

La levure doit trouver dans le moût l'ensemble des nutriments indispensables à son développement et notamment l'azote. Cet élément participe en effet au métabolisme de la levure et permet la synthèse de biomasse ainsi que celle des enzymes et transporteurs membranaires nécessaires à son fonctionnement.

En raison d'une grande variabilité de la composition des moûts, des ajustements sont parfois nécessaires.

Pour pallier ces déficits et en particulier ceux azotés, le vinificateur dispose aujourd'hui d'un certain nombre d'outils. Parmi ceux-ci, les nutriments à base de dérivés de levure sont de plus en plus utilisés.

Ils peuvent avoir des compositions très variables pour des applications différentes.

Quelques rappels :

1. Les besoins nutritifs de la levure

Pour leur développement, les levures ont besoin :

- **Sucres** : la levure trouve dans le moût de raisin le glucose et le fructose qui servent de source de carbone nécessaire à la production d'énergie.
- **Azote** : élément indispensable à la synthèse des protéines de la levure, il est présent sous différentes formes :
 - o Minéral (ou inorganique) : ion ammonium (NH_4^+) appelé également azote ammoniacal,
 - o Organique : acides aminés, peptides (petites chaînes d'acides aminés) et protéines (longues chaînes d'acides aminés).

Seuls l'ammonium et les acides aminés (à l'exception de la proline) sont assimilables par la levure. Ils constituent ainsi dans le moût la fraction d'azote assimilable.

Les peptides et les protéines ne peuvent pas être hydrolysés par la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Ils ne participent donc pas à leur croissance.

- **Sels minéraux** : magnésium, zinc, potassium...

Ces éléments sont essentiels au bon développement des levures. Ils sont des constituants de systèmes enzymatiques.

- **Vitamines** : acide pantothénique (vitamine B5), thiamine (vitamine B1)...

Ces éléments assurent une croissance optimale des levures et améliorent leur survie en condition de stress.

- **Oxygène** : élément également indispensable pour la synthèse de « facteurs de survie » tels que les stérols et les acides gras insaturés qui jouent un rôle clé dans la structure de la membrane levurienne.

Tous ces éléments sont présents dans les moûts de raisin. Cependant, les conditions climatiques et pédologiques, ou encore la conduite du vignoble peuvent influencer sur leur composition.

2. Qu'est-ce qu'un moût carencé ?

Les concentrations en sels minéraux et en vitamines sont difficiles à doser et donc, rarement contrôlées.

Actuellement, la teneur en azote assimilable du moût est le seul facteur facilement contrôlable par le vinificateur.

Un moût est considéré comme carencé à partir d'une teneur inférieure à 150 mg/l en azote assimilable.

Cette teneur varie néanmoins selon le degré potentiel du moût, l'intensité du débourbage, la température de fer-

mentation... Selon la quantité de sucres à fermenter, les besoins en azote assimilable peuvent augmenter de manière importante. Certaines souches de levure sont beaucoup plus exigeantes que d'autres.

Les besoins pour une levure classique sont de 150 mg/l, à augmenter par tranche de 30 mg/l par unité de TAV potentiel au-delà de 12,5% vol.

3. Quelles sont les conséquences d'une carence en azote ?

Ces conséquences peuvent être multiples :

- Multiplication insuffisante des levures pour achever la fermentation alcoolique,
- Production par la levure d' H_2S et apparition d'odeurs soufrées dites de réduction,
- Production insuffisante des protéines membranaires permettant une intégration correcte des sucres dans la levure,

- Manque d'acides aminés (précurseurs d'arômes) ; vins moins expressifs.

Le manque de nutriment impacte donc la croissance et la viabilité de la levure avec des risques de fermentations languissantes, voire d'arrêts de fermentation ou encore l'apparition d'arômes désagréables.

4. Quels sont les différents éléments nutritifs à disposition du vinificateur ?

Les activateurs de fermentation sont, selon la définition de l'OIV, des auxiliaires de vinification « favorisant le déclenchement ou l'achèvement de la fermentation alcoolique ».

Ce terme regroupe un vaste ensemble de produits d'origine organique ou inorganique.

On retrouve ainsi :

- **Sels ammoniacaux** : sulfate ou phosphate d'ammonium,
- **Produits provenant de la dégradation de la levure** : autolysats, enveloppes cellulaires, levures inactivées.

Si les sels ammoniacaux sont clairement identifiés comme des nutriments avec pour objectif un apport en azote assimilable, les produits issus de la levure se déclinent sous différentes formes avec pour chacune un rôle, une action bien définis.

Ces produits issus de la levure (figure 1) peuvent intervenir au cours de la fermentation alcoolique selon 3 modes d'action :

- Effet « Protecteur » : levure sèche inactivée,
- Effet « Activateur » : autolysat de levures,
- Effet « Détoxifiant » : écorces de levure.

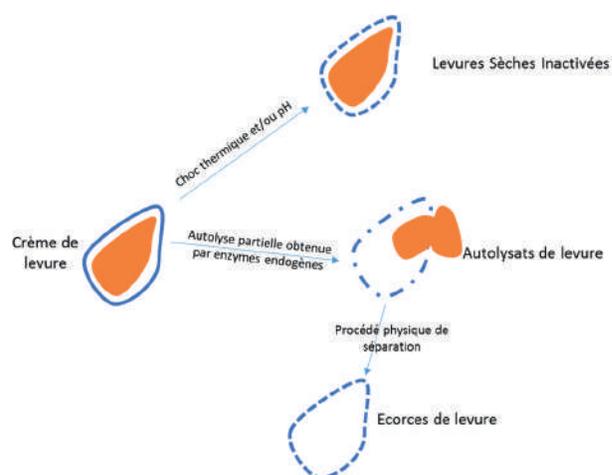


Figure 1 : Schéma simplifié de la production des dérivés de levure, (adapté de la présentation Oenoppia, OIV 2012).

- Les Levures inactivées sont obtenues à partir de crème de levure. L'inactivation des levures se fait par la chaleur et/ou par une modification du pH.
- L'Autolysat de levures est obtenu par autolyse partielle

de crème de levure par des enzymes endogènes.

- Les Ecorces de levures sont obtenues par procédé physique de séparation à partir de levure partiellement autolysée.

5. Protecteurs, activateurs, détoxifiants : quels sont leur rôle ?

Protecteurs de levure

Ils s'utilisent pendant la phase de réhydratation de la levure. Ils sont composés de levures sèches inactivées (LSI) riches en éléments constitutifs de la levure, notamment en stérols.

Ajoutés lors de la phase de réhydratation des levures sèches actives, les protecteurs libèrent leurs composés dans l'eau :

- facteurs de croissance (vitamines et éléments minéraux),
- facteurs de survie (stérols, acides gras insaturés).

Ils sont alors absorbés par les levures afin de renforcer leur structure membranaire. Cela assure à la levure une plus grande résistance. Elle peut ainsi plus facilement survivre dans le milieu où les conditions sont stressantes (sucre, température élevée, alcool ...).

Activateurs ou nutriments

Les termes activateurs ou nutriments sont souvent utilisés pour parler des préparations à mettre au cours de la fermentation alcoolique.

L'apport d'azote organique est réalisé par l'ajout de dérivés de levures (levures autolysées le plus souvent). Ces for-

mulations offrent un apport d'azote sous formes d'acides aminés mais aussi de lipides, vitamines et minéraux.

L'ensemble de ces éléments favorise la multiplication cellulaire ainsi que la viabilité des cellules.

Détoxifiants

Au cours de la fermentation alcoolique, des substances dites secondaires sont produites avec pour certaines, une action inhibitrice de la fermentation.

C'est le cas par exemple, des acides gras saturés à courte chaîne en C6, C8 et C10 qui bloquent le transport des sucres dans la levure.

Les écorces de levure agissent par une levée de l'inhibition en fixant les acides gras toxiques. Elles permettent de rétablir la perméabilité des membranes cellulaires et ainsi le transport des sucres vers l'intérieur de la levure pour y être métabolisés.

6. Intérêt de la nutrition azotée organique

La nutrition azotée sous forme organique apporte quantitativement des doses d'azote plus faibles que la nutrition dite minérale.

De par sa composition, celui-ci est assimilé plus progressivement au cours de la fermentation alcoolique. L'activité

fermentaire est plus régulière et l'expression aromatique des vins peut s'en trouver renforcée.

Des stratégies de compensation partielle de la carence azotée via l'azote organique ont été étudiées en partant du postulat d'une nutrition plus qualitative.

Protocoles

Les essais ont été réalisés sur des moûts de sauvignon des millésimes 2015, 2016 et 2017.

3 modalités ont été testées :

- Une modalité avec une complémentation totale de la carence azotée par ajout d'azote minéral,
- Deux modalités avec des complémentations partielles de la carence azotée par l'ajout d'azote organique.

L'azote minéral est ajouté sous forme de phosphate d'ammonium (PHOSPHATE DIAMMONIQUE®-Lamotte Abiet).

L'azote organique est ajouté sous forme d'autolysat de levures (NUTRISTART® ORG-Laffort).

Les apports sont réalisés en 2 fois : un premier apport dans les 24h suivant le levurage, un second lorsque la densité du moût est tombée de 30 points, avec aération.

Pour rappel :

- 40 g/hl d'azote minéral apporte 76 mg/l d'azote assimilable.
- 40 g/hl d'azote organique apporte 28 mg/l d'azote assimilable.

Millésime 2015

Sucres fermentescibles : 217 g/l ; Azote assimilable : 119 mg/l.

Besoin théorique en azote assimilable : 80 mg/l.

- Modalité 1 - **NH4-100%** : apport de 40 g/hl de phosphate diammonique soit **+ 76 mg/L de Nass.**
- Modalité 2 - **NH2-50%** : apport de 60 g/hl d'azote organique soit **+ 42 mg/L de Nass.**
- Modalité 2 - **NH2-25%** : apport de 30 g/hl d'azote organique soit **+ 21 mg/L de Nass.**

Millésime 2016

Sucres fermentescibles : 222 g/l ; Azote assimilable : 63 mg/l.

Besoin théorique en azote assimilable : 123 mg/l.

- Modalité 1 - **NH4-100%** : apport de 60 g/hl de phosphate diammonique soit, **+ 114 mg/L de Nass.**
- Modalité 2 - **NH2-34%** : apport de 60 g/hl d'azote organique soit, **+ 42 mg/L de Nass.**
- Modalité 2 - **NH2-17%** : apport de 30 g/hl d'azote organique soit, **+ 21 mg/L de Nass.**

Millésime 2017

Sucres fermentescibles : 200 g/l ; Azote assimilable : 119 mg/l.

Besoin théorique en azote assimilable : 80 mg/l.

- Modalité 1 - **NH4-100%** : apport de 40 g/hl de phosphate diammonique soit, **+ 76 mg/L de Nass.**
- Modalité 2 - **NH2-50%** : apport de 60 g/hl d'azote organique soit, **+ 42 mg/L de Nass.**
- Modalité 2 - **NH2-25%** : apport de 30 g/hl d'azote organique soit, **+ 21 mg/L de Nass.**

Cinétiques fermentaires

Les apports d'azote sur moût ont comme objectif de favoriser le métabolisme levurien.

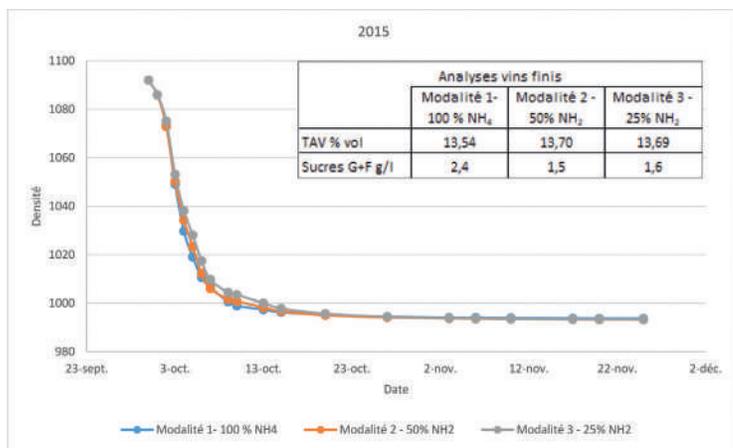


Figure 2 : Cinétique fermentaire & analyses vin fins - millésime 2015.
 Modalité 1 : Nass = 195 mg/l
 Modalité 2 : Nass = 161 mg/l
 Modalité 3 : Nass = 140 mg/l

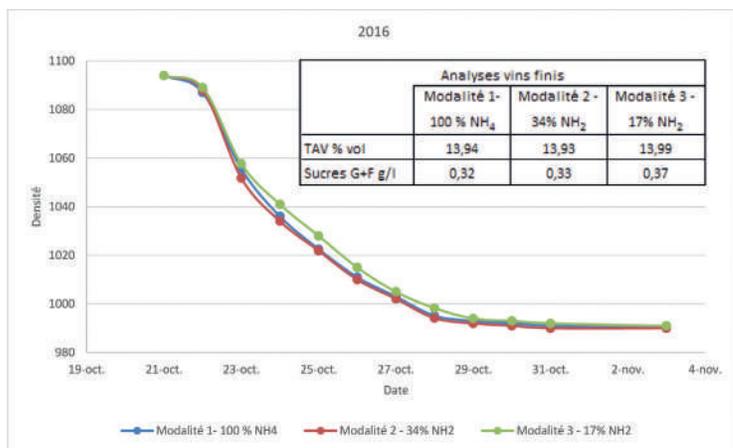


Figure 3 : Cinétique fermentaire & analyses vin fins - millésime 2016.
 Modalité 1 : Nass = 177 mg/l
 Modalité 2 : Nass = 105 mg/l
 Modalité 3 : Nass = 84 mg/l

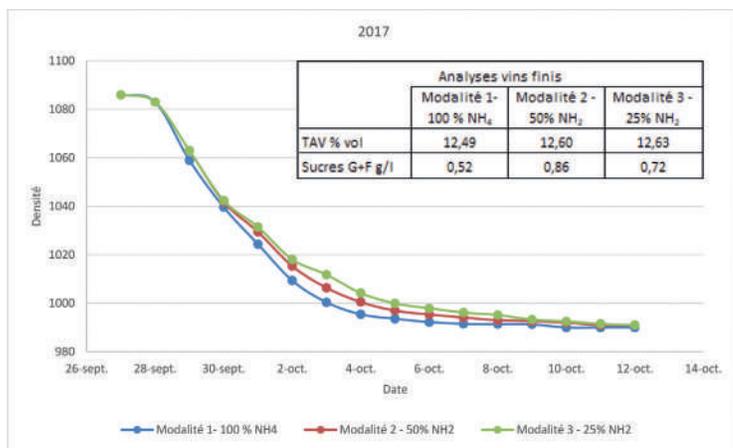


Figure 4 : Cinétique fermentaire & analyses vin fins - millésime 2017.
 Modalité 1 : Nass = 195 mg/l
 Modalité 2 : Nass = 161 mg/l
 Modalité 3 : Nass = 140 mg/l

Les stratégies de complémentation permettent de finir les fermentations alcooliques (figures 2, 3 et 4).

Pour le millésime 2015, caractérisé par des fermentations languissantes, la nutrition organique réduit de quelques jours (4 jours) les durées de fermentation. A l'inverse, pour le millésime 2017, la nutrition minérale permet d'abaisser de 3 jours la durée de fermentation alcoolique. En 2016, malgré la faible complémentation sous forme organique, aucune différence de durée de fermentation n'est observée.

La complémentation sous forme de phosphate d'ammonium apporte plus d'azote assimilable dans le milieu. Cet apport plus important d'azote favorise la multiplication levurienne et accroît la vitesse maximum de fermentation (modalités 1). En revanche cela ne semble pas avoir d'impact sur la durée de fermentation.

Avec des effets fermentaires comparables, la nutrition organique testée en mettant en œuvre des doses de complémentation réduites, pourrait conduire à revoir les règles de définition de la carence selon la nutrition apportée.

7. En pratique, comment gérer ces carences azotées

En fonction du niveau de carence initiale et en mettant en œuvre une nutrition organique, les complémentations suivantes pourraient être envisagées :

Exemple : moût de sauvignon avec un TAV potentiel de 13,0% vol.

Azote assimilable du moût

> 200 mg/l
180 à 200 mg/l
150 à 180 mg/l
120 à 150 mg/l
90 à 120 mg/l
< 90 mg/l

Pour un niveau de carence faible (Nass compris entre 150 et 200 mg/l), l'ajout se fera au 1/3 de la FA (densité initiale – 30 points).

Pour les autres niveaux de carence, la complémentation sera fractionnée : 1/3 de la quantité après le levurage (densité initiale – 5 points) puis les 2/3 de la quantité à la den-

Apport d'azote assimilable sous forme organique

Pas de carence azotée

+ 10 mg/l
+ 20 mg/l
+ 30 mg/l
+ 40 mg/l

+ 40 mg/l + DAP en cas de carence très élevée

sité initiale moins 30 points.

Pour les carences très élevées (Nass < 90 mg/l) : en fonction des situations, l'apport d'azote assimilable sous forme organique devra être couplé avec une complémentation azotée minérale.

8. La réglementation

Le règlement d'exécution N° 1251/2013 du 03 décembre 2013 est venu clarifier la définition des azotes organiques dans le règlement européen n°606/2009 avec la distinction entre les écorces de levures, les autolysats et les levures inactivées.

Cette mise à jour du règlement européen a eu pour conséquence l'exclusion en bio de certaines formes d'azotes organiques qui étaient avant 2013 assimilées à des écorces de levures.

Les autolysats et les levures inactivées (LSI) n'étant pas mentionnés dans la réglementation vin bio (203/2012), ils se sont trouvés interdits.

Le 22 octobre 2018, le règlement d'exécution N° 2018/1584 est venu modifier ce règlement vin bio en au-

torisant l'utilisation d'autolysats de levure et le recours aux levures inactivées pour favoriser le développement des levures.

Ainsi, pour la campagne de vinifications 2019, le vinificateur « vin bio » pourra utiliser la nutrition azotée sous forme minérale avec le phosphate d'ammonium (le sulfate d'ammonium est interdit en réglementation vin bio) mais il pourra aussi avoir recours à la nutrition azotée sous forme organique.

Cette évolution réglementaire permet de régler le problème de nutrition azotée pour les vins biologiques souhaitant une équivalence avec la certification bio américaine (le NOP). Le phosphate d'ammonium étant interdit dans le NOP.

9. Conclusion

Les évolutions réglementaires offrent aujourd'hui à l'ensemble des vinificateurs l'opportunité de se tourner vers une nutrition organique issue du vivant.

L'utilisation possible de ces différents dérivés de levures doit bien entendu être raisonnée en fonction des problématiques de chacun. La combinaison de certaines formulations comme c'est le cas pour la protection et la nutrition, peuvent permettre d'optimiser leur efficacité.

La mise en œuvre de ces spécialités d'azote organique pose néanmoins problème vis-à-vis du coût de ces dérivés de levures d'où l'intérêt d'une compensation partielle ou de la mise en place d'une stratégie mixte, azote minéral et azote organique.

Subileau et al ont montré que l'azote ammoniacal en début de fermentation pouvait avoir comme effet de limiter la capacité des levures à libérer les thiols volatils. A l'inverse, les complémentations avec une source d'azote 100% organique peuvent contribuer positivement à l'expression aromatique des vins.

Les travaux en cours au Sicavac comportent également un volet important sur le profil sensoriel des vins ainsi élaborés ; ils feront l'objet d'une prochaine publication.