléculaires.

— le traitement thermique en présence de levures entraîne une redistribution entre les diverses fractions azotées avec une légère augmentation de l'azote soluble (+ 12,7 p. 100) et, dans le même temps, une diminution des composés macromoléculaires (— 9,3 p. 100).

Nos travaux nous ont permis d'apporter des éclaircissements sur les modifications des composés azotés solubles (en particulier des oligopeptides), entraînées soit par le contact prolongé du vin avec les levures, soit par le traitement thermique. Cette dernière technologie semble avoir également une légère influence sur les composés macromoléculaires.

En ce qui concerne les acides aminés libres, les premiers travaux effectués sur les vins mousseux élaborés par la méthode champenoise,

montrent qu'après plusieurs années de contact avec les levures (de 5 à 12 ans), les variations sont peu importantes (COLAGRANDE et *al.*, 1981).

Dans le présent travail nous avons déterminé les teneurs en acides aminés libres des vins mousseux élaborés soit par la méthode champenoise, soit par seconde fermentation en cuve close (méthode Charmat).

Dans une première partie, nous avons analysé des vins commerciaux et, dans une deuxième partie, nous avons comparé les teneurs en acides aminés de six vins mousseux élaborés, à partir d'un même vin de base, par différentes méthodes.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL ET METHODES ANALYTIQUES

I. — PROTOCOLE EXPERIMENTAL

1° Pour la première partie de notre travail nous avons choisi, dans le commerce, des vins mousseux. Nous en avons pris 23 élaborés par la méthode champenoise et 10 élaborés en cuve close, selon le procédé Charmat. Ces vins mousseux provenaient de vins de base élaborés à partir des cépages Pinot et Chardonnay des zones du Trentino Alto Adige et de l'Oltrepô Pavese (Lombardia). Le Trentino Alto Adige comprend les provinces de Trento (surtout le long du fleuve Adige et de quelques vallées latérales) et de Bolzano (le long du fleuve Adige de Merano à Salorno), l'Oltrepô Pavese comprend la partie de la province de Pavie située sur la rive droite du fleuve Po.

2° Pour étudier, d'une façon précise, l'influence des méthodes d'élaboration sur les teneurs en acides aminés des vins mousseux, nous avons suivi le protocole expérimental suivant :

Un volume de 500 hl de vin de base provenant du cépage Pinot est divisé en quatre lots : trois destinés à la prise de mousse en cuve close et un à la prise de mousse en méthode champenoise.

Dans tous les cas, la prise de mousse est effectuée par addition de saccharose à la dose de 30 g par litre et ensemencement avec une culture de *Saccharomyces cerevisiae* à raison de 1 500 000 cellules par millilitre.

On obtient les vins mousseux ci-après :

— CH) vin mousseux élaboré en cuve close par le procédé Charmat traditionnel. La seconde fermentation a duré un mois. Les vins mousseux ont été conservés pendant deux mois sur les levures puis centrifugés, réfrigérés, filtrés et mis en bouteilles.

— CHT) vin mousseux élaboré en cuve close avec traitement thermique. Mêmes conditions générales que pour le vin CH, mais immédia-

tement après la prise de mousse on effectue un réchauffage à 42 °C, en présence des levures, pendant 72 heures. Le vin est ensuite refroidi à 8-10 °C et traité comme CH en vue de la mise en bouteilles.

— $CHTM_1$ et $CHTM_2$) Ces vins élaborés comme CHT sont mis en bouteilles avec les levures : la masse est agitée pour avoir une distribution homogène des levures dans les bouteilles. Ensuite, le produit est élaboré selon la méthode champenoise et dégorgé après un an ($CHTM_1$) et deux ans ($CHTM_2$).

— CM_1 et CM_2) vin mousseux élaboré par la méthode champenoise. La seconde fermentation est effectuée en bouteilles selon le procédé traditionnel. Les bouteilles sont dégorgées après un an (CM_1) et deux ans (CM_2) de conservation sur les levures.

II. — METHODES ANALYTIQUES

Sur tous les échantillons, en plus des déterminations classiques on a effectué les déterminations suivantes :

— azote total par la méthode Kjeldhal (LEGGET BAILEY, 1967) ;

— azote ammoniacal par la méthode O.I.V. (O.I.V., 1979) ;

— acides aminés par chromatographie liquide à haute pression selon la méthode mise au point dans notre laboratoire (CASOLI et *al.*, 1982).

Dosage des acides aminés par chromatographie en phase liquide haute pression

— *Appareillage*

On a utilisé un appareillage Perkin Elmer composé des parties suivantes :

- Chromatographe en phase liquide mod. Series 3 B
- Détecteur spectrofluorimétrique mod. 650-10 S
- Echantillonneur automatique mod. LC 420
- Intégrateur mod. Sigma 10 B
- Colonne C_8 à phase inverse (longueur 25 cm, ∅ interne 0,46 cm) avec particules de 10 µm de diamètre.

— *Réactifs*

- Eau distillée purifiée par passage sur MilliQ (Millipore)
- Acétonitrile et acétone : Lichrosolv Merck (Darmstadt) pour chromatographie ;

Chlorure de dansyl : Pierce Chemical Co. (Rockford, Illinois), solution dans l'acétone à la concentration de 100 mg par litre. Une solution fraîche est préparée chaque 24 heures en ajoutant 0,1 ml de la solution concentrée à 8 ml d'acétone. Les deux solutions sont conservées à 4 °C.

- Solution étalon des acides aminés : cette solution est préparée en dissolvant les acides aminés purs (BDH Chemicals Ltd., Poole) dans HCl 0,01 N, de façon à obtenir une concentration de 0,2 mmole par litre pour chaque acide aminé. La norleucine est utilisée comme étalon interne, elle est en solution chlorydrique 0,01 N à la concentration de 5 mmole par litre. Les solutions sont conservées à 4 °C.

- Acide phosphorique 85 % ; bicarbonate de sodium : RPE Carlo Erba (Milano).

- Acide acétique glacial ; NaOH : Hoechst AG (Frankfurt).

- Tampon à pH 10 : préparé en ajustant le pH d'une solution 0,1 M de bicarbonate de sodium avec NaOH 0,5 N. Le tampon est purifié avant son emploi par passage sur membrane de 0,45 µm (Millipore).

- Phase mobile composée de :

  — *solution A :* acétonitrile contenant par litre 0,1 ml d'acide acétique glacial et 0,7 ml d'acide phosphorique ;

  — *solution B :* eau distillée acidifiée avec 0,5 ml d'acide phosphorique par litre.

— *Préparation des dérivés*

200 µl du vin ou de la solution étalon sont placés dans un tube à vis de 3 ml, et additionnés de 20 µl de la solution diluée de norleucine (étalon interne) et ensuite évaporés à sec.

360 µl de tampon à pH 10 et 900 µl de la solution diluée de chlorure de dansyl sont ensuite ajoutés au résidu. Une fois fermé, le tube est agité et placé à 100 °C pendant 4 minutes. Après refroidissement, le volume de la solution est porté à 2 000 µl avec un mélange des solutions A et B (50 : 50, v/v). 20 µl de la solution diluée sont injectés dans le chromatographe.

— *Chromatographie*

Le détecteur spectrofluorimétrique est à la longueur d'onde de 298 nm en excitation et de 546 nm en émission. Les deux monochromateurs ont une fente de sortie de 10 nm.

L'analyse chromatographique est effectuée à température ambiante.

Pour l'élution de l'échantillon on utilise un gradient de la phase mobile, variant entre 5 et 99,9 % d'acétonitrile (solution A) en eau (solution B) à un débit de 1,5 ml/min.

Le gradient comporte 5 stades dont le troisième est non linéaire et il a le profil suivant :

- T_1 : 5-17 % (2 minutes)
- T_2 : 17-25 % (17 minutes)
- T_3 : 25-34 % (18 minutes)
- T_4 : 34-60 % (10 minutes)
- T_5 : 99,9 % (5 minutes) stade de lavage du système.

III. — ANALYSE STATISTIQUE

Les données obtenues pour les 14 acides aminés (détermination répétées six fois pour chaque échantillon, c'est-à-dire 36 « repliqués » pour chaque acide aminé) des vins mousseux élaborés à partir du même vin de base (2e partie du protocole expérimental) ont été traitées par l'analyse de variance factorielle en « mixed model » (LE CLERG et *al.*, 1962 ; SNEDECOR et *al.*, 1973).

Parmi les acides aminés déterminés, nous n'avons pas pris en considération, pour l'analyse statistique, les concentrations en arginine et en ornithine dont les variations sont à attribuer, pour une bonne part, à la fermentation malolactique qui s'est déroulée exclusivement sur les vins mousseux qui ont subi le traitement thermique (KUNSCH et *al.*, 1974 et 1975 ; MAYER et *al.*, 1973 ; WEILLER et *al.*, 1976).

L'analyse de variance a été réalisée en considérant les paramètres suivants :

— Traitement thermique T, facteur « contrôlé » ; ce facteur subdivise les vins mousseux en deux groupes : (CHT - $CHTM_1$ - $CHTM_2$), qui ont subi le traitement thermique et ont terminé la fermentation malolactique et (CH - CM_1 - CM_2), qui n'ont pas été traités thermiquement et n'ont pas subi la dégradation de l'acide malique.

Le traitement thermique et la fermentation malolactique sont compris dans la même source de variabilité puisque, dans nos essais, ils sont liés entre eux (le traitement thermique a influencé la dégradation de l'acide malique) et puisque dans leur ensemble ils divisent les vins mousseux en deux groupes homogènes.

— Technologies d'élaboration V, facteur « aléatoire »e; elles comprennent les différentes méthodes de préparation des vins mousseux (prise de mousse et conservation sur levures).

Le choix du paramètre V « aléatoire » a pour but de généraliser les résultats pouvant être obtenus à partir d'essais semblables, même en changeant les conditions non contrôlées (ex. : différentes températures de la seconde fermentation, différentes souches de levures, etc.). Le T « contrôlé » veut mettre en évidence l'action du traitement particulier sur les composés pris en considération dans notre expérimentation.

Les degrés de liberté (D.L.) concernant les sources de variabilité ainsi que leur interaction sont 1 pour le facteur T, 2 pour le facteur V et pour l'interaction VxT, tandis que les D.L. totaux et ceux de l'erreur parmi les « repliqués » sont respectivement 35 (36 observations pour chaque acide aminé) et 30.

Dans le but d'estimer la signification des facteurs V et T ainsi que de leur interaction on a calculé le test F (Fischer) qui représente le rapport entre la variance du facteur et la variance de l'erreur (SNEDECOR et *al.*, 1973).

Nous avons calculé le test F pour les facteurs V et VxT (interaction entre V et T) en considérant la variance de l'erreur parmi les « repliqués » (E). Dans le cas du facteur T, sa variance doit être rapportée à la variance de l'interaction VxT ; parce que, étant V aléatoire, l'interaction dont il fait partie est elle-même aléatoire et est la seule estimation correcte de l'erreur pour T.

Enfin, dans le but de vérifier si toutes les moyennes ou seulement certaines présentent des différences significatives, nous avons appliqué le test de Duncan ou « Duncan's Multiple range tests » (LE CLERG et *al.*, 1972 ; SNEDECOR, 1973) sur la base des données suivantes :

— moyennes de chaque acide aminé, pour tous les échantillons, obtenues de l'analyse de variance ;

— erreur type de la moyenne :

$$S_x = \frac{\sqrt{s^2}}{\sqrt{n}}$$

s^2 = variance de l'erreur parmi les « repliqués »

n = nombre de « repliqués »

— degrés de liberté de la variance d'erreur parmi les « repliqués ». Comme déjà dit, dans ce cas D.L. = 30.

Pour déterminer D (niveaux minimum de signification), il faut ranger les moyennes par ordre croissant ou décroissant et utiliser la formule suivante :

$$D = Q \cdot s_x$$

où Q est tabulé sur la base des D.L. de la variance de l'erreur, du nombre des moyennes et de la probabilité d'erreur (intervalle de confiance 95 %).

RESULTATS ET DISCUSSION

I. — COMPOSITION EN ACIDES AMINES DE DIFFERENTS VINS MOUSSEUX DU COMMERCE

a) **Vins mousseux élaborés en cuve close par la méthode Charmat.**

Les données rassemblées dans le tableau I nous permettent de faire quelques observations. Sur les 10 échantillons examinés, l'azote aminé varie de 118 à 240 mg par litre et représente de 61,2 à 84,4 p. 100 de l'azote total.

TABLEAU I

Constitution azotée de différents vins mousseux commerciaux élaborés selon différentes méthodes

Les chiffres représentent des mg par litre

	Minimum		Maximum		Moyenne	
	méthode cuve close	méthode champe-noise	méthode cuve close	méthode champe-noise	méthode cuve close	méthode champe-noise
Asparagine	22	13	57	51	37	30
Arginine	18	23	331	423	132	138
Acide aspartique + Acide glutamique	17	18	49	65	34	34
Thréonine	54	40	92	91	70	61
Glycine	14	9,0	30	30	22	20
Alanine	35	22	150	185	71	77
Proline	264	234	1040	794	690	470
Valine	2,8	3,9	14	18	10	9,9
Méthionine	9,8	7,2	29	41	16	23
Tryptophane	3,1	5,6	11	25	6,9	13
Phénylalanine	6,1	6,2	16	28	13	15
Isoleucine	57	31	142	60	83	46
Leucine	2,7	3,4	12	16	7,8	9,0
Ornithine	9,3	2,1	30	18	18	9,0
Lysine	7,5	6,2	35	59	21	29
Tyrosine	12	4,1	21	21	15	12
Azote total	155	152	363	399	263	280
Azote aminé	118	77	240	248	182	184
Azote ammoniacal	3,0	2,3	26	67	14	19

Les analyses ont porté sur 10 échantillons de vins mousseux élaborés par la méthode en cuve close (procédé Charmat) et sur 23 échantillons de vins mousseux élaborés par la méthode champenoise.

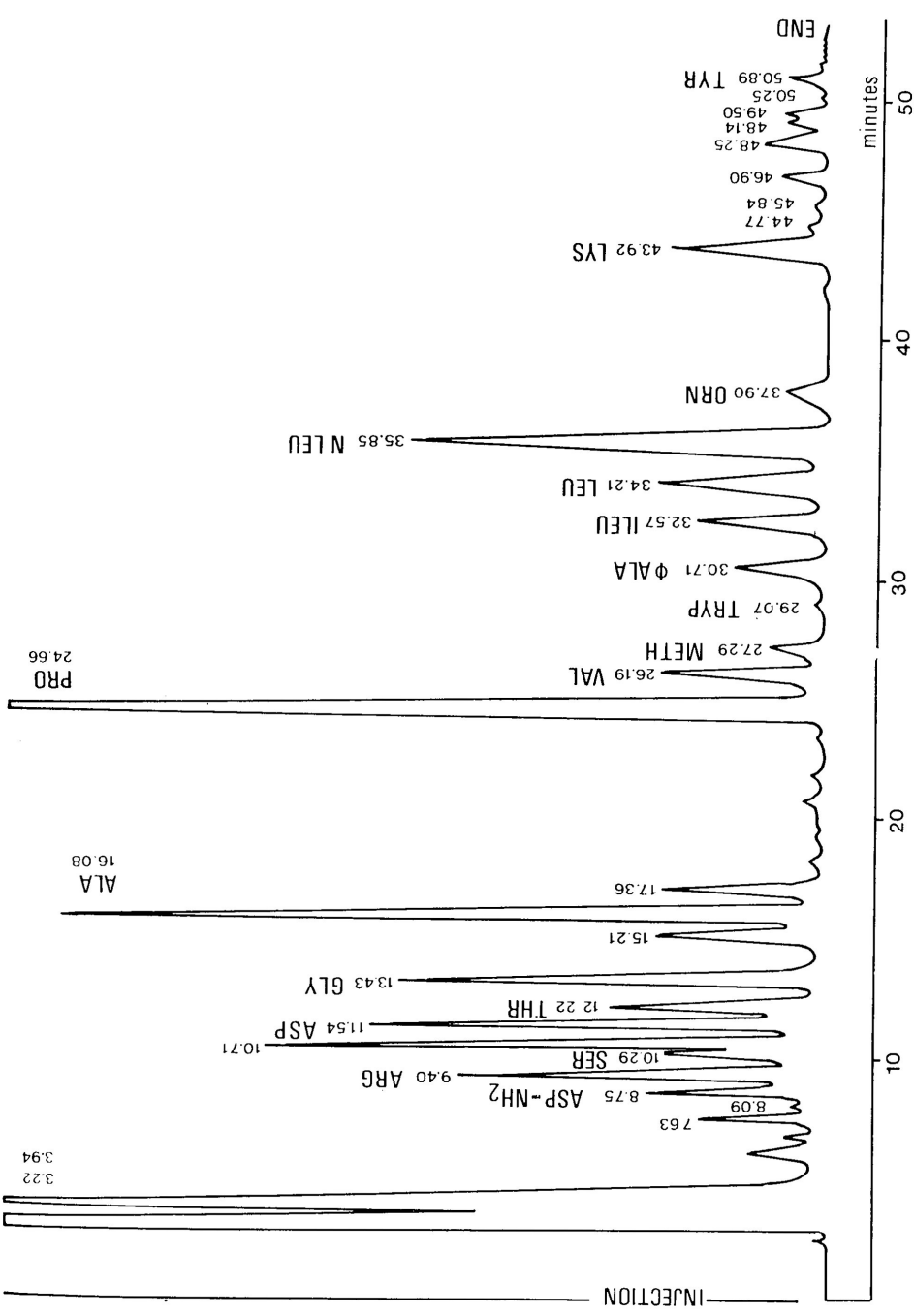


Fig. 1. — Chromatogramme des acides aminés d'un échantillon de vin mousseux.

Les acides aminés déterminés et dosés sont au nombre de 17 (l'acide aspartique et l'acide glutamique sont déterminés globalement (figure 1) et exprimés en acide aspartique).

Les acides aminés les plus importants quantitativement sont la proline et l'arginine et, en quantité plus faible, l'alanine. La proline varie de 264 à 1 040 mg par litre et l'arginine de 18 à 331 mg par litre, l'alanine de 35 à 150 mg par litre, la thréonine de 54 à 92 mg par litre, l'isoleucine de 57 à 142 mg par litre. Tous les autres acides aminés sont présents en quantité très faible, en particulier le tryptophane et la leucine dont les teneurs moyennes ne dépassent pas 10 mg par litre.

b) **Vins mousseux élaborés par la méthode champenoise.**

Sur les 23 échantillons examinés, 15 proviennent du vin de base de l'Oltrepô Pavese et 8 du vin de base du Trentino Alto Adige.

L'examen des données rassemblées dans le tableau I montre que l'azote aminé total varie de 77 à 248 mg par litre (soit 38,4 à 76,5 p. 100 de l'azote total).

Dans ce type de vin, les acides aminés en quantité les plus élevées sont, comme pour les vins élaborés en cuve close, la proline et l'arginine, avec des teneurs respectives comprises entre 234 et 794 mg par litre et 23 et 423 mg par litre pour la seconde. Puis, vient ensuite la thréonine avec une teneur variant de 40 à 91 mg par litre, l'isoleucine de 31 à 60, l'alanine de 22 à 185, la lysine de 6,2 à 59, l'acide glutamique + acide aspartique de 18 à 65 mg par litre.

Parmi les échantillons examinés, on a observé que les vins mousseux obtenus à partir de vins de base du Trentino Alto Adige présentent une teneur en proline supérieure à ceux préparés avec des vins de base de l'Oltrepô Pavese (figure 2).

c) **Comparaison entre vins mousseux élaborés en cuve close et par méthode champenoise.**

Les données du tableau I, relatives aux deux groupes de vins mousseux, permettent de tirer les conclusions suivantes :

— les teneurs en azote total sont, en moyenne, assez semblables ;

— les teneurs en azote aminé exprimées en pourcentage par rapport à l'azote total sont comparables, pour les deux types de vin, même si le groupe des vins mousseux élaborés par la méthode champenoise présente le minimum le plus bas (77 et 38 mg par litre pour la méthode champenoise ; 118 et 61 p. 100 pour la méthode Charmat) ;

— les teneurs de chaque acide aminé sont, en général, comparables ; seules les teneurs en isoleucine, en proline et en ornithine sont plus

élevées dans les vins mousseux issus de cuve close, tandis que les teneurs en méthionine et en tryptophane sont plus élevées dans les mousseux de méthode champenoise.

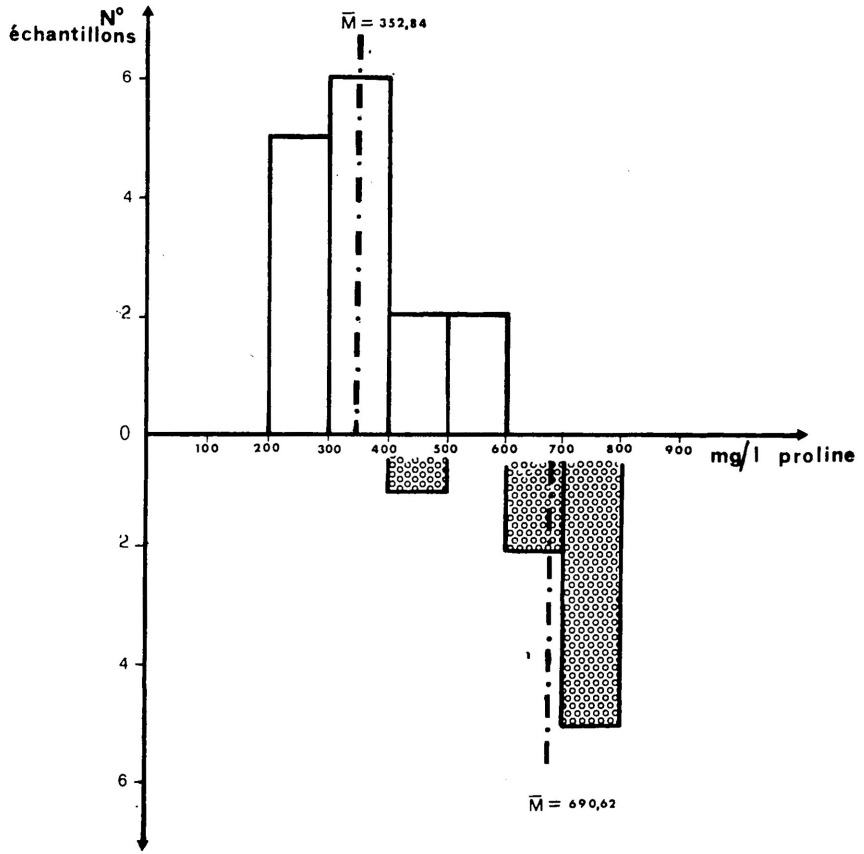


Fig. 2. — Distribution de la proline dans les vins mousseux obtenus par la méthode champenoise à partir de vins base de l'Oltrepo Pavese ☐ et du Trentino Alto Adige ⁘

Dans les deux variétés de vins mousseux, nous avons remarqué des teneurs plutôt élevées en arginine ; ceci est en accord avec des résultats obtenus par d'autres auteurs (BIDAN, 1975 ; FEUILLAT, 1981 ; DE FRANCESCO et *al.*, 1973).

On sait, en effet, que les levures assimilent facilement cet acide aminé, mais qu'elles l'excrètent immédiatement après la seconde fermentation.

TABLEAU II

Caractères analytiques des vins mousseux élaborés, à partir du même vin de base, par diverses méthodes

	VB	CM_1	CM_2	CH	CHT	$CHTM_1$	$CHTM_2$
Titre alcoométrique % vol.	10,83	12,52	12,55	12,49	12,52	12,50	12,52
Sucres réducteurs (g/l)	< 1	2,6	2,1	2,5	2,5	2,5	2,5
pH	3,01	3,12	3,12	3,03	3,10	3,05	3,03
Acidité totale (g H_2So_4 par litre)	5,08	4,07	4,19	4,00	3,77	3,65	3,85
Acité volatile (g H_2So_4 par litre)	0,37	0,30	0,26	0,30	0,37	0,32	0,29
Acide tartrique (g/l)	2,26	2,22	2,21	1,85	1,77	2,04	2,04
Acide malique (g/l)	1,56	1,39	1,38	1,09	0,22	0,20	0,19
Acide lactique (g/l)	1,23	1,31	1,21	1,33	2,01	2,22	2,17
So_2 total (mg/l)	129	114	112	116	113	109	104
Méthanol ml % ml éthanol anhydre	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,05	0,05
Propanol-1 (mg/l)	34	34	36	34	37	31	36
Méthyl-2 propanol-1 (mg/l)	71	68	75	72	79	65	69
Méthyl-2 butanol-1 (mg/l)	42	43	45	44	47	40	42
Méthyl-3 butanol-1 (mg/l)	189	200	201	193	209	186	196
Azote total (mg/l)	220	216	211	204	205	213	221
Azote aminé (mg/l)	153	125	127	125	111	110	112

TABLEAU III

Teneur en acides aminés de vins mousseux préparés à partir du même vin de base

		VB	CM_1	CM_2	CH	CHT	$CHTM_1$	$CHTM_2$
		$x \pm t_{0,05}.s_x$	$x \pm t_{0,05}.s_x$	$x \pm t_{0,05}.s_x$	$x \pm t_{0,05}.s_x$	$x \pm t_{0,05}.s_x$	$x \pm t_{0,05}.s_x$	$x \pm t_{0,05}.s_x$
Asparagine	mg/l	8,83 ± 0,97	9,67 ± 1,56	9,95 ± 1,75	15,14 ± 1,54	16,40 ± 0,84	16,56 ± 1,30	15,91 ± 1,19
Serine	mg/l	8,59 ± 1,62	9,43 ± 0,81	8,97 ± 0,41	9,91 ± 0,84	10,20 ± 1,19	10,84 ± 0,60	11,22 ± 1,14
Acide aspartique + Acide glutamique	mg/l	19,45 ± 0,29	10,42 ± 0,24	11,51 ± 0,29	11,45 ± 0,54	11,30 ± 0,21	14,82 ± 0,77	14,48 ± 0,46
Glycine	mg/l	11,73 ± 0,14	10,92 ± 0,08	11,21 ± 0,17	11,27 ± 0,28	10,79 ± 0,65	12,12 ± 0,15	12,38 ± 0,37
Alanine	mg/l	48,41 ± 0,30	25,02 ± 0,47	26,61 ± 0,32	24,84 ± 1,30	34,81 ± 0,86	32,56 ± 0,50	33,30 ± 0,87
Proline	mg/l	595,37 ± 5,25	538,89 ± 12,58	548,46 ± 11,43	597,61 ± 3,06	536,46 ± 15,35	529,81 ± 25,20	556,55 ± 12,28
Valine	mg/l	6,84 ± 0,10	4,86 ± 0,13	5,64 ± 0,14	4,61 ± 0,09	4,26 ± 0,18	5,13 ± 0,29	4,99 ± 0,57
Méthionine	mg/l	9,35 ± 0,26	8,36 ± 0,50	9,23 ± 0,33	8,21 ± 0,66	8,95 ± 0,89	9,03 ± 0,71	8,56 ± 0,50
Tryptophane	mg/l	6,19 ± 0,47	5,50 ± 0,74	5,79 ± 0,60	4,75 ± 0,49	4,88 ± 0,47	3,22 ± 0,35	3,42 ± 0,73
Phénylalanine	mg/l	6,24 ± 0,36	4,57 ± 0,51	4,97 ± 0,27	4,65 ± 0,36	3,82 ± 0,36	5,42 ± 0,50	5,81 ± 0,22
Isoleucine	mg/l	30,14 ± 0,79	26,53 ± 1,38	25,67 ± 1,48	30,52 ± 2,15	26,64 ± 1,80	30,39 ± 1,85	26,43 ± 1,58
Leucine	mg/l	4,80 ± 0,07	2,71 ± 0,15	2,82 ± 0,09	2,71 ± 0,15	2,22 ± 0,11	2,85 ± 0,25	3,19 ± 0,26
Lysine	mg/l	14,10 ± 0,09	6,55 ± 0,34	6,90 ± 0,33	6,28 ± 0,14	6,31 ± 0,36	10,76 ± 0,70	10,34 ± 0,63
Tyrosine	mg/l	9,08 ± 0,45	10,66 ± 1,35	10,28 ± 0,86	9,21 ± 0,50	9,84 ± 0,45	10,12 ± 0,84	11,37 ± 0,58
Arginine	mg/l	156,30 ± 2,94	114,63 ± 1,57	114,19 ± 1,93	87,43 ± 4,37	31,76 ± 1,70	32,44 ± 2,70	30,51 ± 1,25
Ornithine	mg/l	21,80 ± 0,50	20,74 ± 0,29	20,47 ± 0,49	20,35 ± 1,03	67,25 ± 1,45	58,01 ± 4,67	56,63 ± 1,38

x = moyenne de 6 " repliqués "; $t_{0,05}$ = 2,571 pour 5 degrés de liberté ; s_x = erreur-type de la moyenne.
VB = Vin de base
CM_1 = Méthode champenoise avec un an de conservation sur levures
CM_2 = Méthode champenoise avec deux ans de conservation sur levures
CH = Méthode en cuve close (Charmat)
CHT = Méthode en cuve close (Charmat avec traitement thermique)
$CHTM_1$ = Méthode en cuve close (Charmat) avec traitement thermique et vieillissement en bouteille (un an)
$CHTM_2$ = Méthode en cuve close (Charmat) avec traitement thermique et vieillissement en bouteille (deux ans)

TABLEAU IV

Analyse de la variance factorielle à deux facteurs en « mixed model »

	Source de variation					Erreur pour le test F		
	Sigle	D.L.	Variance	F	P	Sigle	D.L.	Variance
Asparagine	V (R)	2	30,3469	17,11	< 0,005	E	30	1,7732
	T (F)	1	198,8147	7,29	NS	VT	2	27,2561
	VT	2	27,2561	15,37	< 0,005	E	30	1,7732
Serine	V (R)	2	0,0183	0,026	NS	E	30	0,6951
	T (F)	1	15,5499	5,40	NS	VT	2	2,8792
	VT	2	2,8792	4,13	< 0,05	E	30	0,6951
Acide aspartique + Acide glutamique	V (R)	2	8,6206	44,22	< 0,005	E	30	0,1949
	T (F)	1	52,0105	3,19	NS	VT	2	16,3031
	VT	2	16,3031	83,64	0,005	E	30	0,1949
Glycine	V (R)	2	1,7957	17,27	0,005	E	30	0,1040
	T (F)	1	3,6075	1,29	NS	VT	2	2,7907
	VT	2	2,7907	26,84	0,005	E	30	0,1040
Alanine	V (R)	2	4,8792	8,53	0,005	E	30	0,5722
	T (F)	1	585,8417	67,21	0,025	VT	2	8,7167
	VT	2	8,7167	15,23	0,005	E	30	0,5722
Proline	V (R)	2	3218,6463	16,12	0,005	E	30	199,7082
	T (F)	1	3861,8568	0,99	NS	VT	2	3900,9878
	VT	2	3900,9878	19,53	0,005	E	30	199,7082

Valine	V (R)	2	2,3559	31,76	0,005	E	30	0,0742
	T (F)	1	0,5427	0,83	NS	VT	2	0,6577
	VT	2	0,6577	8,86	0,005	E	30	0,0742
Méthionine	V (R)	2	0,2989	0,84	NS	E	30	0,3569
	T (F)	1	0,5397	0,28	NS	VT	2	1,9083
	VT	2	1,9083	5,35	0,025	E	30	0,3569
Tryptophane	V (R)	2	0,6234	2,04	NS	E	30	0,3057
	T (F)	1	20,3356	3,37	NS	VT	2	6,0316
	VT	2	6,0316	19,73	0,005	E	30	0,3057
Phénylalanine	V (R)	2	4,1385	30,56	0,005	E	30	0,1354
	T (F)	1	0,7020	0,25	NS	VT	2	2,7903
	VT	2	2,7903	20,61	0,005	E	30	0,1354
Isoleucine	V (R)	2	24,4259	9,03	0,005	E	30	2,7049
	T (F)	1	0,5518	0,01	NS	VT	2	45,5567
	VT	2	45,5567	16,84	0,005	E	30	2,7049
Leucine	V (R)	2	0,8974	30,32	0,005	E	30	0,02959
	T (F)	1	0,0004	0,0006	NS	VT	2	0,6004
	VT	2	0,6004	20,29	0,005	E	30	0,02959
Lysine	V (R)	2	22,0087	114,68	0,005	E	30	0,1919
	T (F)	1	59,0823	3,95	NS	VT	2	14,9426
	VT	2	14,9426	77,86	0,005	E	30	0,1919
Tyrosine	V (R)	2	5,2766	8,58	0,005	E	30	0,6147
	T (F)	1	1,4189	0,67	NS	VT	2	2,1244
	VT	2	2,1244	3,46	0,05	E	30	0,6147

V = technologies de champagnisation
(R) = « aléatoire »
T = traitement thermique
(F) = « contrôlé »
NS = non significatif

II. — ETUDE COMPARATIVE DE LA TENEUR EN ACIDES AMINES DE VINS MOUSSEUX ELABORES, A PARTIR DU MEME VIN DE BASE, PAR DIFFERENTS PROCEDES

Dans le tableau II nous donnons les caractéristiques analytiques générales des divers échantillons.

On note des différences pour plusieurs substances en particulier pour les acides malique et lactique. En effet, dans les vins mousseux qui ont subi le traitement thermique (CHT, $CHTM_1$ et $CHTM_2$) la fermentation malolactique est achevée tandis que dans les autres vins (CH, CM_1 et CM_2) les teneurs en acide malique et lactique sont semblables à ceux du vin de base. Cela peut être dû au fait que le traitement thermique, comme nous l'avons mis en évidence dans un précédent travail (COLAGRANDE et *al.*, 1981), provoque une augmentation de la teneur en azote soluble, qui pourrait faciliter l'activité des bactéries lactiques, dans la brève période de conservation en cuve close après le traitement thermique. Les données concernant la composition en acides aminés, reportés dans le tableau III, permettent de remarquer que tous les vins mousseux, par rapport au vin de base, présentent une diminution de presque tous les acides aminés, sauf pour l'asparagine, la sérine, la glycine et la tyrosine.

a) **Evaluation statistique de l'influence des sources de variabilité (facteurs V, T, VxT) sur la composition aminée des vins mousseux.**

Les données du tableau III (composition aminée des divers échantillons) mettent en évidence quelques différences dans la composition aminée des vins mousseux pris en considération. L'analyse statistique effectuée, dont les critères sont exposés dans la partie expérimentale, nous a permis de vérifier si ces différences sont tout à fait aléatoires ou si elles dépendent des variables expérimentales.

Les résultats du tableau IV mettent en évidence que la combinaison entre la technologie d'élaboration (V) et le traitement thermique + la fermentation malolactique (T) exercent une influence significative sur la composition aminée des vins mousseux préparés avec des technologies différentes à partir du même vin de base.

En effet le test F calculé pour l'interaction VxT est significatif pour tous les acides aminés.

Parmi les facteurs pris en considération, V (lié à la méthode de prise de mousse et de conservation sur levures) est d'un intérêt tout à fait particulier car il donne une différenciation à l'intérieur de chacun des deux groupes (CH - CM_1 - CM_2) et (CHT - $CHTM_1$ - $CHTM_2$).

Pour ce facteur, le test F est significatif ou très significatif pour tous les acides aminés sauf pour la sérine, la méthionine et le tryptophane.

L'analyse statistique employée, nous a donc permis de vérifier que les différences trouvées dans le cadre aminé des vins mousseux examinés sont à attribuer soit au facteur V (technologie d'élaboration), soit à l'interaction entre ce facteur et le facteur T (traitement thermique + fermentation malolactique).

En effet, la variance dûe aux sources de variabilité est nettement supérieure à celle de l'erreur parmi les « repliqués ».

b) **Comparaison parmi les vins mousseux en base aux moyennes des différents acides aminés.**

Une fois établie la significativité de F pour les variables considérées, les moyennes de chaque acide aminé calculées pour les six vins mousseux ont été comparées par le test de Duncan (tableau V).

Pour ce qui concerne les vins mousseux préparés selon la méthode champenoise et la méthode en cuve close Charmat traditionnelle, la méthode champenoise de deux ans (CM_2) se différencie de façon significative de la méthode Charmat (CH) soit par les teneurs moyennes en alanine, valine, tryptophane, tyrosine (plus élevées dans la méthode champenoise) soit par les concentrations en asparagine, proline et isoleucine plus élevées dans le cas des vins élaborés par la méthode Charmat.

Quant aux échantillons élaborés par traitement thermique, les vins mousseux conservés sur levures en bouteille ($CHTM_1$ et $CHTM_2$) sont différents, de manière significative, du Charmat (CHT) pour les acides aminés suivants :

— acide aspartique + acide glumatique, glycine, valine, phénylalanine, leucine et en particulier lysine. Les teneurs en ces acides aminés sont plus élevées dans les échantillons $CHTM_1$ et $CHTM_2$ élaborés par la méthode champenoise après le traitement thermique en cuve close.

— alanine et tryptophane qui sont inférieures dans les échantilllons $CHTM_1$ et $CHTM_2$.

La différenciation est déjà significative après un an de séjour sur levures.

TABLEAU V

Résultats du test de Duncan ou « Duncan's multiple range tests »

(Les moyennes de chaque groupe de vins mousseux sont rangées par ordre décroissant)

ASPARAGINE mg/l (D = 2,34)			METHIONINE mg/l (D = 1,05)			ALANINE mg/l (D = 1,33)			LEUCINE mg/l (D = 0,30)		
sans TT	CH	15,14 **a**	*sans TT*	CM_2	9,23 **a**	*sans TT*	CM_2	26,61 **c**	*sans TT*	CM_2	2,82 **b**
	CM_2	9,95 **b**		CM_1	8,36 **a**		CM_1	25,02 **d**		CM_1	2,71 **b**
	CM_1	9,67 **b**		CH	8,21 **a**		CH	24,84 **d**		CH	2,71 **b**
avec TT	$CHTM_1$	16,56 **a**	*avec TT*	$CHTM_1$	9,03 **a**	*avec TT*	CHT	34,81 **a**	*avec TT*	$CHTM_2$	3,19 **a**
	CHT	16,40 **a**		CHT	8,95 **a**		$CHTM_2$	33,30 **b**		$CHTM_1$	2,85 **b**
	$CHTM_2$	15,91 **a**		$CHTM_2$	8,56 **a**		$CHTM_1$	32,56 **b**		CHT	2,22 **c**
SERINE mg/l (D = 1,46)			TRYPTOPHANE mg/l (D = 0,97)			PROLINE mg/l (D = 24,81)			LYSINE mg/l (D = 0,77)		
sans TT	CH	9,91 **abc**	*sans TT*	CM_2	5,79 **a**	*sans TT*	CH	597,61 **a**	*sans TT*	CM_2	6,90 **b**
	CM_1	9,43 **bc**		CM_1	5,50 **ab**		CM_2	548,46 **bc**		CM_1	6,55 **b**
	CM_2	8,97 **c**		CH	4,75 **b**		CM_1	538,89 **bc**		CH	6,28 **b**
avec TT	$CHTM_2$	11,22 **a**	*avec TT*	CHT	4,88 **ab**	*avec TT*	$CHTM_2$	556,55 **b**	*avec TT*	$CHTM_1$	10,76 **a**
	$CHTM_1$	10,84 **ab**		$CHTM_2$	3,42 **c**		CHT	536,46 **bc**		$CHTM_2$	10,34 **a**
	CHT	10,20 **abc**		$CHTM_1$	3,22 **c**		$CHTM_1$	529,81 **c**		CHT	6,31 **b**
ACIDE ASPARTIQUE mg/l (D = 0,78)			PHENYLALANINE mg/l (D = 0,65)			VALINE mg/l (D = 0,48)			TYROSINE mg/l (D = 1,33)		
sans TT	CM_2	11,51 **b**	*sans TT*	CM_2	4,97 **bc**	*sans TT*	CM_2	5,64 **a**	*sans TT*	CM_1	10,66 **ab**
	CH	11,45 **b**		CH	4,65 **c**		CM_1	4,86 **bc**		CM_2	10,28 **abc**
	CM_1	10,42 **c**		CM_1	4,57 **c**		CH	4,61 **cd**		CH	9,21 **c**
avec TT	$CHTM_1$	14,82 **a**	*avec TT*	$CHTM_2$	5,81 **a**	*avec TT*	$CHTM_1$	5,13 **b**	*avec TT*	$CHTM_2$	11,37 **a**
	$CHTM_2$	14,48 **a**		$CHTM_1$	5,42 **ab**		$CHTM_2$	4,99 **bc**		$CHTM_1$	10,12 **abc**
	CHT	11,30 **b**		CHT	3,82 **d**		CHT	4,26 **d**		CHT	9,84 **bc**
GLYCINE mg/l (D = 0,57)			ISOLEUCINE mg/l (D = 2,89)								
sans TT	CH	11,27 **b**	*sans TT*	CH	30,52 **a**						
	CM_2	11,21 **b**		CM_1	26,53 **b**						
	CM_1	10,92 **b**		CM_2	25,67 **b**						
avec TT	$CHTM_2$	12,38 **a**	*avec TT*	$CHTM_1$	30,39 **a**						
	$CHTM_1$	12,12 **a**		CHT	26,64 **b**						
	CHT	10,79 **b**		$CHTM_2$	26,43 **b**						

TT = traitement thermique à 42 °C pour 72 heures en cuve close

$D = Q_{0\,05} \cdot s_x$

($Q_{0\,05}$ = 4,3 pour 6 moyennes et 30 degrés de liberté)

a, b, c, d : indiquent les groupements selon le test de Duncan. Les moyennes représentées des mêmes lettres ne sont pas différentes de façon significative.

CONCLUSION

La composition des vins mousseux préparés à partir du même vin de base par les méthodes Charmat, champenoise, Charmat avec traitement thermique (42 °C pendant 72 heures en présence de levures immédiatement après la prise de mousse) et Charmat avec traitement thermique et vieillissement en bouteille en présence de levures, nous a permis de remarquer que les différences mises en évidence dans la composition aminée des vins mousseux examinés sont à attribuer à la technologie d'élaboration et à l'interaction de ce paramètre avec le traitement thermique et la fermentation malolactique.

En particulier le vin mousseux élaboré par la méthode champenoise avec deux ans de séjour sur levures (CM_2), comparé au vin mousseux élaboré en cuve close par la méthode Charmat (CH), présente des teneurs moyennes plus élevées en alanine, en valine, en tryptophane et en tyrosine et des teneurs plus basses en asparagine, en proline et en isoleucine.

Quant aux vins mousseux traités thermiquement (42 °C pendant 72 heures) les produits conservés en bouteille sur les levures après le traitement thermique en cuve close, présentent, en comparaison du vin traité thermiquement en cuve close mais non vieilli en bouteilles, des valeurs plus élevées en acide aspartique + acide glutamique, en glycine, en valine, en phénylalanine, en leucine et en lysine et des teneurs inférieures en alanine et en tryptophane. Les différences remarquées, même faibles, sont significatives selon le test de Duncan.

En particulier, dans le cas des vins mousseux élaborés en cuve close (méthode Charmat) et par la méthode champenoise, selon le processus traditionnel, la différenciation n'est significative qu'après un contact prolongé du vin mousseux avec les levures (2 ans) ; pour les produits traités thermiquement les différences sont déjà importantes après 1 an de contact.

De nos résultats, on peut conclure que les méthodes d'élaboration et, en particulier le séjour sur levures, comportent une redistribution des acides aminés des vins mousseux.

Les auteurs remercient le Professeur A. DEL RE (Faculté d'Agriculture de l'Université Catholique du Sacré-Cœur de Piacenza) pour l'aide donnée dans l'analyse statistique.

RÉSUMÉ

Les auteurs ont déterminé la composition en acides aminés de vins mousseux élaborés par différentes méthodes. L'étude a porté d'une part sur des vins du commerce et, d'autre part, sur des produits provenant d'un même vin de base.

Après traitement statistique des résultats concernant le second groupe d'échantillons, ils concluent à une redistribution des acides aminés en fonction des techniques d'élaboration et, plus particulièrement, du séjour sur levures.

SUMMARY

The authors have determined the composition in amino acids of sparkling wines produced by various methods. This research involved both commercially available wines and products from one and the same base wine.

After statiscal processing of the results, the authors reach the conclusion of a redistribution of the amino acids depending on the production techniques, and more particularly on the length of time spent on the yeasts.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Autoren haben die Zusammensetzung der Aminosäuren von Schaumweinen bestimmt, die nach verschiedenen Methoden ausgearbeitet wurden. Die Untersuchung erstreckte sich einerseits auf handelsübliche Weine und andererseits auf Erzeugnisse, die von dem gleichen Wein stammten.

Nach statistischer Auswertung der Ergebnisse der zweiten Probegruppe gelangen sie zu dem Ergebnis, dass eine Neuverteilung der Aminosäuren je nach Ausbaumethode und insbesondere je nach Aufenthaltsdauer auf Hefe vorliegt.

RESUMEN

Los autores han determinado la composiciôn en amino-âcidos de vinos espumosos elaborados segun diferentes métodos.

El estudio ha sido llevado a cabo de una parte sobre vinos del comercio y, de otra parte, sobre productos provenientes del mismo vino de base.

Después de un tratamiento estadîstico de los resultados, concernientes al segundo grupo de muestras, llegan a la conclusiôn que hay una redistribuciôn de aminoâiidos que es funciôn de las técnicas de elaboraciôn y, en particular, de la permanencia sobre levaduras.

RIASSUNTO

Gli autori hanno determinato la composizione amminoacidica di vini spumanti prodotti con metodi differenti. Sono stati presi in considerazione sia spumanti del commercio, sia spumanti ottenuti a partire dallo stesso vino base.

Il trattamento statistico dei risultati relativi a questi ultimi campioni ha messo in evidenza una ridistribuzione degli amminoacidi in funzione delle tecniche di spumantizzazione e, in particolare, del soggiorno sui lieviti.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERGNER K., 1968. Les acides aminés dans les vins mousseux et leur variation en fonction des procédés de fabrication. *Bull. O.I.V.*, **41**, 460-467.

BIDAN P., 1975. Les vins mousseux. *Série Synthèses Bibliographique n. 7*, C.D.I.U.P.A., Massy (France).

CARBALLO CAABEIRO J., 1968. Contribution à l'étude des acides aminés dans les vins mousseux espagnols. *Semana Vitivinicola,* **23**, 1177-1179.

CASOLI A. et COLAGRANDE O., 1981. Applicazione della cromatografia liquida ad alta pressione al dosaggio degli amminoacidi presenti nei vini. *Procédés Simposio Internazionale sui vini spumanti,* 10-11 giugno, Salice Terme (Pv - Italie).

CASOLI A. et COLAGRANDE O., 1981. Use of high-performance liquid chromatography for the determination of amino acids in sparkling wines. *Am. J. Enol. Viticult.,* **33**, 135-139.

COLAGRANDE O. et MAZZOLENI V., 1977. Etude des caractères analytiques des vins mousseux italiens. *Connaissance Vigne Vin,* **11**, N° 4, 325-337.

COLAGRANDE O. et SILVA A., 1981. Considerazioni analitiche e tecnologiche sui diversi costituenti azotati dei vini spumanti. *Procédés Simposio Internazionale sui vini spumanti,* 10-11 giugno, Salice Terme (Pv - Italie).

COLAGRANDE O. et SILVA A., 1981. Aspects qualitatifs et technologiques de l'application des méthodes thermiques dans la production des vins mousseux. *Connaissance Vigne Vin,* **15**, N° 3, 179-192.

DE FRANCESCO F. et MARGHERI G., 1973. Sulla composizione chimica degli spumanti. - Nota II. *Vini d'Italia,* **15**, 257-261.

FEUILLAT M., 1981. L'autolyse des levures dans le vin de champagne. *Procédés Simposio Internazionale sui vini spumanti,* 10-11 giugno, Salice Terme (Pv - Italie).

FEUILLAT M. et CHARPENTIER C., 1982. Autolysis of yeasts in champagne. *Am. J. Enol. Viticult.,* **33**, 6-13.

KUNSCH U., TEMPERLI A. et MAYER K., 1974. Conversion of arginine to ornithine during malo-lactic fermentation in red swiss wine. *Am. J. Enol. Viticult.,* **25**, 191-193.

KUNSCH U., TEMPERLI A., PAUSE G. et MAYER K., 1975. Free amino-acids content of some res swiss wines during vinification. *Die - Wein Wissen,* **30**, 271-278.

LE CLERG E.L., 1962. Field Plot Tecnique. *Burgess Publishing Company,* Minneapolis.

LEGGET BAILEY I., 1967. Techniques in protein chemistry. *Elsevier Publishing Company,* Amsterdam.

LOYAUK D., 1977. Contribution à l'étude du vieillissement des vins de Champagne. *Mémoire de fin d'étude,* Ecole Nationale d'Ingénieurs de Travaux Agricoles, Dijon.

LOYAUX D., ROGER S. et ADDA J., 1981. The evolution of champagne volatiles during ageing. *J. Sci. Food Agric.,* **32**, 1254-1258.

MARGHERI G., 1971. Amminoacidi liberi nei mosti, nei vini e negli spumanti. - I° nota sugli spumanti. *Procédés Simposio Internazionale Technicon « Automazione per la medicina e l'industria »,* 15-18 aprile, Roma (Italie).

MARGHERI G., GIANOTTI L., MATTAREI C. et PELLEGRINI R., 1982. Evoluzione degli amminoacidi liberi nel corso della elaborazione dei vini spumanti. *Vigne Vini,* **9**, 19-30.

MAYER K., PAUSE G., VETSCH U., KUNSCH U. et TEMPERLI A., 1973. Amino-acids contents occuring during production of certain red wines. *Mitt. Rebe Wein,* **23**, 331-340.

MAZZOLENI V., 1981. Osserzazioni su spumanti italiani prodotti con metodo champenois. *Procédés Simposio Internazionale sui vini spumanti,* 10-11 giugno, Salice Terme (Pv - Italie).

PERIN J. et LLORCA S., 1974. Allure générale de l'évolution des matières azotées au cours de la vinification et de la champagnisation. *Vigneron Champenois,* **7/8**, 272-283.

RECUEIL des méthodes d'analyse des vins, 1972. Annexe A 20, **1-4**, *O.I.V.* Paris.

RODOPULO A., PISARNICKJ A., BEZZUBOV A. et EGOROV I., 1970. Détermination des composants du bouquet du vin mousseux. *Vinod. Vinog.,* **30**, 13-17.

SNEDECOR G. A. et COCHRAN W. G., 1973. Statistical methods. *Iowa St. Univ. Press Ames,* Iowa, USA.

SPETTOLI P. et ZAMORANI A., 1982. Gli alcoli superiori e gli amminoacidi liberi nella spumantizzazione in bottiglia dei vini. *Tecnologia alimentare,* **5**, 21-25.

SUAREZ M. A., POLO MC. et LLAGUNO L., 1979. Etude de la composition des vins mousseux pendant la prise de mousse au cours du vieillissement en bouteilles. *Connaissance Vigne Vin,* **13**, N° 3, 199-217.

WEILLER H. G. et RADLER F., 1976. On the metabolism of amino-acids by actic bacteria isolated from wines. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.,* **161**, 259-266.