



HAL
open science

Le contrôle de la fermentation alcoolique en conditions œnologiques. L'azote oui mais...

Erick Casalta, Jean-Roch Mouret, Jean-Marie Sablayrolles

► To cite this version:

Erick Casalta, Jean-Roch Mouret, Jean-Marie Sablayrolles. Le contrôle de la fermentation alcoolique en conditions œnologiques. L'azote oui mais.... La revue des œnologues et des techniques vitivinicoles et œnologiques, 2021, 181, pp.38-41. hal-03362059

HAL Id: hal-03362059

<https://hal.science/hal-03362059>

Submitted on 1 Oct 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Le contrôle de la fermentation alcoolique en conditions œnologiques

L'azote, oui mais...

Erick Casalta¹, Jean-Roch Mouret², Jean-Marie Sablayrolles²

¹ Ingénieur de recherche.

² Directeur de recherche.

^{1,2} Sciences pour l'œnologie – INRAE – Univ. Montpellier – Institut Agro – Montpellier – France.

Introduction

Le contrôle de la fermentation œnologique est essentiel et, si de nombreux progrès ont été réalisés ces dernières années, de nouveaux défis sont apparus et certains problèmes persistent. En effet, la composition des moûts a beaucoup évolué, avec en particulier des teneurs en sucre de plus en plus élevées, et les souches de levures utilisées sont de plus en plus nombreuses et diverses.

Cet article propose, à la lumière de résultats récents, de faire le point sur (i) le rôle des principaux nutriments et les différentes situations engendrées par leur carence et (ii) les modes de conduite les mieux adaptés à ces situations. Il est principalement focalisé sur la fiabilisation de la fermentation, sachant qu'il s'agit d'un préalable indispensable à la gestion de la qualité.

Le rôle des nutriments

L'azote assimilable

L'azote a fait l'objet de nombreux travaux et son rôle est aujourd'hui bien connu. Casalta *et al.* (2016) ont comparé différentes méthodes de dosage de l'azote assimilable dans les moûts, et confirmé que l'azote ammoniacal et les acides aminés libres, mais aussi certains peptides, peuvent être assimilés par les levures. Parmi les acides aminés, certains sont assimilés de façon prioritaire (Crépin *et al.*, 2013) à l'inverse de la proline qui n'est pas assimilable. On peut aussi noter le cas de l'arginine, qui est un des acides aminés les plus abondants et dont la teneur en azote assimilable est sous-estimée par la plupart des méthodes de dosage. En effet, seule la fonction imine n'est pas assimilable et 3 N sur 4 peuvent être métabolisés. Les teneurs en azote assimilable sont très variables selon les moûts et leur origine, comme indiqué dans le **tableau 1**.

Les teneurs varient en fonction de différents paramètres: cépage, niveau de maturité, pluviométrie, etc. En France, de façon générale, les carences azotées sont plus fréquentes dans les vignobles méridionaux, même si une tendance à la baisse des concentrations a été observée au cours des dernières décennies, notamment dans

les zones septentrionales telles que la Champagne.

Une relation directe entre les concentrations d'azote assimilable et les vitesses de fermentation a été décrite par Bely *et al.* (1990), indiquant que ce nutriment est celui qui est généralement limitant dans les moûts. Ainsi, les faibles teneurs peuvent être considérées comme les principales causes des « fermentations lentes », caractérisées par une vitesse faible tout au long du procédé. Ces fermentations doivent être distinguées des « fermentations languissantes », pouvant conduire à des arrêts de fermentation, caractérisées par une vitesse très lente uniquement à la fin du procédé, qui sont en lien avec une forte mortalité des levures et sont causées par d'autres types de carences (cf. paragraphe « Quelles conséquences sur la gestion de la fermentation ? »).

Il existe des situations dans lesquelles l'azote n'est pas le nutriment limitant, plus particulièrement lors des vinifications en blanc. Deux phénomènes principaux peuvent être responsables de ces situations:

- des concentrations très élevées d'azote assimilable dans les moûts. Au-delà d'environ 400 mg/L, l'azote n'a aucun effet positif sur la cinétique de la fermentation (Malherbe *et al.*, 2004) et peut donc être considéré comme non limitant d'un point de vue métabolique;

- des concentrations très faibles en d'autres nutriments, principalement en composés lipidiques.

Les lipides / phytostérols

Le rôle des lipides au cours de la fermentation alcoolique a été réévalué au cours des dernières années (Casalta *et al.*, 2016), en intégrant son interaction avec les autres nutriments, en premier lieu l'azote.

Les particules solides des bourbes constituent la source principale des lipides du moût, principalement sous forme de phytostérols et d'acides gras. De ce fait, les moûts très clarifiés lors de vinifications en phase liquide correspondent à une situation de carence en lipides potentiellement problématique.

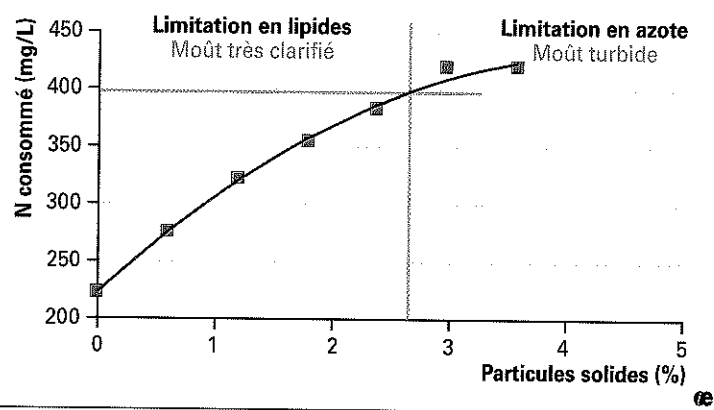
Les composés lipidiques sont nécessaires pour une bonne assimilation de l'azote

Comme indiqué sur la **figure 1**, plus la teneur en particules solides – et donc en lipides – est élevée, plus la consommation d'azote est importante. Dans cet exemple, un ajout d'environ 3 % de particules solides permet une consommation de la totalité de l'azote assimilable et ainsi le passage d'une limitation en lipides à une limitation en azote. Ce changement de nutriment limitant constitue un point essentiel pour une bonne gestion de la fermentation (cf. paragraphe « Quelles conséquences sur la gestion de la fermentation ? »). De façon logique, l'augmentation de la consommation d'azote se traduit par des populations levuriennes plus importantes et des vitesses de fermentations

■ **Tableau 1 : Teneurs des moûts en azote assimilable.**

Auteurs	Pays/État	Nb de moûts	Concentrations (mg/L)	Concentration moy. (mg/L)
Bely <i>et al.</i> , 1990	France	90	53 - 444	175
Butzke, 1998	Californie	1523	40-559	213
Nicolini <i>et al.</i> , 2004	Italie	600	30-400	136
Petrovic <i>et al.</i> , 2019	Afrique du Sud	805	45-484	191

■ **Figure 1 : Importance de la concentration en particules solides sur la consommation d'azote assimilable** (moût à 400 mg N/L initialement très clarifié).



plus élevées. Ceci est illustré par la **figure 2** qui montre l'effet de l'ajout de phytostérols sur la cinétique fermentaire d'un moût synthétique initialement dépourvu de lipides.

La quantité de phytostérols nécessaires pour épuiser l'azote assimilable est dépendante de la teneur initiale en azote, comme indiqué sur le **tableau 2** (Casalta et al., 2018). Cette quantité est aussi fonction de la souche de levure utilisée (Crépon, 2018; Piva-Girardi, communication personnelle) et on peut considérer qu'elle est généralement comprise entre 3 et 8 mg/L (Luparia et al., 2004, Ochando et al., 2017).

› **Les composés lipidiques permettent une meilleure viabilité des levures**

L'autre intérêt majeur des phytostérols est de conférer aux levures une meilleure résistance

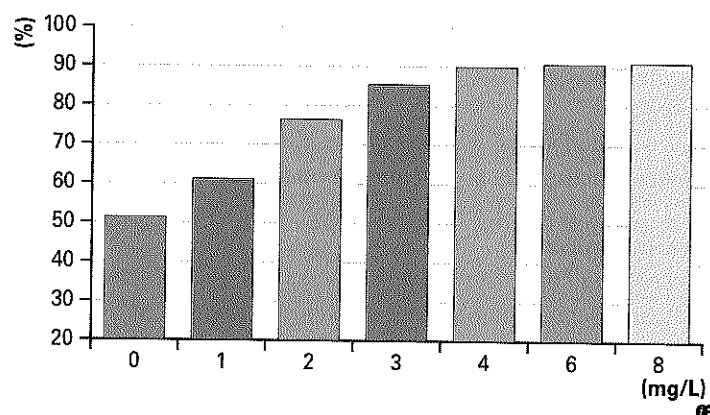
au stress éthanol au niveau de leur membrane, ce qui se traduit par une meilleure viabilité en fin de fermentation (**figure 3**).

Par ailleurs, récemment, Duc et al. (2017) ont mis en évidence un autre mécanisme en faveur des limitations en azote plutôt que les limitations en lipides. En effet, ces auteurs ont démontré que la disponibilité de l'azote joue un rôle clé dans la mort des cellules de levure en interaction avec les limitations en micronutriments, en particulier les lipides et ont conclu que les risques de mortalité cellulaire sont plus faibles dans le cas de moûts limités en azote.

L'oxygène

En cours de fermentation, son rôle principal porte sur la synthèse lipidique (stérols plus particulièrement l'ergostérol et acides gras insaturés). L'ergostérol confère à la membrane des

■ **Figure 3 : Évolution de la viabilité de la souche EC1118 en fonction de la concentration en stérols du moût à 80 % de la fermentation.**

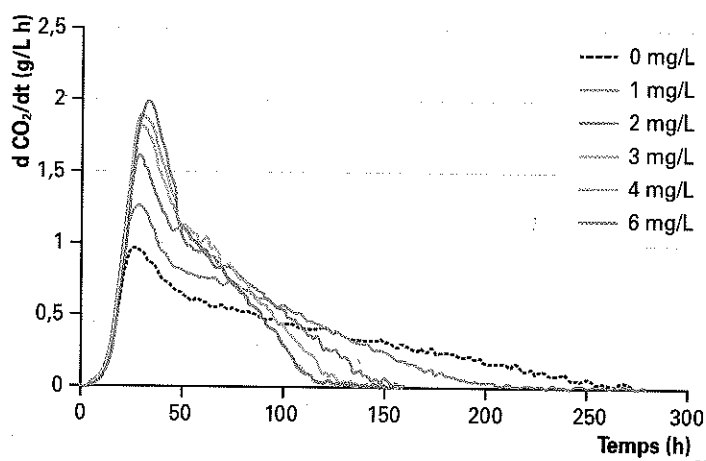


■ **Tableau 2 : Besoins en phytostérols de la levure *Saccharomyces cerevisiae* Lalvin EC1118 en fonction du niveau d'azote du moût.**

Teneur en azote assimilable du moût (mg/L)	Jusqu'à 220	250	300	350
Concentration en phytostérols pour une assimilation totale de l'azote (mg/L)	0	0,5	1,5	3,0

levures une résistance à l'éthanol ce qui se traduit par une meilleure viabilité des cellules notamment en fin de fermentation. Dans le cas des moûts très clarifiés, un apport d'oxygène améliore, lui aussi, la consommation de l'azote par la levure, avec des conséquences importantes sur la croissance et la cinétique fermentaire. Ainsi, les effets bénéfiques de l'oxygène en font un « nutriment » potentiellement très intéressant.

■ **Figure 2 : Effet de l'ajout de phytostérols sur la cinétique de fermentation** (moût synthétique dépourvu de lipides).



NOUVELLE LEVURE

SafOenoTM SH 12

E2U[®]
EASY TO USE

POUR RÉVÉLER
DES THIOLS INTENSES
ET HARMONIEUX

Cette levure sèche active rehausse les notes de fruits, notamment celles des descripteurs thiols. Sa fraîcheur apporte un bel équilibre et une persistance aromatique en bouche. Elle est idéale pour les vins blancs et rosés fruités, riches et complexes en thiols. Pour en savoir plus, retrouvez-nous sur www.fermentis.com



Étant donné qu'il joue avant tout sur la synthèse de lipides, son effet est voisin de celui des phytostérols. On peut cependant remarquer que :

- seuls les phytostérols réduisent la production d'acide acétique (Ochando et al., 2017);
- à l'inverse, l'effet sur la viabilité cellulaire est plus important avec l'oxygène.

Il y a donc parfois intérêt à combiner les deux (cf. paragraphe « Quelles conséquences sur la gestion de la fermentation ? »)

Les vitamines

Ce sont des composés qui agissent en tant que cofacteurs enzymatiques dans de nombreuses réactions du métabolisme levurien. La concentration des moûts en vitamines est en général suffisante pour assurer la fermentation alcoolique et malolactique (Nicolini et al., 2018). Cependant, certaines situations, notamment les moûts fortement contaminés, peuvent conduire à des carences en thiamine, la vitamine qui est la plus rapidement consommée et qui est la seule dont l'ajout est autorisé. Il est à noter que :

- son ajout a un effet d'autant plus bénéfique que le moût est riche en azote (Bataillon et al., 1996);
- généralement, la thiamine est associée à d'autres nutriments dans les produits commerciaux, ce qui évite de raisonner les ajouts de thiamine de façon indépendante.

Quelles conséquences sur la gestion de la fermentation ?

Le paragraphe précédent confirme le fait que l'azote est un nutriment clé mais avec un rôle plus complexe que celui qui lui est souvent attribué. En effet, il est à la fois essentiel pour assurer des vitesses de fermentation élevées mais il peut avoir un effet néfaste sur les achèvements de fermentation s'il est ajouté de façon non maîtrisée ou en quantité excessive. En effet, dans ce cas, il n'est plus le nutriment limitant de la fermentation, ce qui augmente les risques de mortalité cellulaire. Par ailleurs, la gestion de l'azote ne peut être raisonnée seule car ce nutriment intervient en interaction avec d'autres, en premier lieu les lipides, présents dans les bourbes, et l'oxygène. Globalement, en considérant ces trois paramètres, on peut résumer la gestion de la fermentation par le logigramme suivant (figure 4).

L'azote est-il le nutriment limitant ?

Il s'agit d'estimer si les conditions sont réunies pour un épuisement de l'azote assimilable. Il est important de noter que les levures peuvent potentiellement consommer des quantités très importantes d'azote, jusqu'à plus de 400 mg/L (Bely et al., 1990). Cette notion de « limitation par l'azote », qui représente un état physiologique des levures, est donc bien distincte de celle de « carence en azote » qui correspond à un seuil d'intérêt technologique, en deçà duquel il est recommandé de réaliser des ajouts azotés pour réduire la durée de fermentation. Concrètement, la plupart des situations œnologiques sont caractérisées par une limitation par l'azote. La principale exception est, en vinification en blanc ou rosé, celle des moûts très clarifiés, avec de fortes teneurs en azote assimilable ; par exemple, une turbidité inférieure à 50 NTU et une teneur en azote supérieure à 300 mg/L. Cette situation, caractérisée par une limitation par les lipides, n'est pas exceptionnelle, notamment en champagne (Ochando et al., 2017). Dans ce cas, l'intervention la plus logique consiste à rajouter des bourbes, sources de phytostérols. Comme indiqué précédemment, les besoins en phytostérols se situent généralement dans une fourchette de 3 à 8 mg/L, mais ce dosage est difficilement réalisable en

cave. En pratique, il est plus réaliste de mesurer la turbidité (au moins 100-150 NTU) ou le pourcentage de solides (3-4 %) même si ces valeurs ne reflètent qu'imparfaitement les teneurs en phytostérols.

L'azote est-il en quantité suffisante ?

Après s'être assuré que tout l'azote disponible peut être assimilé, il convient de se questionner sur la pertinence d'en rajouter. Les moûts sont généralement considérés comme carencés en azote lorsqu'ils ont des teneurs inférieures à environ 150 mg/L d'azote assimilable. Dans ce cas, il est logique de réaliser des apports mais ceux-ci doivent être raisonnés :

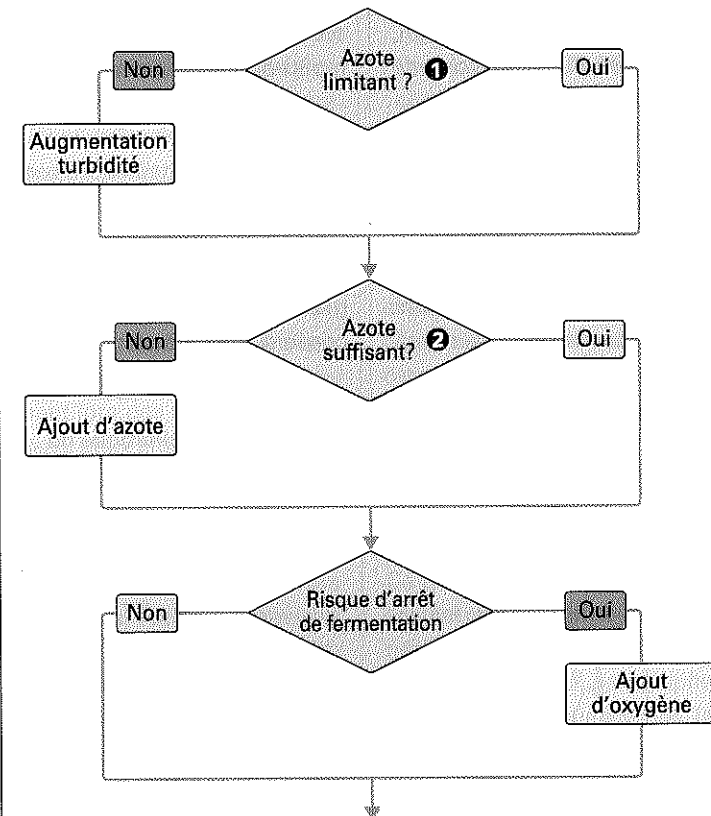
- il est à présent possible d'ajouter des concentrations très élevées d'azote assimilable mais des ajouts supérieurs à 50-100 mg/L sont généralement inutiles, voire contre productifs car ils peuvent ne pas être assimilés en totalité;

- le moment d'ajout optimal, vis-à-vis de la cinétique fermentaire, est environ au 1/3 de la fermentation (Bely et al., 1990) car il permet une très forte réactivation du métabolisme levurien;
- l'ajout peut être réalisé sous forme de sel d'ammonium ou d'azote organique. Les effets sur la cinétique sont quasi-équivalents (Seguinot et al., 2019). Par contre, le choix de la source azotée peut constituer un moyen d'influer sur les caractéristiques aromatiques (cet aspect n'est pas développé dans cet article).

Y a-t-il un risque d'arrêt de fermentation ou de fermentation languissante ?

Les arrêts de fermentation (avec présence de sucres résiduels) ou les fermentations languissantes (avec une très longue phase d'achèvement de la fermentation) sont caractérisés par des mortalités importantes des levures. Ces fermentations

■ Figure 4: Logigramme de la gestion nutritionnelle de la fermentation.



- ① l'azote est le nutriment limitant pour les levures. La totalité de l'azote assimilable est consommée (jusqu'à environ 400 mg/L) ;
- ② l'azote assimilable est en quantité suffisante pour assurer une bonne vitesse de fermentation (en pratique, environ 150 mg/L).

sont surtout observées lorsque les concentrations en éthanol sont très élevées (*Blateyron et Sablayrolles, 2001*), mais elles sont aussi favorisées par certaines souches de levures ainsi que par les situations où l'azote n'est pas le nutriment limitant, en premier lieu les moûts très clarifiés.

Pour lutter contre ces fermentations à risque, la meilleure stratégie consiste à ajouter de l'oxygène afin de provoquer la synthèse d'ergostérol et ainsi améliorer la résistance membranaire vis-à-vis de l'éthanol. Il est à noter que la mise en œuvre de l'oxygénation demeure souvent mal maîtrisée. En effet, pour obtenir un effet optimal, il est nécessaire de maîtriser à la fois la quantité transférée (une dizaine de mg/L) et le moment d'ajout (fin de la phase de croissance) (*Sablayrolles et Barre, 1986*). C'est en effet dans ces conditions que l'oxygène (i) est quasi exclusivement consommé par les levures et non par les différents systèmes enzymatiques et (ii) a un effet maximal sur le métabolisme.

Comme indiqué sur le logigramme (*figure 4*):

– dans le cas des moûts carencés en azote, il convient de coupler l'oxygénation à un ajout d'azote. Blateyron et Sablayrolles (2001) ont évalué l'efficacité de tels ajouts combinés sur 72 moûts conduisant à des difficultés d'achèvement de fermentation. Dans tous les cas, ces ajouts ont entraîné (i) une diminution spectaculaire (de 44 % en moyenne) de la durée de la fermentation pour les fermentations languissantes ou (ii) l'épuisement du sucre pour les moûts conduisant initialement à des arrêts de fermentation;

– dans le cas des moûts très clarifiés, il est recommandé d'augmenter au préalable la turbidité, à 100 à 150 NTU, afin d'assurer la consommation d'azote assimilable. Plus la teneur en azote est élevée, plus il faudra augmenter la turbidité.

Y a-t-il d'autres mécanismes possibles?

La stratégie décrite ci-dessus permet de répondre à la grande majorité des situations à risques. Elle n'est cependant pas exhaustive et l'on peut aussi noter que: – l'apport de nutriments complexes soit en cours de fermentation, soit avant la phase de réhydratation, peut permettre de combiner l'effet bénéfique des nutriments azotés et lipidiques; – l'augmentation du taux d'ensemencement en levain est aussi un moyen de favoriser la survie finale des levures et de limiter ainsi les risques d'arrêts de fermentation; – d'autres mécanismes peuvent intervenir tels que les limitations en d'autres nutriments (sels minéraux, etc.) ou la présence d'inhibiteurs (pesticides, etc.) mais ils semblent relativement marginaux.

Enjeux actuels/perspectives

L'emploi de plus en plus répandu de levures non-*Saccharomyces* en association avec *Saccharomyces* est une piste prometteuse pour répondre à des enjeux tels que l'augmentation de la complexité et de la diversité aromatique ou la réduction de la teneur en éthanol des vins. La mise en œuvre, en particulier sous forme de cultures séquentielles, nécessite de revisiter les stratégies de gestion de la nutrition. Plusieurs travaux sont actuellement menés en ce sens (*Lencioni et al., 2016; Seguinot et al., 2020*).

À plus long terme, la prise en compte simultanée de plusieurs paramètres (gestion de la cuverie, frigories et, bien sûr, aspects qualitatifs) pourra être favorisée par des approches prédictives basées sur la modélisation, comme proposé par Mouret et al. (2015). ■

NDLR: Les références bibliographiques concernant cet article sont disponibles sur le site internet de la Revue des Enologues: search.oeno.tm.fr



DARGAUD & JAEGLÉ
Tonnellerie

**DES HOMMES, DES TECHNIQUES,
DES MATÉRIELS,**

*POUR BIEN CONSTRUIRE DES FÛTS
EN HARMONIE AVEC LE VIN*

71570 ROMANÈCHE-THORINS FRANCE ■ TÉL. +33 (0)3 85 35 51 87
CONTACT@DARGAUD-JAEGLÉ.COM ■ WWW.DARGAUD-JAEGLÉ.COM