

## LES POLYSACCHARIDES SOLUBLES DU MOÛT : METHODE SIMPLE D'APPRECIATION; EVOLUTION AU COURS DE LA MATURATION; INCIDENCE SUR LES OPERATIONS PREFERMENTAIRES.

D. DUBOURDIEU \*, D. HADJINICOLAOU et P. RIBÉREAU-GAYON

Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II  
351, cours de la Libération, 33405 Talence (France)

Depuis BUCHI et DEUEL (1954) et PEYNAUD (1952), on distingue parmi les polysaccharides solubles du jus de raisin d'une part, les pectines dont la molécule est principalement constituée d'unités d'acide galacturonique partiellement estérifiées par le méthanol, d'autre part, des polysaccharides non pectiques (gommes) dont les chaînes comportent, outre l'acide galacturonique, des pentoses (arabinose, rhamnose) et des hexoses (galactose, mannose). Les travaux plus récents d'USSEGLIO-TOMASSET (1976) montrent que les gommes sont constituées par un mélange complexe de macromolécules dont la composition en monomères varie selon le poids moléculaire. Il n'est cependant pas possible de les séparer car leurs gammes des poids moléculaires présentent des recouvrements. L'utilisation d'échangeurs d'ions du type D.E.A.E. Sephadex A 25 (DUBOURDIEU et RIBÉREAU-GAYON, 1980) permet une séparation en 4 fractions comprenant des gommes neutres ou osanes formées exclusivement d'oses neutres et de gommes acides dont les molécules contiennent en outre de l'acide galacturonique.

L'incidence des polysaccharides solubles du moût sur la vinification en blanc est encore mal connue; mais on peut penser que ces substances interviennent, entre autres, dans les problèmes de pressurage et de débourbage. D'après ROBERTSON et *al.* (1980), une extraction aisée des jus de Riesling, Chasselas et Bacco 22 A suppose une teneur en pectine hydro-soluble inférieure à 10 mg pour 100 g de raisin. Ces faits justifient l'intérêt d'une connaissance plus approfondie des polysaccharides du moût : teneurs, évolution au cours de la maturation, incidence sur la vinification. Mais une telle étude supposait au préalable la mise au point d'une méthode simple et suffisamment reproductible d'estimation des polysaccharides solubles du moût.

---

\* Ingénieur de Recherche, SEITZ FILTER WERKE (BAD KREUZNACH, R.F.A.) détaché à l'Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II.

1) **Choix de la méthode.**

Compte tenu de la complexité du moût, il n'est pas possible de doser directement les polysaccharides ; la séparation préalable des macromolécules est indispensable. Plusieurs méthodes d'isolement ont été proposées : a) la dialyse (MUNTZ et LAINE, 1906) ; b) la filtration sur gel (DATOU-NASHVILI, 1973) ; c) la précipitation par un solvant organique comme l'éthanol (PEYNAUD, 1952 ; USSEGLIO-TOMASSET, 1976 ; DUBOURDIEU, 1978), suivie de l'isolement du précipité par centrifugation et de son lavage par l'éthanol à 90 °GL.

Cette dernière méthode est utilisée dans cette étude en raison de sa simplicité.

L'estimation des polysaccharides présents dans le précipité alcoolique peut ensuite être effectuée par gravimétrie selon la méthode proposée par PEYNAUD (1952) : le poids sec du précipité éthanolique, corrigé du poids des cendres et des protéines donne les polysaccharides totaux. Les pectines sont dosées par acidimétrie après saponification des groupes méthoxyles ; les gommes sont obtenues par différence entre les polysaccharides totaux et les pectines. Cette méthode précise mais laborieuse se prête difficilement à l'analyse en série ; de plus, elle suppose que l'acide galacturonique est exclusivement engagé dans la pectine et que les gommes sont seulement des polysaccharides neutres.

La teneur en polysaccharides peut aussi être appréciée par le dosage des oses constitutifs réalisable par chromatographie en phase gazeuse après hydrolyse ; bien adaptées à la détermination des structures moléculaires, ces techniques se prêtent mal au travail en série ; par ailleurs, l'hydrolyse totale des polysaccharides s'accompagne d'une destruction partielle des sucres. Pour ces raisons, nous avons fait appel aux méthodes colorimétriques.

D'une façon générale, les polysaccharides peuvent être dosés par colorimétrie à l'aide de différentes méthodes (orcinol, anthrone, phénol, cystéine et carbazol-sulfurique), dont une revue critique a été faite par MONTREUIL et SPIK (1963). Pour le dosage des oses neutres constitutifs des polysaccharides, la méthode au phénol sulfurique est la plus sensible et elle n'est pas influencée par la présence éventuelle des protéines. Pour le dosage des acides uroniques, la méthode au carbazol sulfurique donne de bons résultats. Lorsque des oses neutres et les acides uroniques sont en mélange, il faut introduire un facteur de correction avec l'une ou l'autre méthode (MONTREUIL et SPIK, 1963). La méthode au carbazol sulfurique est aujourd'hui remplaçable par la méthode au méta-phényl-phénol (ROBERTSON

et *al.*, 1980) réactif spécifique des acides uroniques qui ne réagit pas avec les sucres neutres.

Sur le principe de ces dosages colorimétriques, GAILLARD (1976) préconise un micro-dosage effectué, sur 0,5 ml de moût, dans des tubes à hémolyse; les polysaccharides sont floculés par l'éthanol et recueillis par centrifugation, le précipité est lavé plusieurs fois par l'éthanol, puis dissout dans 1 ml d'eau; la teneur en polysaccharides de la solution obtenue est déterminée par dosage au phénol sulfurique (réalisé dans le même tube) par rapport à une solution étalon de glucose. Cette méthode présente une bonne reproductibilité et se prête bien à l'analyse en série des polysaccharides des moûts; mais elle dose seulement les oses neutres sans tenir compte de la présence des acides uroniques dans les gommés et dans les pectines du moût; de plus, le galactose, hexose essentiel des gommés du moût, serait préférable au glucose comme témoin interne; ce dernier n'est que très faiblement représenté dans les polysaccharides solubles du raisin sain.

Compte tenu de toutes les considérations précédentes, nous proposons un micro-dosage rapide, des polysaccharides du moût, faisant intervenir les méthodes au phénol sulfurique et au carbazol sulfurique permettant l'évaluation des oses neutres et des acides uroniques.

## 2) Description du mode opératoire

### *Extraction des jus*

Les jus de 1000 baies sont extraits par broyage pendant 5 secondes dans un mixer Braun; les broyats sont rassemblés et centrifugés à 8.000 g pendant 15 minutes. Le surnageant est filtré à travers du coton de verre.

### *Précipitation des polysaccharides*

Le jus clarifié est divisé en deux lots, un lot témoin et un lot additionné d'enzymes pectinolytiques Ultrazym (100 mg par litre) maintenu à 30 °C pendant 18 heures.

Le lot témoin, après dilution convenable (généralement au 1/4), est immédiatement soumis à une précipitation par l'éthanol; dans 8 tubes de verre pour centrifugeuse, on introduit 1 ml de moût dilué, 50 µl HCL (N) et 5 ml d'éthanol à 95 °GL. Après 18 heures, le précipité est recueilli par centrifugation puis lavé trois fois dans les mêmes tubes par de l'éthanol à 80 °GL; après la dernière centrifugation, on vérifie, par une réaction négative au phénol sulfurique, que le surnageant ne contient plus de sucres. Le précipité final contient les polysaccharides totaux.

L'échantillon débarrassé des pectines par action des enzymes pectinolytiques est clarifié par centrifugation. Après dilution au demi du surnageant, les opérations de précipitation par l'éthanol et de lavage sont

ensuite effectuées, avec 8 répétitions, comme pour le lot témoin. La partie glucidique du précipité obtenu constitue les gommés.

### *Dosages colorimétriques*

Les précipités des deux séries sont repris par 0,5 ml d'eau. Pour chaque série on effectue un dosage par la méthode au phénol sulfurique (4 répétitions) et par la méthode au carbazol sulfurique (4 répétitions) ; on retient la moyenne des absorbances mesurées. Les solutions de référence sont du galactose (100 mg par litre) et de l'acide galacturonique (100 mg par litre).

*Méthode au phénol sulfurique.* — Dans un tube à essai on place 0,5 ml de la solution à doser, 0,5 ml d'une solution aqueuse de phénol à 5 p. 100, puis 2,5 ml d'acide sulfurique pur pour analyses ; on porte 5 minutes au bain-marie à 100 °C ; après refroidissement dans un bain d'eau glacée, on mesure l'absorbance (N) à 420 nm pour un parcours optique de 0,5 cm.

Dans les mêmes conditions, on détermine l'abondance (a) d'une solution de galactose à 100 mg par litre et l'absorbance (b) d'une solution d'acide galacturonique à 100 mg par litre.

*Méthode au carbazol sulfurique.* — Dans un tube à essai, maintenu dans un bain d'eau glacée, on place 0,5 ml de la solution à doser, 0,1 ml d'une solution de carbazol à 0,1 p. 100 dans l'éthanol à 96 °GL, puis 2,5 ml d'acide sulfurique pur pour analyses ; on porte 20 minutes dans un bain-marie à 100 °C ; après refroidissement pendant 5 minutes dans un bain d'eau glacée, on mesure l'absorbance (Z) à 530 nm pour un parcours optique de 0,5 cm.

Dans les mêmes conditions, on détermine l'absorbance (a) d'une solution de galactose à 100 mg par litre et l'absorbance (d) d'une solution d'acide galacturonique à 100 mg par litre.

*Calculs :* les quantités d'oses neutres et d'acides uroniques présentes dans la solution sont données, en milligrammes par litre, par les formules suivantes (MONTREUIL et SPIK, 1963) :

$$\text{oses neutres} = \frac{(100 \cdot N \cdot d) - (100 \cdot Z \cdot b)}{(a \cdot d) - (b \cdot c)}$$
$$\text{acides uroniques} = \frac{(100 \cdot Z \cdot a) - (100 \cdot N \cdot c)}{(a \cdot d) - (b \cdot c)}$$

Si respectivement les teneurs en oses neutres et en acides uroniques du moût témoin sont désignées X et Y, et celles du moût traités aux enzymes pectinolytiques x et y on a :

$$\begin{aligned} \text{Polysaccharides totaux} &= X + Y \\ \text{Gommes totales} &= x + y \\ \text{Pectines totales} &= (X + Y) - (x + y) \end{aligned}$$

### 3) Reproductibilité

Elle a été déterminée pour 6 précipitations de 0,5 ml du même moût, (Tableau I).

Dans les conditions opératoires fixées dans ce tableau (moyennes de 4 mesures), les incertitudes maximales sur les valeurs des densités optiques retenues sont d'environ  $\pm 2,5$  p. 100 pour le dosage au phénol sulfurique et  $\pm 1,8$  p. 100 pour le dosage au carbazol sulfurique. Ces chiffres montrent la nécessité de prendre en compte la moyenne de 4 déterminations.

**TABLEAU I**  
**Reproductibilité des dosages colorimétriques**  
**pour six précipitations d'une même moût par l'éthanol**

	Méthode au phénol sulfurique	Méthode au carbazol sulfurique
Coefficient de variation	1,9 %	2 %
Valeur estimée de la variation de la moyenne	0,017	0,006
Intervalle de confiance au seuil de 95 %	$\pm 4,6$ %	5 %
Incertitude maximale au seuil de 95 % pour		
4 mesures	$\pm 2,5$ %	$\pm 1,8$ %
3 mesures	$\pm 5,7$ %	$\pm 2,1$ %
2 mesures	$\pm 7,7$ %	$\pm 2,6$ %
1 mesure	$\pm 10$ %	$\pm 3,7$ %

## B — APPLICATIONS

### 1) Etude de l'évolution des polysaccharides solubles du moût au cours de la maturation.

Les prélèvements ont été effectués en 1980 sur des raisins des cépages *Sauvignon* et *Sémillon* protégés contre la pourriture grise par 4 traitements annuels spécifiques (SUMISCLEX). Les tableaux II et III rassemblent les caractéristiques de maturation pour ces deux cépages depuis la fin de la véraison (début du mois de septembre) jusqu'au 1<sup>er</sup> novembre. On constate que la teneur en sucres des moûts augmente jusqu'au dernier prélèvement (1/11). L'accroissement du poids de 1000 baies et du rende-

ment en jus montre clairement que les raisins n'ont pas subi de surmaturation en fin de période.

Les tableaux IV et V et la figure 1 montrent que les teneurs des moûts en polysaccharides solubles totaux passent par un maximum (20 jours environ après la fin de la véraison) puis décroissent rapidement pour atteindre pratiquement un palier entre 45 et 60 jours après la fin de la véraison. Les pectines subissent des variations plus importantes que les gommages au cours de la maturation surtout chez le *Sémillon*.

**TABLEAU II**  
**Evolution de la maturation des raisins SAUVIGNON en 1980**

Date de prélèvement	4/9 FV*	15/9 FV + 11 j	24/9 FV + 20 j	4/10 FV + 30 j	16/10 FV + 45 j	1/11 FV + 60 j
Poids de 1000 baies (g)	1250	1580	1740	2200	3154	3215
Volume du jus de 1000 baies (ml)	920	110	1120	1500	2400	2400
Rendement en jus**	73	70	64	68	76	76
Turbidité (mg de silice par l)	720	660	520	400	380	387
Sucres réducteurs (g/l)	78	125	152	160	180	199
Acidité totale (g. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> par l)	14,7	10,3	6,2	3,3	3,3	3,4

\* FV = Fin de la véraison

$$** \text{ Rendement en jus} = \frac{\text{Poids de 1000 baies}}{\text{Volume du jus de 1000 baies}} \times 100$$

Pendant toute la durée de la maturation, les teneurs en pectines et en gommages des moûts de *Sauvignon* et *Sémillon* sont assez voisines. Par ailleurs, on remarque une évolution de la composition des pectines ; l'acide galacturonique représente 80-85 p. 100 au début de la maturation et 40-45 p. 100 seulement à maturité.

Les variations des teneurs en polysaccharides solubles des moûts, particulièrement en pectines, attestent de l'importance des phénomènes d'hydrolyse des parois cellulaires au cours de la maturation du fruit. Dans

un premier temps, la protopectine de la lamelle moyenne est solubilisée avec, pour conséquence, un enrichissement du moût en pectine hydro-soluble dont l'acide galacturonique est le constituant essentiel. Par la suite, il s'ajoute à ce phénomène d'une part la dégradation des hémicelluloses de la paroi pectocellulosique, d'autre part, l'hydrolyse de la pectine soluble du moût jusqu'au stade monomère. C'est au cours de cette période que l'on constate un importante diminution de la pectine soluble des moûts ainsi qu'une modification de sa composition (dans le sens d'un accroissement de la proportion des oses neutres).

**TABLEAU III**

**Evolution de la maturation des raisins SEMILLON en 1980**

Date de Prélèvement	4/9 FV*	15/9 FV + 11 J	24/9 FV + 20 J	4/10 FV + 30 J	16/10 FV + 45 J	1/11 FV + 60 J
Poids de 1000 baies (g)	1650	1950	2430	2600	2970	3000
Volume du jus de 1000 baies (ml)	1110	1400	1640	1650	2200	2240
Rendement en jus **	67	70	68	68	74	75
Turbidité (mg de silice par l)	1600	1580	1560	1210	1020	998
Sucres (g/l)	74	100	140	173	185	191
Acidité totale (g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l)	14,7	8,82	6,0	5,0	4,0	4,1

\* FV = Fin de la véraison

$$** \text{ Rendement en jus} = \frac{\text{Poids de 1000 baies}}{\text{Volume du jus de 1000 baies}} \times 100$$

**2) Incidence technologique**

On sait que l'état d'hydrolyse des parois cellulaires du raisin détermine l'aptitude des vendanges blanches au pressurage et au débouillage.

En ce qui concerne le pressurage, une expérimentation dans les conditions de la pratique est difficilement réalisable ; les résultats obtenus au

laboratoire montrent, au cours de la maturation, une corrélation entre l'évolution des polysaccharides (tableaux IV et V) et le rendement en jus (tableaux II et III).

**TABLEAU IV**

**Evolution des polysaccharides solubles du moût  
de SAUVIGNON au cours de la maturation**

Date de Prélèvement	15/9 FV* + 11 j	24/9 FV + 20 j	4/10 FV + 30 j	16/10 FV + 45 j	1/11 FV + 60 j
Polysaccharides totaux (mg/l)	860	1163	729	355	340
— Sucres neutres (%)	27	47	59	70	68
— Acides uroniques (%)	73	52	41	30	32
Gommes (mg/l)	106	211	198	78	73
— Sucres neutres (%)	13	95	92	97	89
— Acides uroniques (%)	27	5	8	3	11
Pectines (mg/l)	754	952	531	277	270
— Sucres neutres (%)	20	50	53	58	60
— Acides uroniques (%)	80	20	47	42	40

FV\* = Fin de la véraison

A propos du débourage, le tableau VI compare le comportement de raisins *Sémillon* ramassés le 10/10 et le 1/11 ; ils ont été traités dans les conditions pratiques de la vinification, avec ou sans foulage des raisins. On a vu par ailleurs, qu'au cours de cette période, la teneur en gomme des moûts reste stable, tandis que leur teneur en pectines décroît de 450 à 270 mg/l (fig. 1). Cette diminution s'accompagne d'une augmentation du volume de jus clair obtenu par débourage statique après foulage et pressurage. Ces volumes sont respectivement de 57 p. 100 et 70 p. 100 après sédimentation de 24 heures. Par contre, si le foulage n'intervient pas, le débourage statique conduit au même résultat, soit environ 90 p. 100 de jus clair, quel que soit l'état de maturité ; on note par ailleurs, dans le cas du pressurage sans foulage et en fonction de l'évolution de la maturation, une diminution de la turbidité du moût avant débourage (tableau VI). Une évolution identique de la turbidité est observée dans les conditions d'extractions des jus du laboratoire (tableaux II et III). Au contraire, après



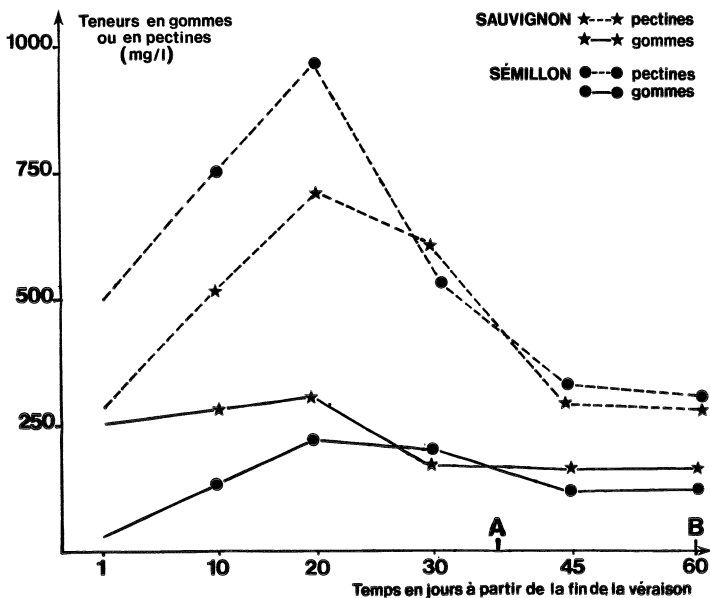


Fig. 1. — Evolution des polysaccharides solubles du jus de raisin au cours de la maturation

TABLEAU V

Evolution des polysaccharides solubles du moût de SEMILLON au cours de la maturation

Date de prélèvement	15/9 FV* + 11 j	24/9 FV + 20 j	4/10 FV + 30 j	16/10 FV + 45 j	1/11 FV + 60 j
Polysaccharides totaux (mg/l)	860	1163	729	355	340
— Sucres neutres (%)	27	47	59	70	68
— Acides uroniques (%)	73	52	41	30	32
Gommes (mg/l)	106	211	198	78	73
— Sucres neutres (%)	13	95	92	97	89
— Acides uroniques (%)	27	5	8	3	11
Pectines (mg/l)	754	952	531	277	270
— Sucres neutres (%)	20	50	53	58	60
— Acides uroniques (%)	80	50	47	42	40

FV\* = Fin de la véraison

foulage et pressurage, on note une augmentation de la turbidité des moûts au cours de la maturation. Cette évolution correspond à un accroissement du poids des particules en suspension (tableau VI) ; mais les particules sédimentent bien puisque, après débouillage, les turbidités sont voisines. Ces observations confirment l'incidence du foulage des vendanges sur les opérations de la vinification en blanc.

**TABLEAU VI**

**Incidence des conditions de traitement du raisin  
et de l'état de maturité sur la clarification des moûts de SEMILLON**

Traitement des raisins		Maturité A Cueillette le 10/10/1980		Maturité B cueillette le 1/11/1980		
		Non foulés	foulés	Non foulés	foulés	
Moût non débouillé	Turbidité (mg de silice par l)	2400	5800	1400	8000	
	Poids sec des particules du moût (g/l)	0,55	3,43	0,38	5,37	
Moût clair	Volume du moût clair en % du volume total	Après 24 heures	90	57	91	70
		Après 48 heures		69		82
	Turbidité (mg de silice par l)	260	300	200	360	
	Poids sec des particules du moût (g/l)	0,01	0,03	0,02	0,03	

### CONCLUSION

L'évolution des polysaccharides solubles du moût de raisins blancs à partir de la véraison, constitue un élément d'appréciation de la maturité et de la qualité.

La facilité de mise en œuvre et la reproductibilité satisfaisante des méthodes proposées devraient permettre la généralisation de ces déterminations.

En vinification en blanc sec, pour le cépage *Sémillon*, et dans les conditions du millésime 1980 en Bordelais, les meilleurs résultats concernant l'extraction et la clarification des jus sont obtenus avec les raisins les plus mûrs, lorsque la teneur en pectine soluble des moûts est mini-

mun ; les conditions de travail du raisin (pressurage avec ou sans foulage) influent également d'autant plus que la maturité est insuffisante.

Manuscrit reçu le 16 mars 1981.

## RÉSUMÉ

Les polysaccharides solubles du jus de raisin sont dosés par les méthodes au phénol et au carbazol sulfuriques. Au cours de la maturation, la teneur en pectine soluble passe par un maximum, puis décroît. L'incidence de ces transformations sur les opérations préfermentaires de la vinification en blanc (pressurage et débourage) est examinée.

## SUMMARY

Soluble polysaccharides from grape juices are estimated with phenol-and carbazol-sulfuric methods. During the ripening, the soluble pectin content waxes a maximum then decreases until maturity. The effect of these changes on the first steps of the white wine making (juice extraction and static settling) are examined.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Polysacchariden des Traubensaft sind mit der Phenolmethode und Schwefelcarbazolmethode dosiert.

Im Laufe der Reifung, steigt der Gehalt an löslichem Pectin bis zu einem Maximum und dann fällt.

Der Einfall dieser Umwandlungen über die erste Operationen der Gärung (keltern und Vorblären) ist untersucht.

## RESUMEN

Los polisacaridos solubles del jugo de uva se dosan por los metodos de fenol y de carbazol sulfurico.

Durante la maduración al contenido en pectina pasa por un maximo y despues disminunye.

El efecto de esta transformación sobre las operaciones prefermentarias de la vinificación en blanco (prensado y defangado) ha sido examinado.

## RIASSUNTO

I polysaccharidi solubili del sugo d'uva sono dosati con i metodi al fenolo ed al carburolo solforico.

Durante la maturazione, il tenore in pectina solubile raggiunge un massimo pei decresce.

L'incidenza di queste trasformazioni dei vini bianchi (torchiatura e decantazione) è stata esaminata.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DATOUNASHIVILI E.N., 1973. Les polysaccharides du raisin et du vin. *Bull. O.I.V.*, **46**, N° 508, 516-522.
- DUBOURDIEU D., 1978. *Etude des polysaccharides secrétés par Botrytis cinerea dans les baies de raisin. incidence sur les difficultés de clarification des vins de vendange pourrie*. Thèse docteur-ingénieur, Université de Bordeaux II.
- DUBOURDIEU D. et RIBÉREAU-GAYON P., 1980. Fractionnement sur échangeur anionique des colloïdes glucidiques solubles (gommes et pectines) du jus de raisin sain. *Connaissance Vigne Vin*, 1980, **14**, N° 1, 29-36.
- GAILLARD M., 1976. *Etude sur les colloïdes glucidiques et la filtration des vins*. Diplôme ingénieur Travaux Agricoles, Bordeaux.
- MONTREUIL J. et SPIK G., 1963. *Méthode colorimétrique des dosages des glucides totaux*. Monographie du Laboratoire de chimie biologique de la Faculté de Sciences de Lille.
- MUNTZ A. et LAINE E., 1906. Les matières pectiques dans le raisin et leur rôle dans la qualité des vins. *Ann. Brass. Dist.*, **9**, 157-173.
- PEYNAUD E., 1952. Sur les matières pectiques des moûts de raisin et des vins. *Ann. Fals. Fraudes*, **45**, 11-20.
- ROBERTSON G.L., ESCHENBRUCH R. et CRESSWELL K.J., 1979. The fractional extraction and quantitative determination of pectic substances in grapes and musts. *Am. J. Enol. Vitic.*, **30**, n° 3.
- USSEGLIO-TOMASSET L., 1976. Les colloïdes glucidiques solubles des moûts et des vins. *Connaissance Vigne Vin*, **10**, N° 2, 193-226.