Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, **24,** N° 2, 79-86.
Connaissance de la Vigne et du Vin.

ÉTUDE DE GÉLATINES UTILISÉES EN ŒNOLOGIE PAR MESURE DE LEUR CHARGE MACROMOLÉCULAIRE.

M. PAETZOLD* et Y. GLORIES

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

Résumé : *Les auteurs caractérisent des gélatines utilisées en œnologie en détectant et quantifiant la charge macromoléculaire de ces gélatines. La technique est basée sur la mesure du "potentiel induit d'écoulement". L'appareil utilisé est le PCD 02 de MUTEK. Par cette technique, les auteurs ont pu différencier les gélatines solubles à chaud des gélatines solubles à froid.*

INTRODUCTION

La gélatine est largement utilisée pour le collage des vins rouges en vue de la clarification et surtout de la stabilisation de la limpidité.

De nombreux travaux ont été consacrés à la composition des gélatines ainsi qu'à leur influence sur les composés phénoliques des vins. Parmi les dernières études, il faut citer celle de CERF (1973) et d'IKONOMOU (1985).

Par contre, en raison d'une part de la complexité du problème et, d'autre part jusqu'à ce jour de l'absence des moyens d'investigation, le mécanisme du collage a été peu étudié. RIBÉREAU-GAYON et *al.,* (1977) expliquent le phénomène par les charges opposées des particules en présence : «les protéines utilisées pour le collage sont des colloïdes chargés dans le vin d'électricité positive. Par contre, les polyphénols, dont une partie se trouve à l'état colloïdal, ainsi que les particules qui constituent les troubles présentent une charge négative. Leur mise en présence provoque une réaction suivie éventuellement d'une floculation». L'arrivée dans le domaine analytique d'un appareil pour déterminer la charge des macromolécules nous a incité à continuer à explorer cette voie.

Dans ce travail, nous avons déterminé la charge de quelques gélatines en vue d'utiliser ce critère pour vérifier leur origine et leur intérêt dans le collage des vins.

PRÉSENTATION DE LA GÉLATINE

La gélatine est un produit extrait du collagène, provenant lui-même des tissus conjonctifs de la peau et des os des animaux.

---

* Stagiaire de recherche BECO-BEGEROW, détaché à l'Institut d'Œnologie de Bordeaux.

Dans le procédé de fabrication de la gélatine, le collagène insoluble est transformé en gélatine soluble par des procédés basique, ou acide.

Cette première dégradation du collagène conduit à des gélatines solubles à chaud. L'obtention des gélatines solubles à froid nécessite une dégradation plus poussée, obtenue par voie enzymatique.

a) Les différents types de gélatine.

Selon le mode de préparation de la gélatine à partir de la matière première de nature collagènique, on obtient des gélatines de classe A ou de classe B :

— les gélatines de classe A.

Elles proviennent de peaux de porc ou d'osséine et sont obtenues par traitement acide. Leur point isoélectrique (pHi) est compris entre 7,5 et 9,5.

— Les gélatines de classe B.

Elles proviennent de peaux de bovins ou d'osséine, elles sont obtenues par traitement alcalin. Leur pHi est compris entre 4,7 et 5,0.

Cette différence du pHi provient des réactions mises en jeu dans le processus de préparation. Dans le procédé alcalin, les fonctions amides sont hydrolysées; le procédé acide, beaucoup plus bref affecte peu ces groupements.

b) Méthodes de caractérisation des gélatines.

La gélatine est principalement caractérisée par sa force en gelée exprimée en degré Bloom. Cette force en gelée, mesurée dans l'appareil de Bloom et déterminée en général pour les gélatines alimentaires exprime la résistance qu'offre un gel de gélatine préparé dans certaines conditions à la pénétration d'une tige de 12,7 mm de diamètre. On détermine le poids en gramme nécessaire pour enfoncer la tige de 4 mm (RIBÉREAU-GAYON et *al.,* 1977). Cette mesure offre peu d'intérêt en œnologie, la majorité des gélatines utilisées présentant des propriétés différentes malgré des degrés Bloom identiques.

c) Utilisation des gélatines en œnologie.

Pour le collage des vins, on utilise généralement des gélatines issues d'un traitement acide ou des gélatines ayant subi une hydrolyse enzymatique avec des dégradations plus ou moins poussées. Ce dernier traitement est utilisé pour l'obtention des gélatines solubles à froid.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

I — LES GÉLATINES.

Neuf gélatines sont étudiées. Elles proviennent toutes de peaux de porc.

Les gélatines notées A75, A100, A150, A250, SIHA F, SIHA GF et SIHA GM sont issues d'un traitement acide.

Les gélatines notées E et SIHA SF ont subi un traitement enzymatique et sont solubles à froid.

II — DÉTERMINATION DE L'AZOTE TOTAL

L'azote protéique a été dosé par la méthode de Kjeldahl :

1 gramme de gélatine, 25 ml de H_2SO_4 pur et 1 gramme de catalyseur de Kjeldahl sont mis à minéraliser à froid dans un matras pendant 48 heures, puis à chaud jusqu'à une température de 350° C.

L'ammoniaque de la liqueur de minéralisation est entraîné à la vapeur après addition de NaOH 10N et piégé dans un erlenmeyer contenant un excès de H_2SO_4 (20 ml de H_2SO_4 1N) et de l'indicateur mixte. L'excès de H_2SO_4 est dosé en retour.

III — DIALYSE

La dialyse est effectuée dans des boudins de dialyse de la marque Union Carbide (seuil de coupure 10.000) pendant 3 jours sous agitation contre de l'eau distillée maintenue à la température de 22° C.

IV — DÉTERMINATION DE LA CHARGE MACROMOLÉCULAIRE

Pour la détermination de la charge macromoléculaire des protéines, nous avons utilisé le détecteur de charges PCD 02 de la société MUTEK (Allemagne). L'appareil met en œuvre le "potentiel induit d'écoulement". Dans un milieu aqueux contenant des ions, toute particule ou macromolécule chargée s'entoure de contre ions. Les contre ions qui ne sont pas directement en contact avec la particule sont moins fortement liés à celle-ci.

Sous l'action d'un écoulement provoqué par un piston, cette double couche d'ions mobiles se déplace et induit une différence de potentiel appelée "potentiel induit d'écoulement".

Mesure de la charge macromoléculaire :

Après introduction dans la cellule de mesure (figure 1), les macromolécules sont adsorbées et immobilisées sur les parois de la cellule en polytetrafluoroéthylène (PFTE). Le mouvement oscillatoire du piston provoque un écoulement rapide de la suspension par rapport à la paroi du récipient.

Cet écoulement entraîne le déplacement des contre ions mobiles des particules adsorbées sur la paroi de la cellule. Ce déplacement induit une différence de potentiel qui peut être mesurée à l'aide de 2 électrodes montées sur la cellule de mesure.

Ce signal électrique disparaît exactement au moment où les particules ou macromolécules adsorbées présentent une charge nulle. Le détecteur peut déterminer avec précision ce point de neutralité.

La détermination quantitative des charges repose sur leur neutralisation à l'aide d'un polyélectrolyte à charge opposée. La titration est réalisée au cours de la mesure par un titrateur automatique Mettler DL 21.

Pour la titration des charges négatives, on utilise du chlorure de polydiallyldiméthylammonium (poly DADMAC) 0,001 N.

Pour la titration des charges positives, on utilise du sodium polyéthylensulfonate (PES-NA) 0,001 N.

Les gélatines sont étudiées dans des milieux synthétiques, aux pH du vin. Le pH est ajusté par addition d'une solution de soude 1N dans une solution d'acide tartrique à 5 g par litre.

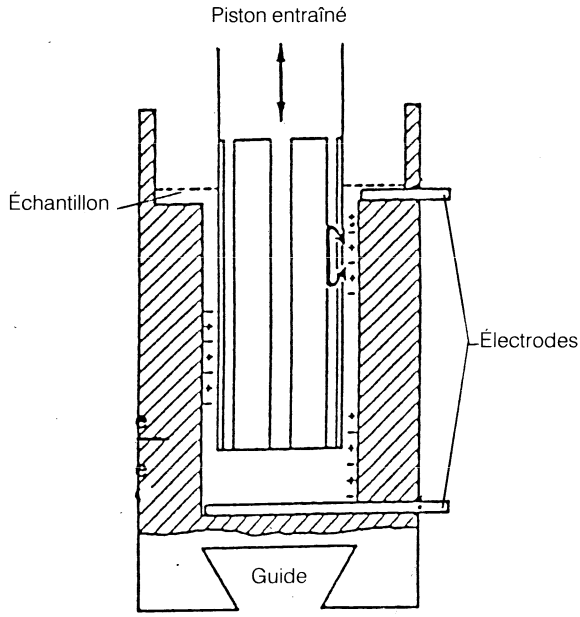


Fig. 1. — Cellule de mesure du détecteur de charges PCD 02.

V — EXPRESSION DES RÉSULTATS

Le titrateur automatique donne les résultats en ml d'électrolyte consommé. La charge en méq/g de gélatine est donnée par la formule :

$$X = \frac{n \times N}{Z\ 10^{-3}}$$

n : volume en ml de l'électrolyte ajouté pour atteindre le point de neutralité.
N : normalité de la solution d'électrolyte.
Z : prise d'échantillon en mg.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I — ANALYSES GÉNÉRALES DES GÉLATINES UTILISÉES

Dans le tableau I sont regroupées les caractéristiques générales des gélatines analysées. Le degré Bloom et le point isoélectrique sont des données fournies par le fabricant.

Pour les gélatines solubles à chaud, le pourcentage d'azote par rapport au poids de protéine, appelé "coefficient azote/protéine", présente une relative homogénéité. La valeur plus importante du coefficient pour les gélatines solubles à froid montre que ces gélatines contiennent moins d'amino-acides diaminés.

TABLEAU I

Caractéristiques générales des gélatines analysées.

GÉLATINES ANALYSÉES	DEGRÉ BLOOM	POINT ISOÉLECTRIQUE	AZOTE TOTAL (%)	COEFFICIENT CALCULÉ AZOTE/PROTÉINE
A 75	80	7,76	15,2	5,92
A 100	101	7,7	15,7	5,68
A 150	150	7,65	15,3	5,91
A 250	255	8,13	16,1	5,65
E*	—	5,45	15,0	6,34
SIHA GF	80	7,71	15,1	5,83
SIHA GM	200	7,60	15,1	5,81
SIHA F	200	7,85	15,0	5,78
SIHA SF*	—	5,85	13,8	6,62

* gélatines solubles à froid.

II — DÉTERMINATION DES CHARGES MACROMOLÉCULAIRES DES GÉLATINES BRUTES

La charge des différentes gélatines a été déterminée à différents pH (tableau II).

Aux pH étudiés (pH inférieurs aux pHi des protéines) toutes les gélatines présentent une charge nette positive.

Les gélatines solubles à chaud présentent à un pH donné des charges moléculaires voisines. Par contre, on observe un écart important entre les gélatines solubles à chaud et les gélatines solubles à froid.

Cet écart de charge observé peut s'expliquer par un pHi différent. En effet, la gamme de pH étudiée est plus proche du pHi des gélatines solubles à froid.

TABLEAU II

Mesure de la charge macromoléculaire des différentes gélatines brutes en fonction du pH.

GÉLATINES	pH : 3,10	pH : 3,40	pH : 3,70
A 75	1,00	0,85	0,75
A 100	0,99	0,91	0,82
A 150	0,91	0,83	0,78
A 250	0,98	0,98	0,81
E	0,27	0,17	0,06
SIHA GF	0,94	0,89	0,69
SIHA GM	0,91	0,88	0,75
SIHA F	0,90	0,78	0,70
SIHA SF	0,11	0,07	0,02

Les résultats sont exprimés en méq. par gramme de gélatine (gélatine brute – humidité – cendres).

III — PARTICIPATION DES MOLÉCULES DE BAS POIDS MOLÉCULAIRES A LA CHARGE DES GÉLATINES

Les gélatines brutes ont été dialysées puis lyophilisées. Dans le tableau III sont données les pertes en poids et les pertes en charges enregistrées après dialyse pour les différentes gélatines.

TABLEAU III

Mesure des pertes en poids et pertes en charges enregistrées après dialyse en fonction du pH.

(Résultats exprimés en %).

GÉLATINES	PERTE EN POIDS	PERTE EN CHARGE		
		pH : 3,10	pH : 3,40	pH : 3,70
A 75	25	53	51	55
A 100	22	59	61	64
A 150	14	48	47	66
A 250	16	62	47	44
E	47	63	77	50
SIHA GM	22	—	—	—
SIHA F	27	40	39	42
SIHA SF	53	37	72	25

La perte en poids au cours de la dialyse dépend de l'état de dégradation des gélatines. Pour les gélatines solubles à froid on enregistre les pertes les plus importantes (47 p. cent pour la gélatine E et 53 p. cent pour la gélatine SIHA SF).

Dans le cas des gélatines solubles à chaud, pour une perte en poids faible (de 14 à 27 p. cent), on enregistre une perte en charge importante (39 à 66 p. cent).

Ce résultat tend à montrer que les petites molécules des gélatines solubles à chaud ne représentant que 14 à 27 p. cent du poids, apportent de 39 à 66 p. cent des charges macromoléculaires mesurables.

Par contre pour les gélatines solubles à froid, les pertes en poids et les pertes en charges sont du même ordre de grandeur. En effet, celles-ci ne contiennent que des molécules de bas poids moléculaires.

Comme le montre l'électrophorèse (photo 1), les gélatines solubles à froid ne comportent pas de protéines de poids moléculaire entre 13.700 et 67.000 Dalton. Les gélatines solubles à chaud sont quant à elles constituées de nombreuses protéines de poids moléculaires différents dont les plus importants sont supérieurs à 67.000 Dalton.

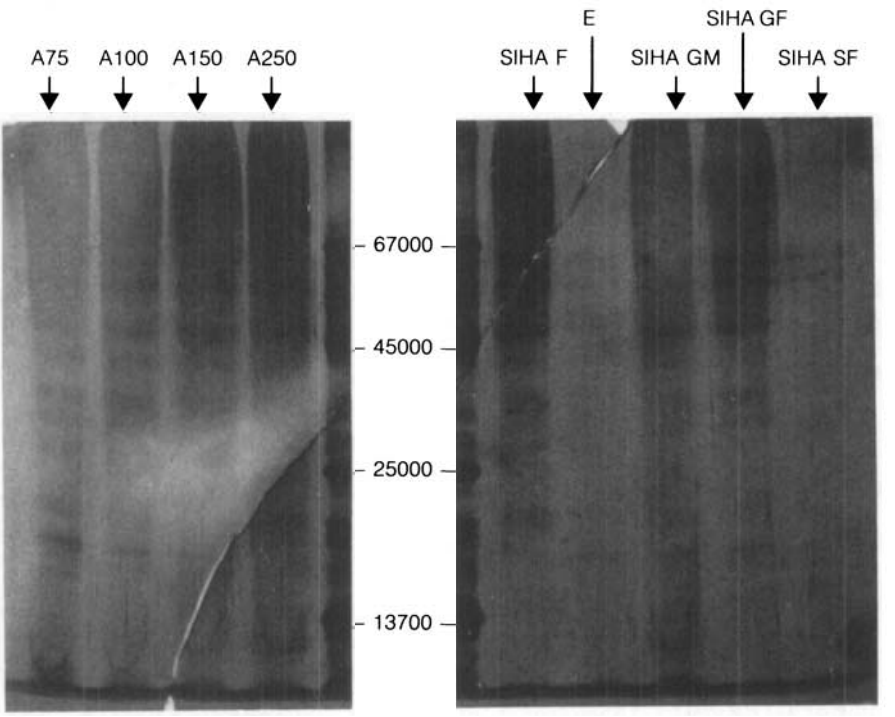


Photo 1. — Profil protéique des gélatines après électrophorèse sur gel d'acrylamide 12,5 % en milieu SDS (dépôt 100 µg de gélatine).

De plus l'électrophorèse montre que les gélatines A75, A100, A150 et A250 d'une part et les gélatines SIHA F, GF et GM d'autre part présentent les mêmes profils électrophorétiques. Seule l'intensité des bandes correspondant aux protéines de bas poids moléculaires varie. Les gélatines plus dégradées contiennent une quantité légèrement plus importante de protéines de bas poids moléculaires.

CONCLUSION

Dans ce travail, nous avons tenté de caractériser les gélatines utilisées en œnologie par la mesure des charges moléculaires excédentaires des protéines.

A notre connaissance, l'appareil utilisé mettant en œuvre le potentiel induit d'écoulement a été appliqué pour la première fois à un tel type d'étude.

Le détecteur PCD 02 de la société MUTEK permet de façon reproductible la détection et la mesure des charges macromoléculaires excédentaires des gélatines.

Cependant, il n'a pas été possible de différencier les gélatines solubles à chaud présentant des degrés Bloom différents par la mesure de leurs charges. En revanche une nette différence a été enregistrée entre les gélatines solubles à froid issues d'un traitement enzymatique et les gélatines solubles à chaud issues d'un traitement acide.

Après dialyse (seuil de coupure environ 10.000), la mesure de la charge des gélatines a permis de montrer qu'à poids constant les petites molécules participent plus à la charge mesurée des gélatines que les grosses molécules.

Des études plus approfondies concernant l'influence des charges excédentaires des macromolécules sur les mécanismes de floculation doivent être menées afin de mieux comprendre le rôle de ces charges dans le collage des vins.

Remerciements

Nous remercions les sociétés MUTEK (Herrsching, Allemagne), SANOFI-BIO-INDUSTRIE (Isle-sur-la-Sorgue, France) et BEGEROW (Langenlonsheim, Allemagne) pour leur collaboration technique.

Manuscrit reçu le 5 novembre 1990; accepté pour publication de 3 décembre 1990.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CERF P., 1973. Contribution à l'étude de l'action des produits œnologiques à base de gélatine et de tanin. *Thèse de Docteur Ingénieur, Institut de Biologie appliquée à la nutrition et à l'alimentation.* Université de Dijon.

IKONOMOU M., 1985. Étude de la réaction entre les protéines et les tanins. Influence du collage sur le contenu phénolique et protéique des vins rouges. *D.E.A. Œnologie-Ampélologie,* Université de Bordeaux II.

RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. et RIBÉREAU-GAYON P., 1977. *Sciences et techniques du vin.* Ed. Dunod. Paris, tome IV.

SANOFI BIO INDUSTRIE, *Document d'information technique "hydrocolloïdes".*