J. Int. Sci. Vigne Vin, 1997, **31**, n°2, 65-83

EFFET DES POLYSACCHARIDES ET DES POLYPHÉNOLS DU VIN SUR LA CRISTALLISATION DE L'HYDROGÉNOTARTRATE DE POTASSIUM

INFLUENCE OF WINE POLYSACCHARIDES AND POLYPHENOLS ON THE CRYSTALLIZATION OF POTASSIUM HYDROGEN TARTRATE

V. GERBAUD*, Nadine GABAS*, J. BLOUIN**,
P. PELLERIN*** et M. MOUTOUNET***

*Laboratoire de Génie Chimique UMR CNRS 5503, E.N.S.I.G.C., 18 Chemin de la Loge, 31078 Toulouse Cedex 4 (France)
**Chambre d'Agriculture de la Gironde, 39 Avenue Montaigne, 33290 Blanquefort (France)
***Unité de Recherches des Polymères et des Techniques Physico-Chimiques, I.N.RA., Institut des Produits de la Vigne, 2 Place Viala, 34060 Montpellier Cedex (France)

Résumé : L'effet de fractions isolées de polysaccharides et de polyphénols du vin sur la cristallisation de l'hydrogénotartrate de potassium a été évalué par le suivi du temps d'apparition (temps d'induction) des cristaux. Les différents produits ont été testés dans les gammes de concentration correspondant à leurs teneurs habituelles dans les vins.
Les résultats obtenus permettent d'expliquer les différences de comportement et de stabilité tartrique entre les vins rouges, les vins blancs et les solutions modèles. L'inhibition constatée dans les vins rouges résulte des effets cumulés des rhamnogalacturonanes I et II et des polyphénols totaux. Les faibles teneurs en RG-II et en polyphénols des vins blancs y favorisent l'apparition des cristaux.
Des extraits de mannoprotéines d'écorces de levures se sont révélés être des inhibiteurs beaucoup plus efficaces que les mannoprotéines de levures présentes naturellement dans le vin mais leur efficacité diminue avec la température ce qui limite leur intérêt technologique potentiel.

Abstract : Potassium hydrogen tartrate (KHT) is a natural compound of wine which crystallizes spontaneously. Whereas crystal occurrence can be considered as a sign of goodness in old and famous vintage wines, it is usually thought of as a serious failure for most consumers, even though it does not alter wine quality. An efficient and cheap process of wine stabilization versus KHT crystallization has to be found yet. An alternate process to physical stabilization of wines may lie in the addition of an inhibitor of KHT crystallization. Bearing this in mind, we have investigated the effect of several polysaccharides and total polyphenols fractions on KHT crystallization through the measurement of crystal appearance time (induction time) with and without any macromolecule.
Red wines, white wines and KHT supersaturated hydroalcoholic solution exhibit different behaviours versus KHT crystallization, red wines crystallizing less easily than white wines and far less easily than hydroalcoholic solution. Those differences can be explained by our results. The innate inhibition of red wines is the sum of the inhibiting effects of rhamnogalacturonans (RG-I and RG-II), yeasts mannoproteins present in wine and of total polyphenols. Arabinogalactans show no effect on KHT crystallization whereas rhamnogalacturonans display a peculiar concentration dependent behaviour : crystal appearance is accelerated at low concentration and slowed at high concentration. More strongly observed for RG-II2 fractions, this feature is confirmed by a theory of crystallization in the presence of an additive. The theory predicts that RG-I has almost no effect on the nucleation phenomenon whereas RG-II2 enhances this phenomenon. Both RG-I and RG-II2 inhibit crystal growth by adsorption on crystal growth sites, as confirmed by single crystal growth experiments.
Red wine tendency to be more difficult to stabilize versus KHT crystallization by cooling than white wine is due to the concentration in RG-II and in total polyphenols : low RG-II content in white wine accelerates crystal appearance whereas high RG-II content in red wine slows crystal appearance. Thus it intensifies the inhibition due to the high total polyphenol content in red wine.
Mannoproteins extracted from yeast cell walls inhibit KHT crystallization far more than yeast mannoproteins present in wine. However, their efficiency is reduced as temperature is lowered.

Mots clés : hydrogénotartrate de potassium, polysaccharide, rhamnogalacturonane, arabinogalactane, mannoprotéine, polyphénol, vin, solution modèle, cristallisation, temps d'induction

Key words : potassium hydrogen tartrate, polysaccharides, polyphenols, wine, model solution, crystallization, induction time

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

INTRODUCTION

La cristallisation des sels tartriques dans les vins, hydrogénotartrate de potassium (KHT) et tartrate de calcium (CaT), a donné lieu à une abondante littérature (MARSH et JOSLYN, 1935 ; BERG et KEEFER, 1958 et 1959 ; BLOUIN *et al.*, 1979 ; DUNSFORD et BOULTON, 1981a et 1981b ; POSTEL, 1984 ; MAUJEAN *et al.*, 1986 ; RODRIGUEZ-CLEMENTE et CORREA-GOROSPE, 1988 ; RATSIMBA, 1990 ; TANAHASHI *et al.*, 1992 ; ABGUEGUEN et BOULTON , 1993 ; MCKINNON *et al.*, 1994 et 1995 ; GERBAUD *et al.*, 1996) qui n'a cependant pas permis d'élucider totalement ce phénomène pourtant observé depuis l'antiquité. La présence de cristaux de sels tartriques dans les bouteilles est due au caractère métastable du vin, à température ambiante, vis-à-vis de la cristallisation de l'hydrogénotartrate de potassium et du tartrate de calcium. Les moûts de raisins sont riches en acide tartrique et en éléments alcalins tels que le calcium et le potassium et l'augmentation du titre alcoolique volumique lors de la fermentation réduit la solubilité des sels tartriques. La cristallisation de ces sels est un phénomène lent et les cristaux de tartre peuvent se déposer peu à peu dans les cuves ou même dans les bouteilles après plusieurs années de conservation. Si ce dépôt n'altère en rien la qualité du vin, il rebute les consommateurs et entraîne des difficultés de commercialiation. Les nombreuses recherches menées depuis plus d'un siècle pour étudier cette cristallisation visent à élaborer un test fiable de stabilité des vins et une méthode universelle de traitement des vins.

Les procédés physiques actuels de stabilisation des vins visent soit à promouvoir la cristallisation du KHT avant la mise en bouteille par refroidissement à - 4°C (BLOUIN *et al.*, 1979 ; MAUJEAN *et al.*, 1986 ; RODRIGUEZ-CLEMENTE *et al.*, 1990), soit à éliminer le potassium et les ions de l'acide tartrique par électrodialyse (MOUTOUNET *et al.*, 1994) ou le potassium par adsorption sur résine échangeuse de cation (CLUTTON, 1974). Si les paramètres qui influencent la cristallisation des sels tartriques sont bien connus (titre alcoolique volumique, température, force ionique, pH...), la complexité et la diversité des vins rendent difficile l'estimation des risques cinétique et thermodynamique (évaluation de la sursaturation) de la cristallisation. Ainsi, la sursaturation en KHT est souvent surestimée à cause de la présence en solution de molécules de KHT non dissociées. Il en résulte qu'un certain nombre de vins subissent une stabilisation alors qu'ils n'en ont pas réellement besoin.

Une alternative aux procédés physiques de stabilisation consiste à trouver un additif qui inhiberait la cristallisation du KHT. Un tel additif doit être sans effet sur les qualités hygiéniques et organoleptiques du vin, peu onéreux et parfaitement acceptable pour les consommateurs. L'effet inhibiteur de quelques additifs sur la nucléation du KHT a fait l'objet de plusieurs études (CLUTTON, 1974 ; WUCHERPFENNIG *et al.*, 1984 ; MAUJEAN *et al.*, 1986). Depuis longtemps, on suspecte l'existence, parmi les macromolécules du vin, d'inhibiteurs naturels de la cristallisation du KHT. En effet, le KHT se dépose plus rapidement dans un vin soumis à une ultrafiltration qui entraîne une rétention des macromolécules, que dans un vin non filtré (MAUJEAN *et al.*, 1985 ; ESCUDIER *et al.*, 1987).

Les macromolécules du vin comprennent essentiellement des composés phénoliques et glucidiques. Elles peuvent agir à la fois sur la nucléation et sur la croissance cristalline. Les polysaccharides jouent un rôle important en œnologie : interaction avec les composés aromatiques (LUBBERS *et al.*, 1994), influence sur la flore fermentaire (RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD, 1961), capacité colmatante en filtration (BRILLOUET *et al.*, 1989 ; BELLEVILLE *et al.*, 1991), effet sur la formation des troubles protéiques (WATERS *et al.*, 1993 ; WATERS *et al.*, 1994, LEDOUX *et al.*, 1992) et sur la cristallisation tartrique (MAUJEAN *et al.*, 1985 ; LUBBERS *et al.*, 1993 ; MOINE-LEDOUX, 1996). Leur faible abondance, leur complexité et leur diversité ont longtemps freiné la compréhension de leurs propriétés. Des études récentes ont décrit en détail la composition et la structure de cinq classes de polysaccharides : arabinane (BELLEVILLE *et al.*, 1993) ; arabinogalactane-protéine de type II (SAULNIER *et al.*, 1992 ; PELLERIN *et al.*, 1993 ; PELLERIN *et al.*, 1995) (AGP) ; mannoprotéines de levure (WATERS *et al.*, 1993 ; SAULNIER *et al.*, 1991) (MP) ; rhamnogalacturonanes I (RG-I) et II (DOCO *et al.*, 1993 ; PELLERIN *et al.*, 1996) (RG-II).

Les polyphénols constituent une fraction quantitativement importante de la composition des vins rouges pouvant aller jusqu'à 4 g/l. Si la structure chimique des polyphénols du raisin est aujourd'hui mieux connue, celle des vins l'est beaucoup moins, en raison principalement de la diversité des réactions dont sont l'objet les différentes classes de polyphénols présents durant la vinification et la conservation des vins et qui seraient susceptible de modifier la stabilité tartrique des vins si l'effet inhibiteur des polyphénols se confirmait. C'est pourquoi, il a été choisi, dans une première approche, d'examiner l'incidence de l'ensemble des constituants phénoliques extraits d'un vin rouge. GAILLARD *et al.* (1990) ont, par ailleurs, intégré la valeur de l'indice de polyphénols totaux dans le test de stabilité des vins rouges.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

Le but de ce travail était de tester l'effet des fractions polysaccharidiques et polyphénoliques majeures des vins sur la cristallisation de l'hydrogénotartrate de potassium. Nous présentons dans cet article une étude expérimentale et théorique de l'effet de polysaccharides et de polyphénols sur la nucléation et la croissance du KHT dans des solutions hydroalcooliques et des vins. Les expériences réalisées, basées sur des mesures de temps d'apparition des cristaux (temps d'induction), ont été interprétées en faisant appel à une théorie de la cristallisation en présence d'additif. Les différentes fractions étudiées ont été testés à des concentrations proches de celles rencontrées dans des vins (entre 2 et 210 mg/l pour les polysaccharides et entre 20 et 4000 mg/l pour les polyphénols).

ASPECTS THÉORIQUES

I—CRISTALLISATION

La cristallisation en solution d'un soluté procède en deux étapes : une étape d'apparition des cristaux appelée nucléation et une étape de croissance de ces cristaux. Le rapport de sursaturation, S, représente la force motrice de la cristallisation. Dans le cas d'un soluté électrolytique, S est défini par la relation suivante :

$$S = \left(\frac{m_{K^+}\, m_{TH^-}\, \gamma^2_{\pm,KHT}}{\left[m_{K^+}\, m_{TH^-}\, \gamma^2_{\pm,KHT} \right]_{éq}} \right)^{1/2} = \left(\frac{m_{K^+}\, m_{TH^-}\, \gamma^2_{\pm,KHT}}{K_{ST}} \right)^{1/2} \quad (1)$$

où K_{ST} est le produit de solubilité thermodynamique, m_X la molalité (mol.kg^{-1} de solvant) en ions X libres en solution et $\gamma_{\pm,KHT}$ le coefficient d'activité moyen du KHT. On calcule $\gamma_{\pm,KHT}$ avec la formule de Debye-Hückel (ZEMAITIS *et al.*, 1986). Pour un solvant donné défini par ses propriétés diélectriques et maintenu à température et pression constantes, K_{ST}, à l'inverse de la solubilité, ne dépend pas des concentrations en soluté autres que le potassium et l'acide tartrique. Il faut noter que le produit des concentrations des ions défini par BERG et KEEFER (1958) puis par BERG et AKIYOSHI (1971), CP, s'écrit :

$$CP = \frac{m_{K^+}\, m_{TH^-}\, \rho^2}{(1 + m_{K^+})(1 + m_{TH^-})} \quad (2)$$

où CP est exprimé en {mol.(m^{-3} solution)}^{2}, m en mol.(kg^{-1} solvant), ρ en kg.(m^{-3} solution).

S est égal à 1 à l'équilibre liquide-solide, c'est-à-dire à la température de saturation. Lorsque S est supérieur à 1 à une température donnée, il existe un risque de cristallisation qui augmente quand S croît.

Le calcul de la sursaturation nécessite de résoudre l'ensemble des équilibres chimiques qui existent en solution, en particulier l'équilibre de formation du complexe neutre entre les ions potassium et bitartrate récemment mis en évidence par GERBAUD (1996) :

$$K^+ + TH^- \rightleftharpoons KHT^\circ \quad (3)$$

La constante thermodynamique de formation de cet équilibre est égale à 20 kg.mol.$^{-1}$.

Les ions impliqués dans la formation du complexe neutre KHT° ne sont pas disponibles pour la cristallisation, puisque les unités de croissance du KHT sont les ions potassium K^+ et bitartrate TH^- (RODRIGUEZ-CLEMENTE et CORREA-GOROSPE, 1988).

II — NUCLÉATION

La nucléation correspond à un changement de phase liquide-solide. Les molécules de soluté dans la solution sursaturée s'associent pour former des essaims moléculaires qui, au delà d'une certaine taille critique, deviennent stables et produisent des nuclei. On parle de nucléation primaire hétérogène d'un soluté lorsque la nucléation est induite par la présence de particules ou de surfaces solides étrangères au système. Dans ce cas, la nucléation se produit sur des sites privilégiés alors que la nucléation primaire homogène se produit de façon aléatoire dans la solution.

Les trois principales variables qui gouvernent l'apparition des nuclei sont : la température T, le rapport de sursaturation S et γ^s l'énergie spécifique de surface cristal-solution liée à l'énergie d'activation du processus de nucléation (SÖHNEL et GARSIDE, 1992). L'expression de la vitesse de nucléation, J, prend en compte ces trois variables (BURTON, 1977 ; KASHCHIEV *et al.*, 1991) :

$$J = K_J\, S \exp\left[\frac{-4\, k_a^3\, v^2\, \gamma^{s3}}{27\, k_v^2\, \delta^2\, k_B^3\, T^3\, \ln^2 S} \right] \quad (4)$$

où K_J constante cinétique dépendant notamment de la fréquence d'attachement des molécules de soluté (WALTON, 1969),

k_B constante de Boltzmann,

δ nombre d'ions formant le soluté cristallin, $\delta = 2$ pour le KHT,

k_a facteur de forme de surface des cristaux, $k_a = 5{,}40$ pour le KHT (RATSIMBA, 1990),

k_v facteur de forme de volume des cristaux, $k_v = 0{,}618$ pour le KHT (RATSIMBA, 1990),

v volume moléculaire, $v = 1{,}575.10^{-28}$ m^3.molécule^{-1} pour le KHT.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

La valeur de K_J prédite par la théorie de la nucléation primaire homogène est égale à 10^{39} $s^{-1}.m^{-3}$. L'énergie spécifique de surface est liée aux interactions entre les molécules de soluté et la solution. Dans le cas de la nucléation homogène, on peut évaluer la valeur de γ^s à partir de la solubilité de la solution (MERSMANN, 1990) :

$$\gamma^s = 0{,}414\, k_B T \left(\frac{\rho_s N_A}{M_w}\right)^{2/3} \ln\left(\frac{\rho_s}{M_w C^*}\right) \qquad (5)$$

où C^* solubilité (mol/l),
ρ_s masse volumique des cristaux (g/l),
M_w masse molaire ($g.mol^{-1}$),
N_A nombre d'Avogadro.

Les valeurs de γ_s et de K_J obtenues dans le cas d'une nucléation primaire hétérogène sont inférieures à celles de la nucléation primaire homogène.

III—CROISSANCE

La croissance cristalline est le processus qui suit la nucléation. Elle se déroule donc en solution sursaturée par augmentation de la taille des germes cristallins stables grâce à l'incorporation d'unités de croissance (molécules, atomes ou ions) dans des sites à haute énergie où elles sont fortement liées au réseau cristallin (MULLIN, 1993).

Les études de la croissance des cristaux de KHT (DUNSFORD et BOULTON, 1981 ; RODRIGUEZ-CLEMENTE et CORREA-GOROSPE, 1988 ; RATSIMBA, 1990 ; VEINTEMILLAS-VERDAGUER et RODRIGUEZ-CLEMENTE, 1990 ; SANGWAL et VEINTEMILLAS-VERDAGUER, 1994) ont conduit à l'identification du mécanisme de croissance en spirale dans les solutions aqueuses (RATSIMBA, 1990 ; VEINTEMILLAS-VERDAGUER et RODRIGUEZ-CLEMENTE, 1990 ; SANGWAL et VEINTEMILLAS-VERDAGUER, 1994) et du mécanisme de croissance par nucléation bidimensionnelle dans les solutions hydroalcooliques, c'est à dire par formation et croissance latérale de nuclei (ou îlots) bidimensionnels (RODRIGUEZ-CLEMENTE et CORREA-GOROSPE, 1988). L'expression de la vitesse linéaire de croissance, G, relie la vitesse de nucléation bidimensionnelle à la vitesse d'étalement des îlots bidimensionnels sur la surface (KASHCHIEV *et al.*, 1991). On aboutit à l'équation suivante :

$$G = K_G (S-1)^{2/3}\, S^{1/3} \exp\left[\frac{-k'^2\, a\, \kappa^2}{12 k_a\, \delta\, k_B^2\, T^2\, \ln S}\right] \qquad (6)$$

où K_G constante indépendante de la sursaturation,
k' facteur de forme des nuclei bidimensionnels, $k' = 10{,}80$ pour le KHT,
a surface moléculaire, $a = 3{,}526.10^{-19}$ $m^2.molécule^{-1}$ pour le KHT,
κ énergie spécifique de lisière cristal-solution.

κ est liée à l'énergie d'activation du processus de nucléation bidimensionnelle.

IV—TEMPS D'INDUCTION

Le temps d'induction, t_{ind}, est défini comme le temps qui s'écoule entre l'instant où l'on établit des conditions stables de sursaturation et celui où l'on détecte la variation d'une propriété physico-chimique du système, due à la formation des nuclei. La valeur du temps d'induction dépend de l'appareil de mesure utilisé (SÖHNEL et MULLIN, 1982). t_{ind} est la somme de trois termes :

$$t_{ind} = t_{tr} + t_n + t_g \qquad (7)$$

où t_{tr} temps de transition nécessaire au système pour atteindre une vitesse de nucléation et une distribution des essaims stationnaires,
t_n temps requis pour la formation d'un nucleus stable,
t_g temps nécessaire au nucleus pour grossir jusqu'à une taille détectable.

Dans le cas de l'hydrogénotartrate de potassium, t_{tr} est négligeable et t_n est du même ordre de grandeur que t_g. De plus la croissance est isotropique, de sorte que l'expression de t_{ind} s'écrit alors (KASHCHIEV *et al.*, 1991) :

$$t_{ind} \cong \left(\frac{b_p}{a_p\, J\, G^3}\right)^{\frac{1}{4}} \qquad (8)$$

où a_p facteur de forme,
b_p rapport du volume des nuclei sur le volume de la solution.

En substituant les expressions des vitesses de nucléation, J, et de croissance, G, on obtient l'expression suivante de t_{ind} : (9)

$$t_{ind} = A_u (S-1)^{-1/2}\, S^{-1/2} \exp\left[\frac{k'^2\, a\, \kappa^2}{16 k_a\, \delta\, k_B^2\, T^2\, \ln S} + \frac{k_a^3\, v^2\, \gamma^{s3}}{27 k_v^2\, \delta^2\, k_B^3\, T^3\, \ln^2 S}\right]$$

où $$A_u = \left(\frac{b_p}{a_p\, K_J\, K_G^3}\right)^{1/4} \qquad (10)$$

La courbe $\ln\{t_{ind} S^{1/2} (S-1)^{1/2}\}$ en fonction de 1/lnS est une parabole et permet d'obtenir les valeurs des énergies spécifiques de surface γ_s et de lisière κ. L'ordonnée à l'origine égale à $\ln A_u$ permet d'obtenir la valeur du produit $K_J K_G$.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

V—EFFET DES ADDITIFS

VAN DER LEEDEN *et al.* (1992 et 1993) ont présenté une théorie de l'effet d'additifs sur la vitesse de nucléation, la vitesse de croissance et le temps d'induction. Elle est fondée sur les deux hypothèses suivantes :

- En l'absence d'additif, la nucléation, toujours de nature hétérogène, se produit sur des centres de nucléation présents dans la solution (par exemple sur des poussières). Tous ces centres ont la même activité et produisent chacun un nucleus. L'énergie spécifique de surface évaluée correspond à γ^s_{ht} .

- Les molécules d'additif se comportent comme des centres de nucléation supplémentaires qui peuvent être plus actifs, moins actifs ou avoir la même activité que les centres de nucléation déjà présents.

La valeur de l'énergie spécifique de surface en présence d'additif, γ^s_a , peut être différente de γ^s_{ht} obtenue lors de la nucléation hétérogène sans additif, bien qu'étant toujours inférieure à l'énergie de surface mesurée dans le cas d'une nucléation homogène, γ^s_{homo}.

Cette théorie s'applique en particulier lorsque la croissance s'effectue selon le mécanisme de nucléation bidimensionnelle. L'expression du temps d'induction en présence d'additif est alors la suivante :

$$t_{ind,a} = t_{ind} \frac{(1+k_0C_a)^{1/4}\,(1+k_sC_a)^{1/2}}{(1+k_{2D}C_a)^{1/4}\,(1+k_{3D}C_a)^{1/4}} \qquad (11)$$

où C_a concentration en additif,

k_{2D} constante liée au nombre de centres de nucléation au sein de la solution,

k_{3D} constante liée au nombre de centres de nucléation bidimensionnelle sur la surface,

k_0, k_s constantes d'adsorption reliées respectivement à la fraction de la surface cristalline, θ_0, et à la fraction des marches de croissances, θ_S, recouvertes par les molécules d'additifs par une équation de type Langmuir :

$$1-\theta_0 = \frac{1}{1+k_0C_a} \qquad (12)$$

$$1-\theta_s = \frac{1}{1+k_sC_a} \qquad (13)$$

EXPÉRIMENTATION MATÉRIELS ET MÉTHODES

I — MONTAGE EXPÉRIMENTAL

Le montage expérimental permettant de mesurer le temps d'induction est constitué de deux parties : un réacteur de 250 ml chicané et doté d'une double enveloppe, et un système d'acquisition numérique de la température et de la conductivité de la solution contenue dans le réacteur (figure 1). L'agitation à 1200 tr.min^{-1} est assurée par une hélice marine. La température de la solution est mesurée au moyen d'une sonde Pt 100 (classe A au 1/5^e) précise à 0,03°C. Une électrode de conductivité de marque TACUSSEL, plongée dans la solution permet d'enregistrer des variations de conductivité de 1 µS.cm^{-1} pour une conductivité de la solution de l'ordre de quelques mS.cm^{-1}.

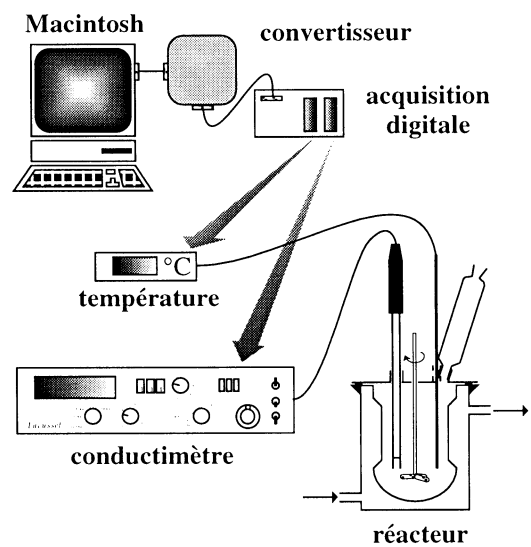


Fig. 1 — Montage expérimental

Figure 1 — Experimental apparatus

Mesurer le temps d'induction consiste d'abord à établir la sursaturation désirée, puis à attendre que les cristaux apparaissent. La sursaturation en KHT est obtenue par dissolution de cristaux d'hydrogénotartrate de potassium pendant 2 heures à 35°C, suivie d'un refroidissement du liquide jusqu'à la température souhaitée (T). Dans le cas des vins, il importe de connaître les teneurs en potassium et en acide tartrique ainsi que le pH pour calculer le rapport de sursaturation (équation (1)). L'origine des temps d'induction correspond à l'instant où la température de la solution est égale à T +0,2°C, comme le montre la figure 2. On remarque sur cette figure qu'à l'instant correspondant à $t_{ind} = 0$ la conductivité de la solution n'est pas encore stable. Le temps d'induction est déterminé en traçant la tangente à la

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

TABLEAU I

Caractéristiques des vins étudiés

Table I — Chemical features of several wines used in this study

Caractéristiques	Vins rouges			Vins liquoreux	
	VR1	VR2	VR3	BL1	BL2
pH	3,70	3,59	3,74	3,46	3,13
Titre alcoométrique (%Vol)	12,0	11,4	12,0	12,3	11,9
Potassium (mM)	39,90	23,35	27,34	36,06	18,08
Calcium (mM)	1,75	2,37	2,27	2,69	2,54
Sodium (mM)	*	0,52	0,61		0,48
Magnésium (mM)		2,92	2,92		2,51
SO_2 libre (mg/l)		51	29		23
SO_2 total (mg/l)		152	130		110
Acide tartrique (mM)	12,62	8,00	7,32	11,29	11,33
Acide malique (mM)	7,46	0,75	0,75	16,40	45,49
Acide D-lactique (mM)	5,42	3,33	4,44	4,41	2,22
Acide L-lactique (mM)	27,08	16,65	18,65	2,93	0,22
Acide citrique (mM)	0,21	0,21	0,31	1,51	1,66
Acide succinique (mM)	4,23	4,74	5,08	5,08	5,25
Acide gluconique (mM)		0,00	0,10		1,32
$[K^+]/[TH^-]$ à 25°C	4,83	4,51	5,72	5,13	3,26

* L'absence de valeur indique que l'analyse chimique correspondante n'a pas été réalisée.

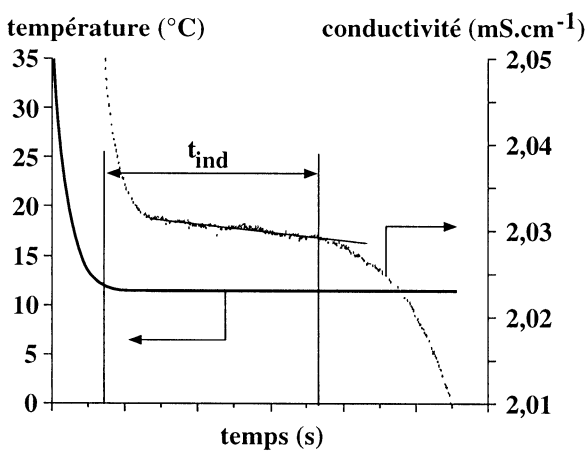


Fig. 2 — Evolution de la conductivité et de la température d'une solution au cours d'une expérience type de nucléation

Fig. 2 — Variation of temperature and conductivity during a typical nucleation experiment

courbe de conductivité et en repérant l'instant où il y a un changement de pente de la tangente dû à une diminution des ions en solution qui se retrouvent sous forme solide. La précision sur l'évaluation du temps d'induction est égale à cinq minutes et la répétabilité des expériences est bonne avec une dispersion des résultats inférieure à 15 p. cent.

Au cours de la période à température constante, on note une faible et régulière diminution de la conductivité de la solution alors que la nucléation n'a pas encore eu lieu. Pour les vins, cela pourrait s'expliquer par un encrassement de l'électrode de conductimétrie par les matières colloïdales du vin ; mais ce phénomène pourrait, également, être dû à la modification de la structure moléculaire de la solution, par exemple à cause de la formation d'essaims moléculaires en croissance mais n'ayant pas atteint la taille critique pour devenir des nuclei. L'utilisation d'un faisceau de lumière délivré par une fibre optique permet de confirmer visuellement l'apparition des nuclei.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

II — COMPOSITION DES VINS ET DES SOLUTIONS MODÈLES

Nous avons étudié la cristallisation du KHT dans des vins et dans des solutions modèles.

Trois vins rouges et deux vins liquoreux de la région de Bordeaux ont été utilisés au cours de cette étude. Leur composition chimique est détaillée dans le tableau I. Tous ces vins sont caractérisés par un excès de potassium par rapport à l'acide tartrique, comme le montrent les valeurs du rapport des concentrations $[K^+]/[TH^-]$ qui est supérieur à 1. Excepté pour BL2, le pH des vins est situé dans une zone où l'ion bitartrate, TH^-, prévaut sur les autres espèces tartriques de sorte que le risque de cristallisation du KHT dans ces vins est important.

La modélisation d'un vin passe par le respect de ses propriétés de solvant ; c'est pourquoi une solution modèle doit contenir le même pourcentage volumique d'éthanol que le vin correspondant. L'influence d'autres espèces chimiques contenues dans le vin, comme le glycérol, sur les propriétés du solvant ne peut se faire que par l'intermédiaire d'une modification de la constante diélectrique. Elle est négligeable en raison des concentrations marginales de ces autres espèces par rapport à celles de l'éthanol et de l'eau. Les solutions modèles des vins cités dans le tableau I, notées SMY pour un vin Y, ont le même titre alcoolique volumique, les mêmes teneurs en potassium et en acide tartrique et le même pH que celui des vins modélisés afin de conserver les mêmes conditions thermodynamiques de cristallisation.

D'autres solutions hydroalcooliques modèles ont été préparées en dissolvant 2,42 g/l de KHT et 2,0 g/l de K_2SO_4 dans de l'eau bidistillée pendant 1 h à 35°C en présence d'éthanol (TAV = 12 p. cent). Les solutés présents dans les solutions modèles sont K^+, KHT° (hydrogénotartrate de potassium moléculaire), H_2T, HT^-, T^{2-}, HSO_4^- et SO_4^{2-}. La valeur de $\gamma_{\pm,KHT}$ est voisine de 0,81 et K_{ST} est égal à $5,14.10^{-5}$ $mol^2.kg^{-2}$ pour un TAV de 12 p. cent à 11,5°C. L'ajout de K_2SO_4 permet de respecter la non stœchiométrie entre le potassium et l'acide tartrique dans les vins. La présence de sulfates dans les vins a motivé le choix de K_2SO_4 plutôt que celui d'un autre sel de potassium. Le pH de la solution, égal à 3,77 à 25°C, est compris dans la gamme de pH de la plupart des vins rouges de la région de Bordeaux. Afin d'étudier l'évolution du temps d'induction en fonction de la sursaturation, plusieurs autres solutions modèles ont été préparées selon la même procédure, en conservant le même rapport entre le potassium et l'acide tartrique.

III — POLYSACCHARIDES ET POLYPHÉNOLS TESTÉS

Nous avons testé les effets de treize polysaccharides d'origine vinicole, de deux polysaccharides extraits d'écorces de levure et d'une fraction de polyphénols totaux d'un vin rouge :

- une fraction de rhamnogalacturonane I (RG-I),

- deux préparations de rhamnogalacturonane II monomère RG-II_2 et dimère RG-II_3) (PELLERIN et *al.*, 1996).

- trois fractions de mannoprotéines de levures présentes dans le vin (MP_0, MP_1, MP_2). La fraction MP0 a été séparée en trois sous-fractions de masse molaire décroissante -a , b et c par chromatographie d'exclusion stérique.

- quatre arabinogalactane-protéines (AGP_0, AGP_2, AGP_3, AGP_4) (PELLERIN *et al.*, 1995)

- des mannoprotéines extraites d'écorces de levures, précipitées (MPla) ou non (MPl) à l'alcool (LUBBERS *et al.*, 1993).

- une fraction représentative des polyphénols totaux d'un vin rouge.

Le choix de MPl et MPla a été motivé par des études récentes sur l'effet inhibiteur de mannoprotéines de même type sur la cristallisation du KHT (LUBBERS *et al.*, 1993 ; MOINE et DUBOURDIEU, 1995).

La méthode de préparation des polysaccharides, des mannoprotéines de levures et des polyphénols est fournie en annexe.

La composition des dix fractions homogènes représentant les principaux polysaccharides du vin utilisés est détaillée dans le tableau II. Chaque classe de polysaccharide a été numérotée en fonction de leur ordre d 'élution en chromatographie d'échange d'anions, et donc en fonction de la densité de charges négatives.

L'examen du tableau II amène quelques remarques :

-Les mannoprotéines de levures présentes dans le vin, MP_0, MP_1 et MP_2 diffèrent principalement par la valeur de leur densité de charge négative. Cette densité de charge, due à la présence de groupements phosphates, est indépendante du pH dans la zone de pH des vins (VERNHET *et al.*, 1996). Ces mannoprotéines sont relarguées par les levures au cours de la fermentation. Elles représentent environ 30 p. cent des polysaccharides des vins, pour des concentrations comprises entre 100 et 200 mg/l.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

TABLEAU II
Composition chimique des polysaccharides utilisés
Table II — Chemical composition of polysaccharides

	MP_0 f	MP_1	MP_2	AGP_0	AGP_2	AGP_3	AGP_4	RG-I	RG-II_2	RG-II_3
protéines [a]	6,2	3,5	4,6	3,6	3,0	2,4	0,8	1,6	0,6	0,6
acides uroniques [a]	*			2,7	7,4	12,4	20,4	42,4	36,9	39,0
sucres neutres [a]	92,7	82,8	72,4	79,5	76,2	77,0	61,3	44,2	27,3	24,9
phosphore [a]	0,1	0,3	0,4							
densité de charge négative (µéq/g)	80	540	680	55	700	1400	1700	> 2000	1900	1950
masse molaire				165000	224000	236000	237000		4750	9500
nbre de charges par molécule [z]				9	157	330	403		9	18
nbre de groupes uronosyles par molécule [b]				25	95	170	280		9	18
nbre de groupes carboxyliques par molécule [c]									13	26
rhamnose [d]	*		0,5	1,1	3,1	7,1	10,8	37,9	16,8	16,9
arabinose [d]	0,9	0,8	3,8	40,5	39,2	43,2	28,5	8,3	11,2	9,7
xylose [d]							1,3	2,9		
mannose [d]	96,9	97,6	89,9	0,5	1,3	1,0	1,9	1,7		
galactose [d]	0,6	0,9	4,2	53,8	49,9	39,8	40,5	7,9	6,6	5,0
glucose [d]	1,6	0,7	1,6	1,0	1,1	0,9	1,4	0,7		
2-*O*-methyl-fucose [d]								0,5	3,7	4,2
fucose [d]								3,4	3,0	3,6
2-*O*-methyl-xylose [d]									2,8	3,1
apiose [d]									6,2	7,2
acide glucuronique [d]				3,1	5,4	6,1	13,3	2,9	3,3	3,4
acide galacturonique [d]						1,9	2,3	33,8	38,2	37,2
acide acérique [d]									1,2	2,2
DHA [d,e]									2,6	2,5
KDO [d,e]									4,4	5,0

[a] p. cent de matière sèche ; [b] calculé à partir du taux en acides uroniques non estérifiés ; [c] calculé sur la base de la teneur en acides uroniques, acérique, KDO et DHA ; [d] p. centmol. ;
[e] KDO (acide 3-Déoxy-D-*manno*-2-octulosonique), DHA (acide 3-Déoxy-D-*lyxo*-2-heptulosarique) ;
[f] La fraction MP_0 a été séparée en trois sous-fractions, notées MP_0-a, MP_0-b, MP_0-c par chromatographie d'exclusion stérique.
*L'absence de valeur indique un pourcentage inférieur à 0,2 p. cent du total.

© Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

- Les arabinogalactanes de type II, AGP_0, AGP_2, AGP_3 et AGP_4, diffèrent principalement par leurs taux d'acides uroniques (SAULNIER *et al.*, 1992 ; PELLERIN *et al.*, 1993 et 1995). A l'inverse des mannoprotéines, leur densité de charge négative, associée à la dissociation des fonctions carboxyles des acides uroniques, s'accroît très fortement lorsque le pH passe de 2 à 4 (VERNHET *et al.*, 1996). Ils constituent le groupe de polysaccharides le plus abondant dans les vins (100 à 200 mg/l).

- Le rhamnogalacturonane RG-I a la densité de charge négative la plus élevée parmi les fractions testées (supérieure à 2000 $\mu eq.g^{-1}$). Il représente environ 5 p. cent des polysaccharides totaux des vins rouges, soit environ 20 à 50 mg/l.

- La présence des acides uroniques et de sucres acides inhabituels (acide acérique, Kdo et Dha) dans les molécules de RG-II est responsable de leur densité de charge élevée (VERNHET *et al.*, 1996). Les deux fractions sont de composition très proche puisqu'elles correspondent aux formes monomère ($RG\text{-}II_2$) et dimère ($RG\text{-}II_3$) de la même molécule. $RG\text{-}II_3$ a des propriétés complexantes vis-à-vis des cations plurivalents (O'NEILL *et al.*, 1996 ; PELLERIN *et al.*, 1997). Le RG-II sous ces deux formes représente environ 25 p. cent des polysaccharides totaux des vins rouges et un pourcentage moindre dans les vins blancs : on en trouve entre 20 et 50 mg/l dans les vins blancs et entre 80 et 150 mg/l dans les vins rouges.

- La composition chimique des mannoprotéines extraites d'écorces de levures (MPl et MPla) est très proche de celle des mannoprotéines de levures présentes dans le vin mais leurs propriétés particulières vis à vis des troubles protéiques et de la précipitation tartrique (LEDOUX *et al.*, 1992 ; LUBBERS *et al.*, 1993 ; MOINE et DUBOURDIEU, 1995) indiquent qu'ils présentent vraisemblablement des particularités structurales non encore élucidées.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Des expériences préliminaires ont montré que la solubilité du KHT n'est pas affectée par la présence des additifs dans la gamme de concentration étudiée.

I — CRISTALLISATION DU KHT : COMPORTEMENT DE VINS ET DE SOLUTIONS MODÈLES

La figure 3 représente les temps d'induction du KHT mesurés dans les vins et dans leurs solutions hydroalcooliques modèles en fonction du rapport de sursaturation S. Les expériences représentées sur la

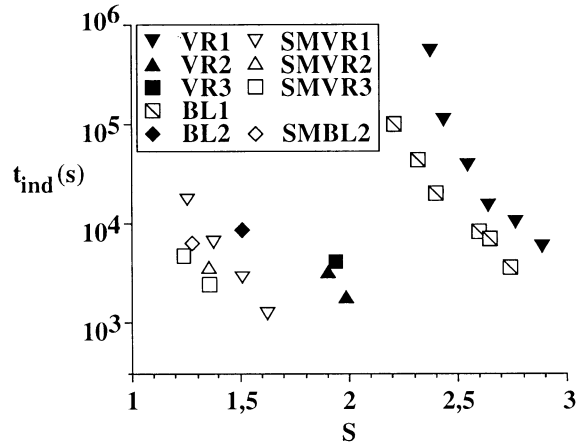


Fig. 3 — Temps d'induction du KHT en fonction du rapport de sursaturation pour des vins et leurs solutions modèles

Fig. 3 — Induction time of KHT crystallization versus supersaturation ratio for several wines and their model solutions

figure 3 n'ont pas été réalisées à la même température, car nous avons été obligés de fixer des températures opératoires entre 13 et 25°C avec les solutions modèles pour avoir des temps d'induction dans des délais raisonnables et inférieurs à une semaine. Pour cette même raison, les expériences dans les vins ont été réalisées à 11°C avec ajout d'hydrogénotartrate de potassium afin d'accroître la sursaturation.

Il y a des différences notables entre les vins : les vins qui ont la plus forte concentration en potassium (VR1 et BL1) cristallisent aux plus fortes sursaturations, à savoir aux basses températures, tandis que BL2, qui a la plus faible teneur en potassium, cristallise à des sursaturations assez proches de celles de sa solution modèle.

De façon générale, on note que pour obtenir un temps d'induction donné, le vin nécessite une sursaturation plus importante et donc une température plus faible que la solution modèle correspondante. Les différences de comportement constatées entre les vins rouges ne peuvent pas être imputées à leurs compositions chimiques différentes en K^+ et TH^- puisque que VR1, VR2 et VR3 ont des rapports de concentration $[K^+]/[TH^-]$ équivalents (tableau I). L'explication provient probablement des variations non déterminées dans leurs compositions colloïdales. VR2 et VR3 sont issus de raisins récoltés sur la même parcelle et ont des comportements semblables.

L'écart vin-solution modèle semble plus important pour les vins rouges que pour le vin blanc. Ce résultat renforce les observations de MAUJEAN *et al.* (1986) et des professionnels du vin selon lesquelles les vins rouges ont un intervalle de saturation, définit par la dif-

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

TABLEAU III

Energie spécifique de surface, γ^s, et énergie de lisière, κ, pour le KHT en solution hydroalcoolique sans additif et en présence de RG-I ou de $RGII_2$.

Table III – Specific surface energy, γ^s, and specific edge energy, κ, for KHT crystallization in hydroalcoholic solution without any additive and with RG-I or $RGII_2$

	γ^s (mJ.m^{-2})	κ (J.m^{-1})
sans additif	7,8	$3,0\ 10^{-12}$
RG-I (30 mg/l)	10,0	$6,6\ 10^{-12}$
$RG\text{-}II_2$ (60 mg/l)	7,0	$5,7\ 10^{-12}$

férence de la température de cristallisation spontanée et de la température de saturation, plus grand et sont plus difficiles à stabiliser par un traitement par le froid que les vins blancs.

II—INFLUENCE DE LA NATURE ET DE LA CONCENTRATION EN ADDITIF

Les concentrations des produits testés sont représentatives de celles rencontrées dans les vins : 2 à 210 mg/l pour les polysaccharides et 20 à 4000 mg/l pour les polyphénols totaux.

L'influence de la concentration en additif, C_a, sur le temps d'induction est mesurée par le rapport entre les temps d'induction en présence, $t_{ind,a}$, et en absence d'additif, t_{ind}. Les variations de $t_{ind,a}/t_{ind}$ selon les concentrations en polysaccharides et polyphénols sont représentés sur les figures 4 à 9, respectivement, pour AGP_0, AGP_2, AGP_3 et AGP_4 ; pour la fraction MP_0 et ses sous-fractions a, b et c ; pour MP_0, MP_1 et MP_2 ; pour RG-I, $RG\text{-}II_2$ et $RG\text{-}II_3$; pour les polyphénols totaux et pour MPl et MPla à deux sursaturations différentes. La valeur du temps d'induction sans additif pour la solution modèle contenant 2,42 g/l de KHT et 2 g/l de K_2SO_4 et maintenue à T = 11,5°C (S = 1,67) est proche de 90 min avec nos conditions expérimentales.

Lorsque le rapport $t_{ind,a}/t_{ind}$ est inférieur à 1, la présence de l'additif a pour effet de diminuer le temps d'induction du KHT. Lorsque $t_{ind,a}/t_{ind}$ est supérieur à 1, l'additif contribue à augmenter le temps d'induction. On remarque une grande diversité des résultats selon le type de produit ajouté à la solution.

La figure 4 montre que les fractions d'AGP ont un très léger effet inhibiteur sur le phénomène d'apparition des cristaux de KHT dans la plage de concentration étudiée. Un des mécanismes supposé des colloïdes sur la cristallisation du KHT décrit une adsorption des

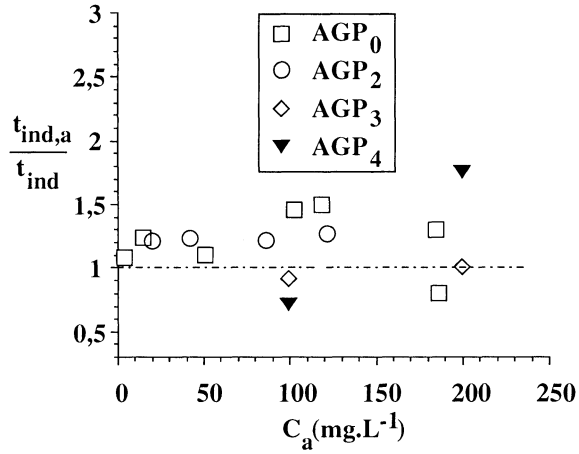


Fig. 4 — Evolution de $t_{ind,a}/t_{ind}$, en solution hydroalcoolique modèle en fonction de la concentration en arabinogalactane-protéine à T = 11,5°C (S = 1,67)

Figure 4–Dependence of $t_{ind,a}/t_{ind}$ on the concentration of arabinogalactan-protein in hydroalcoholic solutions at T = 11.5°C (S = 1.67)

groupements chimiques chargés négativement sur la face (0 1 0), électropositive en raison de la présence des ions K^+ (LUBBERS *et al.*, 1993). Or les AGPs testés présentaient des densités de charge négatives élevées variant dans un rapport 1 à 9 (2,7 à 20,4 p. cent d'acide uronique) et qui pourraient leur permettre de former des liaisons covalentes avec la face (0 1 0). Un tel mécanisme d'inhibition n'a pu être observé.

Les mannoprotéines du vin, à l'exception de MP_2, ont tendance à retarder légèrement l'apparition des cristaux de KHT lorsque leur concentration passe de 0 à 200 mg/l (figures 5 et 6). Cet effet inhibiteur est peu prononcé et contraste avec les résultats obtenus avec des mannoprotéines extraites d'écorces de levures par traitements physico-chimiques (LUBBERS, 1993 ; LUBBERS *et al.*, 1993) ou enzymatique (MOINE et DUBOURDIEU, 1995). Le mécanisme d'interaction électrostatique entre la charge négative des mannoprotéines et les ions K^+ de la face (0 1 0), proposé par LUBBERS *et al.* (1995), n'a pu être confirmé puisque la fraction de mannoprotéine la plus chargée, MP_2, n'a pas eu d'effet sur la cristallisation du KHT. Selon MOINE et DUBOURDIEU (1995), les mannoprotéines de levures d'un poids moléculaire moyen de 40 - 50 kDa inhibent la cristallisation du KHT. Cette condition ne semble pas être le seul facteur déterminant de l'activité inhibitrice observée par MOINE et DUBOURDIEU (1995) puisque la fraction MP0-c, qui présente une répartition de masses molaires similaire, n'a pas présenté un tel effet inhibiteur.

Les rhamnogalacturonanes I et II (figure 7) présentent l'effet particulier suivant : légère accélération

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

TABLEAU IV

Paramètres de la loi de temps d'induction du KHT : théorie de la nucléation en présence d'additif. Taux de recouvrement de la surface, θ_0, et des macromarches, θ_s, par adsorption des molécules de RG-I ou de RG-II$_2$

Table IV – Parameters of the induction time law for KHT : nucleation theory in presence of an additive. Surface poisoning, θ_0, and step poisonning, θ_s, by adsorption of RG-I or RG-II$_2$ molecules

polysaccharide	k_0 (L.mg^{-1}) [a]	k_0 (L.mg^{-1}) [a]	k_{2D} (L.mg^{-1}) [a]	k_{3D} (L.mg^{-1}) [a]	θ_0 [b]	θ_0 [c]
RG-I (30 mg/l)	0,006	0,48	1,62	1,46 10^{-10}	23 %	96 %
RG-II$_2$ (60 mg/l)	0,004	0,11	2,36	6,35 10^{-4}	17 %	85 %

[a] équation (11) ; [b] équation (12) ; [c] équation (13)

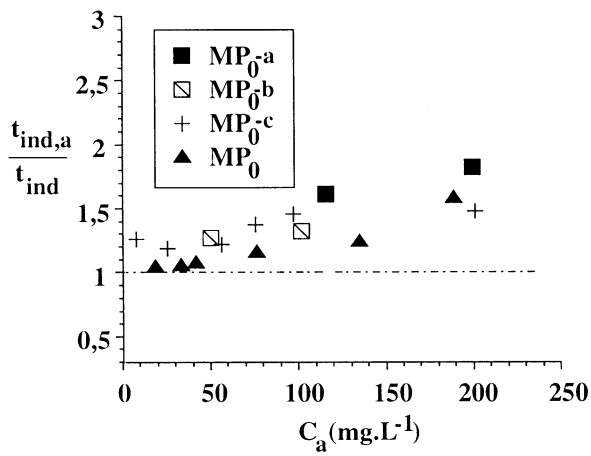


Fig. 5 — Évolution de $t_{ind,a}/t_{ind}$, en solution hydroalcoolique modèle en fonction de la concentration en MP0 à T = 11,5°C (S = 1,67)

Fig. 5 — Dependence of $t_{ind,a}/t_{ind}$ on the concentration of MP0 in hydroalcoholic solutions at T = 11.5°C (S = 1.67)

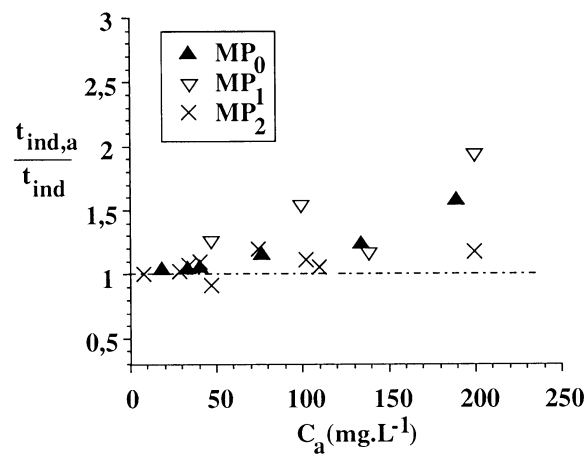


Fig. 6 — Evolution de $t_{ind,a}/t_{ind}$, en solution hydroalcoolique modèle en fonction de la concentration en MP0, MP1 et MP2 à T = 11,5°C (S = 1,67).

Fig. 6 — Dependence of $t_{ind,a}/t_{ind}$ on the concentration of MP0, MP1 and MP2 in hydroalcoholic solutions at T = 11.5°C (S = 1.67)

de la cristallisation du KHT à faible concentration puis inhibition à plus forte concentration. Un tel comportement a déjà été mis en évidence par VAN DER LEEDEN *et al.* (1993) pour la cristallisation de $BaSO_4$ en présence d'un copolymère. On remarque que RG-I présente l'effet inhibiteur le plus marqué parmi tous les polysaccharides naturels du vin ; cet effet croît en même temps que la concentration. Cette inhibition reste cependant faible aux concentrations habituellement rencontrées dans les vins (< 50 mg/l). L'effet accélérateur de la cristallisation par le RG-I à très faible concentration est à peine perceptible. Il est plus évident pour RG-II$_2$ et RG-II$_3$ aux environ de 20 mg/l. L'inhibition de la cristallisation aux fortes concentrations est plus marqué pour RG-II$_3$ que pour RG-II$_2$. RG-II$_3$ étant le dimère de RG-II$_3$, il semble que la taille et le nombre de charges ont une influence sur le mécanisme d'action de ces deux polysaccharides.

TABLEAU V

Temps de croissance de cristaux de KHT en solution hydroalcoolique à 12 % v/v. (T = 21°C ; S = 1,18)

Table V — Growth time for KHT crystals under conditions, T = 21°C (S = 1.18), in an hydroalcoholic solution (12 % v/v)

polysaccharide	concentration (mg/l)	durée de l'expérience (h)
aucun	—	24
RG-I	20	64
RG-II$_2$	20	64
MPla	20	233

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

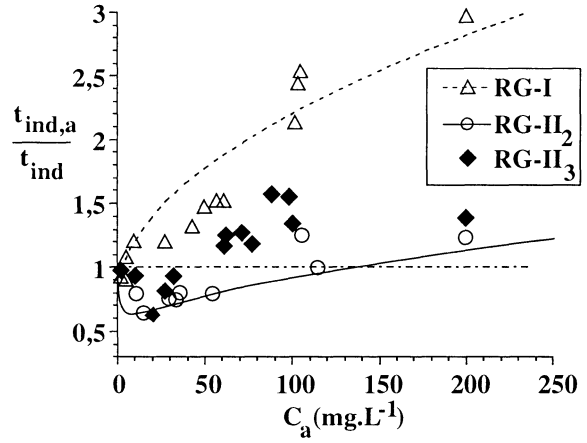


Fig. 7 — Evolution de $t_{ind,a}/t_{ind}$, en solution hydroalcoolique modèle en fonction de la concentration en rhamnogalacturonane à T = 11,5°C (S = 1,67)

Les courbes sont tracées d'après l'équation (11)

Fig. 7 — Dependence of $t_{ind,a}/t_{ind}$ on the concentration of rhamnogalacturonan in hydroalcoholic solutions at T = 11.5°C (S = 1.67)

Curves are plotted according to equation (11)

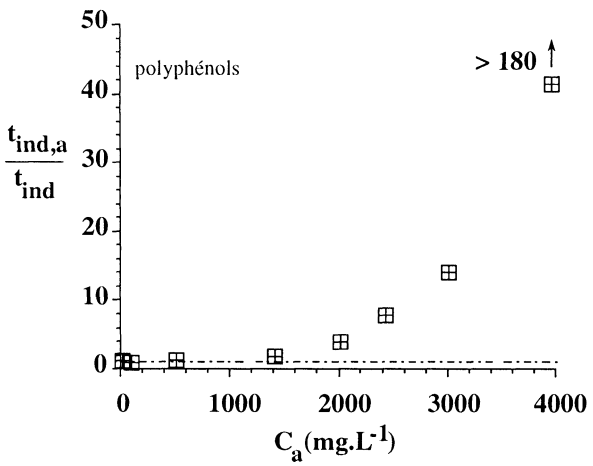


Fig. 8 — Evolution de $t_{ind,a}/t_{ind}$, en solution hydroalcoolique modèle en fonction de la concentration en polyphénols totaux à T = 11,5°C (S = 1,67)

Fig. 8 — Dependence of $t_{ind,a}/t_{ind}$ on the concentration of total polyphenolic fraction in hydroalcoholic solutions at T = 11.5°C (S = 1.67)

En comparant aux résultats obtenus avec les polysaccharides du vin, ceux des polyphénols totaux d'un vin rouge, on note que ces derniers sont des inhibiteurs efficaces de l'apparition des cristaux de KHT (figure 8), en particulier pour C_a supérieur à 2 g/l. CORREA-GOROSPE *et al.* (1991) ont détecté des polyphénols adsorbés sur la surface de cristaux de KHT récoltés au cours de différentes opérations de vinification. Les polyphénols totaux bloquent donc probablement les sites de croissances des cristaux de KHT. Notons qu'un effet reconnu des inhibiteurs de croissance est d'agir sur la phase de nucléation en empêchant les essaims moléculaires de croître suffisamment pour atteindre la taille critique (NYVLT et ULRICH, 1995).

Les résultats obtenus avec les polysaccharides du vin et les polyphénols donnent plusieurs indications permettant d'expliquer les différences de comportement entre les vins et les solutions modèles vis-à-vis de la cristallisation du KHT (figure 3). Cette différence résulterait d'un effet conjugué de plusieurs fractions de polysaccharides et de polyphénols. La faiblesse des teneurs en polyphénols et en RG-II des vins blancs y favorise la cristallisation du THK par rapport aux vins rouges. Les vins blancs sont pauvres en polyphénols totaux et contiennent entre 20 et 50 mg/l de RG-II, ce qui correspond aux concentrations favorisant une accélération de la cristallisation. En revanche, les concentrations moyennes dans les vins rouges en RG-II, supérieures à 100 mg/l, et en polyphénols totaux, entre 1 et 4 g/l, provoquent une inhibition de la cristallisation. Tout traitement conduisant à un appauvrissement en ces deux types de macromolécules colloïdales, comme un passage sur suport filtrant, va augmenter l'instabilité du vin.

Lors d'un traitement au froid, les vins blancs cristallisent plus facilement que les vins rouges en partie à cause de leurs concentrations en RG-II et en polyphénols totaux ; les concentrations des autres polysaccharides connus sont similaires pour les vins blancs et rouges. Ces résultats confirment les observations de GAILLARD *et al.* (1990) sur la relation entre l'intervalle de saturation d'un vin et son indice de polyphénols totaux.

Les mannoprotéines extraites d'écorces de levures (MPl et MPla) ralentissent la cristallisation du KHT (figure 9). Cette influence est surtout très sensible pour des concentrations supérieures à 50 mg/l à 11,5°C (S = 1,67). La précipitation à l'alcool n'a pas d'impact significatif sur l'intensité de l'effet inhibiteur des mannoprotéines, contrairement à ce qu'avaient remarqué LUBBERS *et al.* (1993) avec des MPl similaires.

La figure 9 met également en évidence qu'à rapport $t_{ind,a}/t_{ind}$ égal, la quantité de MPla à ajouter est d'autant plus importante que la température est basse (sursaturation plus élevée). Cet effet a déjà été observé par LUBBERS *et al.* (1993). Une plus forte sursaturation tend généralement à accroître la rugosité des faces cristallines et donc le nombre de sites de croissance : une plus grande quantité de MPla est alors nécessaire pour inhiber la cristallisation du KHT par blocage de ces sites. Une sursaturation plus élevée peut aussi signifier une compétition accrue entre le flux d'unités de crois-

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

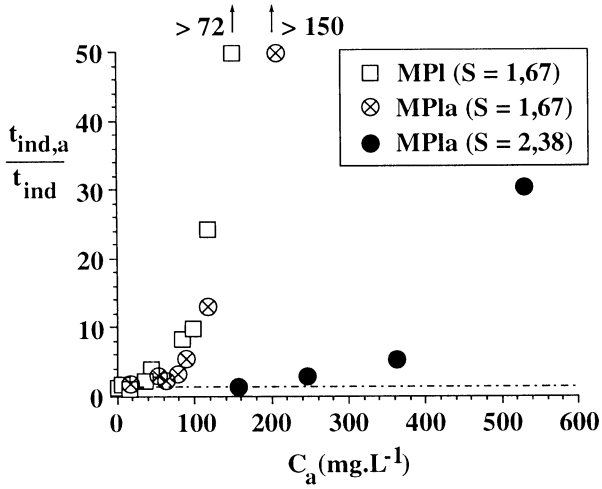


Fig. 9 — Évolution de $t_{ind,a}/t_{ind}$, en solution hydroalcoolique modèle en fonction de la concentration en MPl et MPla à T = 11,5°C (S = 1,67) et à T = 2,0°C (S = 2,38)

Fig. 9 — Dependence of $t_{ind,a}/t_{ind}$ on the concentration of MPl and MPla in hydroalcoholic solutions at T = 11.5°C (S = 1.67)and T = 2.0°C (S = 2,38)

sance vers la surface et la diffusion des molécules d'inhibiteur vers les sites de croissance. Enfin, une température faible peut avoir un effet sur la conformation en solution des macromolécules que sont les polysaccharides et les polyphénols (BRUGIRARD, 1979), les rendant moins aptes à bloquer la croissance des faces cristallines. L'effet des mannoprotéines extraites d'écorces de levure a été testé dans des vins. On observe les mêmes tendances que dans les solutions modèles.

III—INFLUENCE DE LA SURSATURATION

L'effet des fractions RG-I et RG-II$_2$ a nécessité une étude plus approfondie en raison de leur comportement particulier vis à vis du mécanisme de cristallisation.

L'influence de la sursaturation sur le temps d'induction du bitartrate de potassium a été étudiée en solution hydroalcoolique sans additif et en présence de 30 mg/l de RG-I ou de 60 mg/l de RG-II$_2$. Les expériences ont été réalisées à 11,5°C avec des solutions modèles diversement sursaturées mais conservant le même rapport potassium-acide tartrique. Les concentrations pour RG-I et RG-II$_2$ ont été choisies pour donner des temps d'induction $t_{ind,a}$ assez proches du temps d'induction t_{ind} mesuré sans polysaccharide.

L'analyse des résultats sur l'influence de la sursaturation sur le temps d'induction en présence de polysaccharide est réalisée à l'aide de l'équation (9). Le $\ln\{t_{ind}(S^{-1})^{1/2}S^{1/2}\}$ en fonction de 1/lnS est tracée à la figure 10. La sursaturation a été calculée selon l'équation (1) en tenant compte du complexe KHT° (équation (3)).

Le lissage parabolique des valeurs expérimentales permet, à l'aide de l'équation (9) d'estimer les valeurs de l'énergie spécifique de surface, γ^s, et de l'énergie de lisière, κ. Ces valeurs sont reportées dans le tableau III. La comparaison des valeurs de γ^s et de κ mesurées en présence de RG-I ou de RG-II$_2$ et sans polysaccharide met en évidence les conclusions suivantes :

En l'absence d'additif, la valeur de γ^s est comparable à ce qui est publié dans la littérature (CORREA-GOROSPE et RODRIGUEZ-CLEMENTE, 1991) mais reste bien inférieure aux 38,4 mJ.m^{-2} associé à la nucléation primaire homogène que l'on trouve en appliquant l'équation (5) (C* = 2,02 g/l à 11,5°C et 12 p. cent v/v d'éthanol ; M_w = 188,177 kg. mol^{-1} ; ρ^s = 1 984 kg.m^{-3}). L'ordonnée à l'origine des paraboles de la figure (10) est égale à -lnA_u, Au étant défini par l'équation (10). Pour des valeurs « raisonnables » de $b_p = 5.10^{-9}$, $a_p = 1$ et de $K_G = 10^{-7}$ à 10^{-12} m.s^{-1} (KASHCHIEV *et al.*, 1991 ; VAN DER LEEDEN *et al.*, 1992 ; SÖHNEL et GARSIDE, 1992), les valeurs de KJ calculées sont comprises entre $1,6.10^{20}$ et 3.10^{35} s^{-1}m^{-3}. Ces valeurs sont inférieures à la valeur théorique de la nucléation homogène, 10^{39} s^{-1}.m^{-3}. De même que CORREA-GOROSPE et RODRIGUEZ-CLEMENTE (1991), nous pouvons conclure que la nucléation primaire qui se produit lors de nos expériences est de nature hétérogène.

Avec RG-II$_2$, la valeur de γ^s est légèrement inférieure à celle évaluée sans polysaccharide, alors qu'en présence de RG-I, γ^s est légèrement supérieure à la valeur sans polysaccharide. Les explications diffèrent suivant le modèle retenu pour appréhender le temps d'induction :

Si l'on considère que les molécules d'additif peuvent s'adsorber sur les essaims moléculaires, la valeur de γ^s mesurée en présence d'additif indique une augmentation ou une diminution de l'énergie d'activation de la nucléation (NYVLT et ULRICH, 1995). Si ce modèle est retenu, les résultats que nous avons obtenus indiquent que la nucléation du KHT est thermodynamiquement favorisée par RG-II$_2$ et est défavorisée par RG-I.

VAN DER LEEDEN *et al.* (1993) ont proposé un modèle sur l'effet des additifs sur les vitesses de nucléation, de croissance et sur le temps d'induction. Les molécules d'additif ne s'adsorbent pas sur les essaims moléculaires parce qu'ils ont une surface trop petite et aussi parce qu'ils ont une durée de vie trop courte pour que les molécules d'additif puissent les atteindre par diffusion. En revanche, les molécules d'additif four-

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

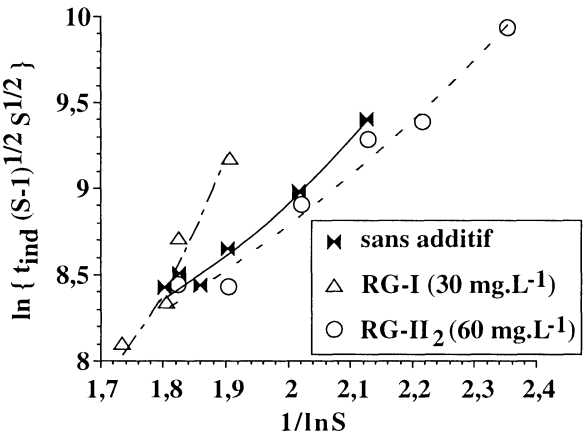


Fig. 10 — Influence de la sursaturation sur le temps d'induction de la cristallisation du KHT en solution hydroalcoolique à 12 p. centv/v. Les courbes sont tracées d'après l'équation (9)

Fig. 10 — Dependence of the induction time on supersaturation for KHT crystallization in water-12 p. cent v/v ethanol solutions. Curves are plotted according to equation (9)

nissent des sites de nucléation supplémentaires qui sont plus ou moins efficaces que les sites initiaux selon que la valeur de γ^s évaluée en présence d'additif soit inférieure ou supérieure à celle évaluée sans additif. D'après ce modèle, il y a donc toujours accélération de la nucléation puisque des sites de nucléation supplémentaires sont disponibles dans la solution. Ces résultats semblent indiquer que les molécules de RG-II_2 fournissent des sites de nucléation plus actifs que les sites initiaux et favorisent donc la nucléation du KHT. Par contre, les molécules de RG-I constituent des sites de nucléation peu efficaces de sorte que la nucléation du KHT n'est que très peu modifiée.

Le choix du modèle de VAN DER LEEDEN *et al.* (1993) semble bien traduire les phénomènes microscopiques de la nucléation. De plus, il est à la base du développement de l'expression du temps d'induction en présence d'additif et a permis de modéliser les résultats obtenus avec les rhamnogalacturonanes.

Les valeurs de κ obtenues en présence de RG-I ou de RG-II_2 sont supérieures à celles calculées à partir des expériences sans polysaccharide. Il semblerait donc que ces polysaccharides retardent la formation des nuclei bidimensionnels et donc le processus de croissance du KHT. Toujours selon la théorie de VAN DER LEEDEN *et al.* (1993), les sites de nucléation bidimensionnels fournis par les molécules de polysaccharide adsorbées sur la surface sont moins actifs que les sites de nucléation bidimensionnelle originaux. Cette théorie prédit une accélération de la croissance des cristaux à faible concentration d'additif car les molécules de polysaccharide adsorbées sur la surface fournissent des sites supplémentaires, moins actifs toutefois, de nucléation bidimensionnelle. Cet effet d'accélération est moins marqué quand la concentration augmente et finit par s'inverser lorsque la concentration en additif est telle que les molécules adsorbées perturbent la croissance des faces cristallines en empêchant les nuclei bidimensionnels de s'étaler.

La théorie de la nucléation en présence d'additif (VAN DER LEEDEN *et al.*, 1993) propose une loi de temps d'induction faisant intervenir la concentration en polysaccharide (équation (11)). Cette loi a été appliquée aux expériences réalisées avec différentes concentrations de RG-I ou de RG-II_2. Les valeurs des divers paramètres à l'origine du meilleur lissage tracé sur la figure 7 sont données dans le tableau IV.

Le modèle choisi semble correct dans la mesure où il prédit le comportement observé avec RG-I et RG-II_2 ; diminution puis augmentation du temps d'induction lorsque la concentration de polysaccharide augmente. La position du minimum de la courbe tind,a/tind fonction de Ca calculée pour RG-II_2 (7,8 mg/l) est assez éloignée du minimum expérimental (autour de 20 mg/l). Une constatation similaire a été faite par les auteurs du modèle lors d'une étude sur l'effet d'un copolymère sur la cristallisation de $BaSO_4$. Pour RG-I, le minimum expérimental étant difficile à cerner, aucune comparaison ne peut être effectuée, mais le modèle confirme l'existence d'un minimum (1 mg/l).

La très faible valeur de k_{3D} obtenue pour RG-I signifie l'absence quasi totale d'influence de la concentration sur la nucléation à S = 1,67, contrairement à RG-II_2 qui a un effet accélérateur prononcé lorsque sa concentration augmente. De telles conclusions ont été émises lors de l'analyse des valeurs de l'énergie interfaciale de surface. L'influence de la concentration sur la croissance du KHT est similaire pour RG-I et pour RG-II_2, avec un effet plus marqué pour RG-I qui se traduit par des taux de recouvrement de la surface, θ_0, et des macromarches de croissance, qs, plus importants pour RG-I que pour RG-II_2 (tableau IV). L'accroissement de la concentration Ca favorise d'abord la croissance en fournissant des sites de nucléation bidimensionnelle supplémentaires puis l'inhibe parce que les sites de croissances sont bloqués par les molécules de polysaccharide adsorbées (GERBAUD *et al.*, 1996).

IV — EFFET DE QUELQUES POLYSACCHARIDES SUR LA VITESSE DE CROISSANCE DE MONOCRISTAUX DE KHT

Une étude complémentaire de croissance de monocristaux de KHT met en évidence l'action inhibitrice de RG-I, RG-II_2 et de MPla. Nous avons relevé dans le tableau V les temps de croissance de germes de KHT dans une solution hydroalcoolique (12 p. cent v/v) sur-

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

saturée en KHT (S = 1,18) et contenant ou non les additifs cités à des concentrations de 20 mg/l. La taille finale des cristaux est égale à 3 mm.

On constate que le temps de croissance est multiplié par 2,5 environ en présence de 20 mg/l de RG-I ou de RG-II_2 et par 9,5 environ avec MPla. Ces résultats sont conformes aux conclusions émises précédemment. Ils mettent en évidence le rôle négatif joué par les polysaccharides lors de la stabilisation des vins par le froid : pour une même durée de traitement, la quantité de cristaux formés est inférieure en présnce de polysaccharides pectiques qu'en solution modèle.

CONCLUSIONS

Les mesures de temps d'induction du KHT dans des vins et dans des solutions modèles présentant le même pH et les mêmes concentrations en alcool, potassium et acide tartrique, ont confirmé l'effet inhibiteur de la fraction colloïdale des vins. Des différences considérables de comportement, vis-à-vis de la cristallisation du bitartrate de potassium, ont été observées entre chaque vin et sa solution modèle correspondante. En effet, pour obtenir un temps d'induction donné, un vin nécessite une sursaturation beaucoup plus importante que sa solution modèle. Le vin contient donc des inhibiteurs naturels de la cristallisation du KHT susceptibles d'appartenir à la famille des colloïdes.

Sur l'ensemble des expériences réalisées en présence d'additifs, les effets inhibiteurs les plus importants ont été obtenus avec les fractions MPl et MPla. Ces inhibitions diminuaient toutefois à forte sursaturation. L'effet inhibiteur de ces mannoprotéines extraites d'écorces de levures est très supérieur à celui observé avec les fractions de mannoprotéines de levures isolées à partir d'un vin rouge. Ces différences de comportement indiquent que ces deux types de mannoprotéines présentent des différences struturales et fonctionnelles non encore élucidées.

L'inhibition de la cristallisation du THK par une fraction de polyphénols totaux d'un vin, mesurée à de fortes concentrations, représentatives des vins rouges, était très importante par rapport à l'effet de l'ensemble des polysaccharides testés.

L'inhibition constatée dans les vins résulte donc des effets cumulés des rhamnogalacturonanes I et II, des mannoprotéines et des polyphénols totaux. Les arabinogalactanes n'ont apparemment pas d'effet sur la cristallisation du KHT. La présence des rhamnogalacturonanes à faible concentration, cas représentatif des vins blancs, provoque une diminution du temps d'induction, cet effet s'inverse lorsque leur concentration augmente vers les valeurs rencontrées habituellement dans les vins rouges. Ce double effet accélérateur-inhibiteur de la cristallisation a été mis en évidence à la fois pour le RG-I et pour les formes monomère et dimère du RG-II. L'application d'une théorie de la cristallisation en présence d'additif a montré que le RG-I n'avait pas d'effet sur la nucléation au contraire de RG-II_2 qui accélère ce phénomène. Ces deux polysaccharides pectiques, riches en rhamnose et en acide galacturonique, inhibent la croissance des cristaux de KHT comme le confirment les mesures de temps de croissance de monocristaux de KHT en solution hydroalcoolique.

L'ensemble de ces résultats offre également des éléments de compréhension aux différences de comportement entre vins rouges et blancs, vis-à-vis des traitements de stabilisation par le froid : les faibles quantités de RG-II présentes dans les vins blancs favorisent l'apparition des cristaux ; tandis que les concentrations plus importantes de RG-II dans les vins rouges inhibent la cristallisation du KHT et la croissance des cristaux formés. Cet effet renforce l'inhibition provoquée par la présence dans les vins rouges de quantités importantes de polyphénols.

L'utilisation de polysaccharides présents naturellement dans les vins ne semble pas pouvoir être envisagée pour améliorer la stabilté des vins vis-à-vis de la cristallisation du KHT. Les mannoprotéines extraites d'écorces de levures sont des inhibiteurs puissant et leur utilisation semble plus prometteuse mais leur effet diminue lorsqu'on en a le plus besoin, c'est-à-dire à faible température.

Pour avoir un effet inhibiteur du même ordre de grandeur que les mannoprotéines d'écorces de levures, la masse de polyphénols doit être supérieure d'un facteur 10 environ. Pour une meilleur compréhension des phénomènes de cristallisation dans les vins rouges, il serait certainement utile de pouvoir examiner l'incidence de fractions moléculaires mieux définies.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABGUEGUEN O. et BOULTON R.B., 1993. The crystallization kinetics of calcium tartrate from model solutions and wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **44**, n°1, 65-75.

ALBERSHEIM P., NEVINS D.J., ENGLISH P.D. et KARR A., 1967. A method for the analysis of sugars in plant cell wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydr. Res.*, **5**, 340-345.

BELLEVILLE M.P., BRILLOUET J.M., TARODO DE LA FUENTE B., SAULNIER L. et MOUTOUNET M., 1991. Differential roles of red wine colloids in the

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

ANNEXE : MÉTHODE DE PRÉPARATION DES POLYSACCHARIDES

Les polysaccharides MP_0, MP_1, MP_2, AGP_0, AGP_2, AGP_3, AGP_4, RG-I, RG-II_2, RG-II_3, MPl et MPla, et la fraction de polyphénols totaux ont été préparés à l'Unité de Recherches des Polymères et des Techniques Physico-Chimiques de l'Institut des Produits de la Vigne de l'INRA de Montpellier. Des fractions homogènes de polysaccharides ont été obtenues après diverses étapes de fractionnement à partir d'un vin selon le schéma suivant.

Six cent litres de vin rouge issus de la fermentation de raisins de Carignan Noir, récoltés en 1991 à l'unité expérimentale INRA-Pech-Rouge, ont été concentrés par ultrafiltration (seuil de coupure de 20 kDa) jusqu'à 25 litres. Les colloïdes totaux ont été précipités par addition au vin concentré de 5 volumes d'éthanol réfrigéré (4°C) (BELLEVILLE *et al.*, 1991). Le précipité est ensuite dissout et dialysé dans de l'eau. Le pH de la solution colloïdale exempte de sel a été ajusté à 3 avec une solution tampon d'acide citrique (concentration finale de 20 mM) puis chargé sur une colonne d'échange cationique de S-Sepharose Fast Flow (Pharmacia, Suède). La fraction libre et presque entièrement dépigmentée représentait 97 p. cent des polysaccharides totaux du vin et a été utilisée comme source des polysaccharides du vin.

Le fractionnement complet des polysaccharides du vin a nécessité trois étapes successives de chromatographie (PELLERIN *et al.*, 1995, 1996) : les polysaccharides ont d'abord été fractionnés en fonction de leur densité de charge négative (VERNHET *et al.*, 1996) sur une colonne DEAE-Macroprep (Bio-Rad, USA) équilibrée à pH 4,6 (étape 1) puis 5,4 (étape 2), l'élution des molécules adsorbées se faisant par addition séquentielle de NaCl. Les polysaccharides ont été ensuite fractionnés en fonction de leur taille sur une colonne Sephacryl S-400-HR (Pharmacia, Suède) (étape 3). Pour finir, les mannoprotéines ont été adsorbées spécifiquement sur une colonne de Concanavaline A-Ultrogel (Sepracor, France) (étape 4).

La fraction majoritaire de mannoprotéines MP0 présentait une répartition en taille très hétérogène et a subi une étape supplémentaire de fractionnement par chromatographie d'exclusion stérique sur une colonne de 5 x 80 cm de Séphacryl S-400 HR. Les trois sous-fractions obtenues présentaient des répartitions en taille homogènes, centrées sur 200 kDa pour la fraction MP0-a, 80 kDa pour MP0-b et 30 kDa pour MP0-c. Ces valeurs moyennes de poids moléculaires ont été déterminées par calibration de colonnes d'exclusion stérique à haute performance à l'aide d'un kit de pullulanes standards (PELLERIN *et al.*, 1993, 1995).

Les teneurs en protéine ont été mesurées selon la technique décrite par LOWRY *et al.* (1951). Les acides uroniques totaux ont été dosés par la méthode au m-phénylphénol (BLUMENKRANTZ et ASBOE-HANSEN, 1973). La composition en monosaccharides neutres a été déterminée après hydrolyse acide (ALBERSHEIM *et al.*, 1967) par chromatographie en phase gazeuse (GC) des dérivés alditol-acétate (HARRIS *et al.*, 1984). La composition des résidus glycosylés incluant les oses acides a été obtenue, après méthanolyse acide, par GC-CIMS des glycosides per-O-méthyl-triméthylsilylés (YORK *et al.*, 1986). Le taux de phosphore des mannoprotéines a été mesuré au Service Central d'Analyse du CNRS à Vernaison par Spectroscopie d'émission plasma.

La préparation de mannoprotéines d'écorces de levures (MPl) a été obtenue par 3 h d'ébullition de 50 g d'écorces de levures (Fould-Springer, France) dans 1 l d'eau distillée. La solution, après centrifugation, a été lyophilisée pour donner 5,95 g d'extrait brut de mannoprotéines MPl). La fraction MPla correspond au précipité dans l'éthanol à 80 p. cent de MPl et représentait, après nouvelle lyophilisation, 2,83 g de préparation de mannoprotéines d'écorces de levures. MPl est une poudre jaunâtre à l'odeur de levure prononcée tandis que MPla est d'aspect blanchâtre et n'exhale presque pas d'odeur.

La préparation des polyphénols totaux est la suivante :

Les polyphénols de 100 hl d'un vin rouge de cépage Cabernet-Sauvignon ont été absorbés sur une colonne de résine ADS 4 (Applexion) puis élués par une solution hydroalcoolique à 92 p. cent d'éthanol ; la solution éthanolique est concentrée par évaporation sous vide avant d'être atomisée. Vingt trois kilogrammes de « poudre polyphénolique » ont ainsi été obtenus. Les différentes phases de l'élaboration de l'extrait polyphénolique ont été contrôlées par la mesure de l'absorbance à 280 nm.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

fouling of a cross-flow microfiltration alumina membrane. *Vitic. Enol. Sci.*, **46**, 100-107.

BELLEVILLE M.P., WILLIAMS P. et BRILLOUET J.M., 1993. A linear arabinan from a red wine. *Phytochem.*, **33**, n°1, 227-229.

BERG H.W. et AKIYOSHI M., 1971. The utility of potassium bitartrate concentration product values in wine processing. *Am. J. Enol. Vitic.*, **22**, n°3, 127-134.

BERG H.W. et KEEFER R.M., 1958. Analytical determination of tartrate stability in wine. I. Potassium bitartrate. *Am. J. Enol. Vitic.*, **9**, n°4, 180-199.

BERG H.W. et KEEFER R.M., 1959. Analytical determination of tartrate stability in wine. II. Calcium tartrate. *Am. J. Enol. Vitic.*, **10**, 105-109.

BLOUIN J., GUIMBERTEAU G. et AUDOUIT P., 1979. Prévention des précipitations tartriques dans les vins par le procédé contact. *Connaissance Vigne Vin*, n°2, 149-169.

BLUMENKRANTZ N. et ASBOE-HANSEN G., 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.*, **54**, 484-489.

BRILLOUET J.M., MOUTOUNET M. et ESCUDIER J.L., 1989. Fate of yeast and grape pectic polysaccharides of a young red wine in the cross-flow microfiltration process. *Vitis*, **28**, 49-63.

BRUGIRARD A., 1979. Filtration stérile et précipitations des sels tartriques. *Rev. Fr. Œnol.*, **79**, n°1, 49-59.

BURTON J.J., 1977. *Nucleation theory. In : Statistical Mechanics, part A: Equilibrium Techniques*, ed. B.J. BERNE, PLENUM PRESS, New York, 195-234.

CLUTTON D.W., 1974. Tartrate in wines - A review. *Process Biochem.*, 25-28.

CORREA-GOROSPE I., POLO M.C. et HERNANDEZ T., 1991. Characterization of the proteic and the phenolic fraction in tartaric sediments from wines. *Food Chem.*, **41**, 135-146.

CORREA-GOROSPE I. et RODRIGUEZ-CLEMENTE R., 1991. Estudio de la influencia de la sobresaturation en la precipitation del bitartrato potasico (KHT C4H5O6K). *Anales de quimica de la real Sociedad Española de Quimica*, **87**, n°4, 435-438.

DOCO T. et BRILLOUET J.M., 1993. Isolation and characterization of a rhamnogalacturonan II from red wine. *Carbohydr. Res.*, **243**, 333-343.

DUNSFORD P. et BOULTON R.B., 1981a. The kinetics of potassium bitartrate crystallisation from table wines. I. Effect of particle size, particle surface area and agitation. *Am. J. Enol. Vitic.*, **32**, n°2, 100-105.

DUNSFORD P. et BOULTON R.B., 1981b. The kinetics of potassium bitartrate crystallization from table wines. II. Effect of temperature and cultivar. *Am. J. Enol. Vitic.*, **32**, n°2, 106-110.

ESCUDIER J.L., MOUTOUNET M. et BERNARD P., 1987. Influence de l'ultrafiltration sur la cinétique de cristallisation du bitartrate de potassium des vins. *Rev. Fr. Œnol. - cahier scientifique*, **108**, 52-57.

GAILLARD M., RATSIMBA B. et FAVAREL J.L., 1990. Stabilité tartrique des vins. Comparaison de différents tests - Mesure de l'influence des polyphénols. *Rev. Fr. Œnol. - cahier scientifique*, **123**, 7-13.

GERBAUD V., 1996. Détermination de l'état de sursaturation et effet des polysaccharides sur la cristallisation de l'hydrogénotartrate de potassium dans les vins. *Thèse de Doctorat*, Institut National Polytechnique, Toulouse.

GERBAUD V., GABAS N., LAGUERIE C., BLOUIN J., VIDAL S., MOUTOUNET M. et PELLERIN P., 1996. *Effect of wine polysaccharides on the nucleation of potassium hydrogen tartrate in model solutions, Trans IChemE*, 74 , Part A, 782-790

HARRIS P.J., HENRY R.J., BLAKENEY A.B. et STONE B.A., 1984. An improved procedure for the methylation analysis of oligosaccharides and polysaccharides. *Carbohydr. Res.*, **127**, 59-73.

KASHCHIEV D., VERDOES D. et VAN ROSMALEN G.M., 1991. Induction time and metastability in new phase formation. *J. Cryst. Growth*, **110**, 373-380.

LEDOUX V, DULAU L. et DUBOURDIEU D., 1992. Interprétation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **26**, n°4, 329-351.

LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L. et RANDALL R.J., 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-75.

LUBBERS S., 1993. Caractérisation de macromolécules d'origine levurienne du vin. Etude des interactions avec des substances d'arôme. Application à la stabilisation tartrique. *Thèse de Doctorat*, Université de Bourgogne, Dijon.

LUBBERS S., CHARPENTIER C., FEUILLAT M. et VOILEY A., 1994. Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **45**, n°1, 29-33.

LUBBERS S., LEGER B., CHARPENTIER C. et FEUILLAT M., 1993. Effet colloïdes protecteurs d'extraits de paroi de levures sur la stabilité tartrique d'une solution hydroalcoolique modèle. *J. Int. Sci. Vigne vin*, **27**, n°1, 13-22.

MARSH G.L. et JOSLYN M.A., 1935. Precipitation rate of cream of tartar from wines. Effect of temperature. *Ind. Eng. Chem.*, **27**, n°11, 1252-1257.

MAUJEAN A., SAUSY L. et VALLEE D., 1985. Détermination de la sursaturation en bitartrate de potassium d'un vin. Quantification des effets colloïdes protecteurs. *Rev. Fr. Œnol. - cahier scientifique*, **100**, n°4, 39-49.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

MAUJEAN A., VALLEE D. et SAUSY L., 1986. Influence de la granulométrie des cristaux de tartres de contact et des traitements et collages sur la cinétique de cristallisation du bitartrate de potassium dans les vins blancs. *Rev. Fr. Œnol. - cahier scientifique*, **104**, n°3, 34-41.

MCKINNON A.J., SCOLLARY G.R., SOLOMON D.H. et WILLIAMS P.J., 1994. The mechanism of precipitation of calcium L^{+}tartrate in a model wine solution. Colloïds and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 82, 225-235.

MCKINNON A.J., SCOLLARY G.R., SOLOMON D.H. et WILLIAMS P.J., 1995. The influence of wine components on the spontaneous precipitation of calcium $L^{(+)}$ tartrate in a model solution. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, n°4, 505-517.

MERSMANN A., 1990. Calculation of interfacial tension. *J. Cryst. Growth*, **102**, 841-847.

MOINE-LEDOUX Virginie, 1996. Recherches sur le rôle des mannoprotéines des levures vis-à-vis de la stabilisation protéique et tartrique dans les vins. *Thèse de doctorat*, Université de Bordeaux.

MOINE Virginie et DUBOURDIEU D., 1995. Mise au point d'une préparation industrielle extraite de la levure, améliorant la stabilité protéique et inhibant les précipitations tartriques. *Proceed. V^e Symp. Int. Œnol. « Actualités œnologiques 95 »*.

MOUTOUNET M., ESCUDIER J.L. et SAINT PIERRE B., 1994. L'électrodialyse, Adaptation à la Stabilisation Tartrique des Vins. *In : Les Acquisitions Récentes dans les Traitements Physiques du Vin*, DONECHE B. ed., Lavoisier, Paris, 103-115.

MULLIN J.W., 1993. *Crystallisation, 3rd edition*. Ed. Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford.

NYVLT J. et ULRICH J., 1995. *Admixures in Crystallization*. VCH, Weinheim.

O'NEILL M.A., WARRENFELTZ D., KATES K., PELLERIN P., DOCO T., DARVILL A.G. et ALBERSHEIM P., 1996. Rhamnogalacturonan-II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross)linked by a borate ester. *J Biol. Chem.*, **271**, n°37, 22923-22930.

PELLERIN P., WATERS E. et BRILLOUET J.M., 1993. Characterization of two arabinogalactan-proteins from red wine. *Carbohydr. Polym.*, **22**, 187-192.

PELLERIN P., VIDAL S., WILLIAMS P. et BRILLOUET J.M., 1995. Characterization of five type II arabinogalactan-protein fractions from red wines of increasing uronic acid content. *Carbohydr. Res.*, **277**, 135-143.

PELLERIN P., DOCO T., VIDAL S., WILLIAMS P., BRILLOUET J.M. et O'NEIL M.A., 1996. Structural characterization of red wine rhamnogalacturonan II. *Carbohydr. Res.*, **290**, 183-197.

PELLERIN P., O'NEILL M.A., PIERRE C., CABANIS M.-T., DARVILL A., ALBERSHEIM P. et MOUTOUNET M. 1997. Complexation du plomb dans les vins par les dimères de rhamnogalacturonane II, un polysaccharide pectique du raisin. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **31**, n°1, 33-41.

POSTEL W., 1984. La solubilité et la cinétique de cristallisation du tartrate de calcium dans le vin. *La Journée Vinicole*, **16688**, 2-10.

RATSIMBA B., 1990. Cristallisation du bitartrate de potassium à partir de solutions hydroalcooliques - Extension des résultats à l'œnologie. *Thèse de Doctorat*, Institut National Polytechnique, Toulouse.

RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E., 1961. *Traité d'Œnologie*. RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E. Eds, Libr. Polytechnique. Ch. Baranger.

RODRIGUEZ-CLEMENTE R. et CORREA-GOROSPE I., 1988. Structural, morphological and kinetic aspects of potassium hydrogen tartrate precipitation from wines and ethanolic solutions. *Am. J. Enol. Vitic.*, **39**, n°2, 169-178.

RODRIGUEZ-CLEMENTE R., CORREA-GOROSPE I. et DE CASTRO J.J., 1990. A new method for the stabilization of wines with respect to the potassium bitartrate precipitation. *Am. J. Enol. Vitic.*, **41**, n°1, 16-20.

SANGWAL K. et VEINTEMILLAS-VERDAGUER S., 1994. Some observations of growth hillocks and growth layers on potassium hydrogen tartrate crystals. *Cryst. Res. Technol.*, **29**, n°5, 639-645.

SAULNIER L., BRILLOUET J.M., MOUTOUNET M., HERVE-DU-PENHOAT C. et MICHON V., 1992. New investigations of the structure of grape arabinogalactan-protein. *Carbohydr. Res.*, **224**, 219-235.

SAULNIER L., MERCEREAU T. et VEZINHET F., 1991. Mannoproteins from flocculating and non-flocculating *Saccharomyces cerevisiae* yeasts *J. Sci. Food Agric.*, **54**, n°2, 275-86.

SÖHNEL O. et GARSIDE J., 1992. *Precipitation*. Ed. Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford.

TANAHASHI H., NISHINO H., TOJO K. et NAKAI T., 1992. Nucleation and growth of potassium bitartrate in wine. *J. Chem. Eng. Japan*, 342-344

VAN DER LEEDEN M.C., KASHCHIEV D. et VAN ROSMALEN G.M., 1992. Precipitation of barium sulfate: induction time and the effect of an additive on nucleation and growth. *J. Coll. Interface Sci.*, **152**, n°2, 338-350.

VAN DER LEEDEN M.C., KASHCHIEV D. et VAN ROSMALEN G.M., 1993. Effect of additives on nucleation rate, crystal growth rate and induction time in precipitation. *J. Cryst. Growth*, **130**, 221-232.

VEINTEMILLAS-VERDAGUER S. et RODRIGUEZ-CLEMENTE R., 1990. Crystal growth of potassium hydrogen tartrate from aqueous solution. *J. Cryst. Growth*, **99**, 211-216.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)

VERNHET A., PELLERIN P., PRIEUR C., OSZMIANSKI J. et MOUTOUNET M., 1996. Charge properties of some grape and wine polysaccharidic and polyphenolic fractions. *Am. J. Enol. Vitic.*, **47**, n°1, 25-30.

WALTON A.G., 1969. Nucleation in liquids and solutions. dans Nucleation, ed. A.C. ZETTLEMOYER, ed. M. DEKKER INC., New York, 225-307

WATERS E.J., PELLERIN P. et BRILLOUET J.M., 1993. *A Saccharomyces* mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydr. Polym.*, **23**, 185-91.

WATERS E.J., PELLERIN P. et BRILLOUET J.M., 1994. A wine arabinogalactan-protein that reduces heat-induced wine protein haze. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 43-8.

WUCHERPFENNIG K., DIETRICH H., GOTZ W. et ROTZ S., 1984. Influence des colloïdes sur la cristallisation du tartre compte tenu de la stabilisation du tartre a l'aide de cellulose carboxylique. *La Journée Vinicole*, 5-8, 20-21 avril.

YORK W.S., DARVILL A.G., MCNEIL M., STEVENSON T.T. et ALBERSHEIM P., 1986. Methods Enzymol, 118, 3-40.

ZEMAITIS J.F., CLARK D.M., MARSHALL R. et SCRIVNER N.C., 1986. Handbook of Aqueous Electrolyte Thermodynamics : Theory & Application. Editions DIPPR, 36-56.

Remerciement : Les auteurs remercient Monsieur Stéphane VIDAL et Madame Aude VERNHET de l'INRA Institut des Produits de la Vigne, Laboratoire des Polymères et des Techniques Physico-chimiques pour leur travail dans l'isolement des macromolécules testés dans cette étude.

Manuscrit reçu le 30 avril 1997 ;
accepté pour publication le 27 juin 1997.

©Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France)