**L'azote : un nutriment à optimiser !**

**Pauline Seguinot1, Stéphanie Rollero1, Thomas Ochando1, Erick Casalta1, Evelyne Aguera2, Vincent Farines1, Jean-Marie Sablayrolles1 et Jean-Roch Mouret1**

1 UMR SPO : INRA, Université Montpellier, Montpellier SupAgro – 34060, Montpellier

2 UE Pech Rouge : INRA – 11430 Gruissan

**Contact** : jean-roch.mouret@inra.fr

Introduction

La fermentation alcoolique est une étape clé en œnologie. Son déroulement a un impact direct sur la qualité du vin et la filière montre un intérêt croissant pour les approches qui permettraient de mieux comprendre et de contrôler la fermentation en fonction du type de vin souhaité et du moût utilisé. L’ajout d’azote au cours de la fermentation est devenu une pratique courante car il permet de réduire le temps de fermentation. Cependant, la quantité, le timing d’ajout et la nature de l’azote ajouté ont également un impact sur la production des arômes fermentaires.

L’UMR SPO et l’UE de Pech Rouge ont développé depuis de nombreuses années des outils permettant de suivre en ligne la réaction principale (1) de la fermentation (bioconversion du sucre en éthanol et CO2) et plus récemment un équipement innovant de suivi en ligne des arômes fermentaires (2). Ces deux dispositifs nous permettent de déterminer avec précision (i) la vitesse instantanée de fermentation, (ii) la durée de la fermentation, (iii) l’énergie nécessaire pour le contrôle de la température et (iv) les cinétiques de synthèse des principaux alcools supérieurs et esters produits au cours de ce procédé.

L’objectif de notre étude est de présenter les effets d’un ajout de nutriments azotés sur la cinétique fermentaire et sur les molécules d’arôme les plus abondantes, à savoir les alcools supérieurs et les esters.

Résultats

Avant de détailler nos résultats, nous souhaitons insister sur le fait qu’un ajout d’azote n’est efficace que lorsque ce nutriment est bien l’élément limitant de la fermentation. Dans le cas contraire, un ajout d’azote n’a pas l’effet escompté et peut même avoir un effet très négatif sur la cinétique fermentaire. En particulier, dans le cas de mouts très fortement clarifiés (turbidité < 40 ou 60 NTU), l’élément limitant n’est pas la teneur en azote assimilable mais la teneur en phytostérols. Une carence en composé lipidique va conduire à une hausse de la production d’acide acétique, une forte baisse de la viabilité cellulaire et un allongement très important de la durée de la fermentation (3), voire à un arrêt de la fermentation. Dans ce cas précis, les seuls moyens de restaurer la viabilité cellulaire sont un ajout initial de bourbes ou un ajout d’O2 en cours de fermentation (3, 4). L’ajout d’azote n’aura aucun effet positif sur le déroulement de la fermentation et ne fera, au contraire, qu’aggraver le déséquilibre nutritionnel entre l’azote et les lipides.

Dans un premier temps, nous avons étudié l’impact d’un ajout initial d’azote assimilable. Un ajout initial de ce nutriment va entraîner, comme déjà observé dans d'autres études (1), une augmentation du nombre final de cellules et de la vitesse maximale de fermentation (figure 1). Il est important de noter que cet ajout initial d’azote n’a aucun impact sur la viabilité cellulaire.



Figure 2 : Evolution de la vitesse de production de CO2 en fonction du temps pour différentes teneurs d’azote initial. Les fermentations ont été réalisées en moût synthétique avec la souche Lalvin EC1118®.

D’un point de vue technologique, nous observons une réduction du temps de fermentation et une hausse de la puissance énergétique instantanée nécessaire à la régulation de la température. Concernant les arômes fermentaires, les conséquences de ces ajouts initiaux varient en fonction des composés étudiés (2, 5). Pour les alcools supérieurs, nous avons observé l’existence d’une concentration optimale en azote (200-250 mgN/L), à l’exception du propanol. A l’inverse, les concentrations en esters d’acétate et d’éthyle augmentent avec le contenu initial en azote (figure 2). Il est important de noter que si un ajout majeur d’azote initial permet une forte hausse de la teneur en esters dans les vins, il entraîne également une augmentation importante de la demande énergétique nécessaire au maintien de la température de fermentation. Par conséquent, si une gestion thermique n’est pas possible, un ajout initial d’azote va entraîner une hausse de la température fermentaire et donc une perte importante d’esters par évaporation (2).



Figure 2 : Evolution des concentrations finales en alcools supérieurs, esters d’acétate et esters d’éthyle en fonction de la quantité initiale en azote dans le moût. Les fermentations ont été réalisées en moût synthétique avec la souche Lalvin EC1118®.

Dans la suite de notre étude, l’effet d’un ajout d’azote en cours de fermentation a été évalué. Suite à un ajout d’azote en cours de fermentation, le nombre de cellules reste inchangé mais une reprise de l’activité fermentaire est observée (6). En terme de durée de fermentation, un ajout d’azote en cours de procédé se révèle plus efficace qu’un ajout initial (figure 3).



Figure 3 : Evolution de la cinétique fermentaire en fonction de la quantité initiale en azote dans le moût pour différents types d’ajout d’azote : témoin sans ajout (bleu), ajout au début de DAP (vert foncé) ou d’acides aminés (rouge foncé), ajout en cours de fermentation, représenté par la flèche, de DAP (vert clair) et d’acides aminés (rouge clair). Les fermentations ont été réalisées avec la souche Lalvin EC1118® sur un moût synthétique contenant 100 mg/L d’azote assimilable ; l’azote ajouté correspond à 70 mg/L.

L’impact d’un ajout d’azote en cours de fermentation sur les composés d’arômes varie en fonction de la molécule considérée (6) : (i) les concentrations en alcools supérieurs restent inchangées, (ii) l’effet sur la teneur finale en esters d’éthyle reste modéré et (iii) une forte hausse de la production des esters d’acétate est observée (figure 4).



Figure 4 : Evolution de la concentration en acétate d’isoamyle en fonction du sucre consommé pour différents types d’ajout d’azote. Les fermentations ont été réalisées avec la souche Lalvin EC1118® sur un moût synthétique contenant 100 mg/L d’azote assimilable ; l’azote ajouté correspond à 70 mg/L.

Il est surprenant que les conséquences d’un tel ajout soient très différentes entre les alcools supérieurs et les esters d’acétate car les alcools supérieurs sont les précurseurs directs des esters d’acétate. Nous avons pu démontrer que l’ajout d’azote en cours de fermentation entraîne une surexpression des gènes codant pour l’enzyme responsable de la bioconversion entre ces deux types de composés (6) et donc à une forte hausse du rendement (figure 5). Un ajout d’azote en cours de fermentation permet donc de « découpler » les esters d’acétate des alcools supérieurs et d’orienter le profil organoleptique des vins vers des arômes plus « fruités ». Enfin, d’un point de vue applicatif, nous constatons que, pour les esters d’acétate, l’ajout d’azote en cours de fermentation est nettement plus efficace qu’un ajout initial (figure 4). Pour ces mêmes molécules, l’effet d’un ajout d’azote organique apparaît supérieur à celui d’un ajout d’azote minéral.



Figure 5 : Evolution de la cinétique fermentaire en fonction de la quantité initiale en azote dans le moût pour différents types d’ajout d’azote : témoin sans ajout (bleu), ajout au début de DAP (vert foncé) ou d’acides aminés (rouge foncé), ajout en cours de fermentation, représenté par la flèche, de DAP (vert clair) et d’acides aminés (rouge clair). Les fermentations ont été réalisées avec la souche Lalvin EC1118® sur un moût synthétique contenant 100 mg/L d’azote assimilable ; l’azote ajouté correspond à 70 mg/L.

Ce travail ouvre de larges perspectives en termes de stratégies de contrôle de la fermentation alcoolique œnologique. Toutefois, nous savons que la gestion des nutriments azotés ne se fait pas uniquement au cours du procédé fermentaire mais aussi au cours de la croissance de la vigne.

L’objectif du projet FUI « NV2 » (2017-21) est justement de proposer aux vignerons et aux œnologues une approche intégrée, de la vigne à la cave, de la gestion de l’azote en fonction du profil de vin visé. Ce projet est mené en partenariat entre les sociétés ITK (leader du projet), Nyséos, Frayssinet, Lallemand, l’université de Montpellier et l’INRA de Montpellier (UMRs LEPSE, SYSTEM, MISTEA et SPO). Au cours de ce projet, deux cépages sont évalués – sauvignon et merlot - et les arômes étudiés sont à la fois les alcools supérieurs et les esters mais aussi les thiols variétaux.

Références bibliographiques

(1) Sablayrolles JM (2009). Control of alcoholic fermentation in winemaking. Current situation and prospects. Food Res Int, 42, 418-424.

(2) Mouret JR, Camarasa C, Angenieux M, Aguera E, Perez M, Farines V and Sablayrolles JM. (2014). Kinetic analysis and gas–liquid balances of the production of fermentative aromas during winemaking fermentations: Effect of assimilable nitrogen and temperature. Food Res Int, 62, 1–10.

(3) Ochando T, Mouret JR, Humbert-Goffard A, Sablayrolles JM and Farines V (2017). Impact of initial lipid content and oxygen supply on alcoholic fermentation in champagne-like musts. Food Res. Int., 98, 87-94.

(4) Casalta E, Cervi MF, Salmon JM and Sablayrolles JM (2013). White wine fermentation: interaction of assimilable nitrogen and grape solids. Aust J Grape Wine R, 19, 47-52.

(5) Rollero S, Bloem A, Camarasa C, Sanchez I, Ortiz-Julien A, Sablayrolles JM, Dequin S and Mouret JR (2015). Combined effects of nutrients and temperature on the production of fermentative aromas by Saccharomyces cerevisiae during wine fermentation. Appl Microbiol Biot, 99, 2291-2304.

(6) Seguinot P, Rollero S, Sanchez I, Sablayrolles JM, Ortiz-Julien A, Camarasa C and Mouret JR (2018). Impact of the timing and the nature of nitrogen additions on the production kinetics of fermentative aromas by Saccharomyces cerevisiae during winemaking fermentation in synthetic media. Food Microbiol, 76, 29-39.