Connaissance Vigne Vin, 1981, **15,** N° 4, 287-301.

DOSAGES DES POLYPHENOLS DES MOUTS DE RAISIN

M. MOUTOUNET

Laboratoire de Technologie Végétale
Centre de Recherches de Toulouse
Institut National de la Recherche Agronomique
B.P. 12 - 31320 Castanet Tolosan (France)

Travail effectué avec la collaboration de H. FEAU

INTRODUCTION

Les polyphénols sont des constituants importants des végétaux, aussi, de très nombreux travaux se sont attachés à les identifier et à estimer leur concentration. La méthode de dosage, utilisant le réactif de Folin Ciocalteu, mélange d'acides phosphomolybdique et phosphotungstique, est la plus largement répandue pour exprimer la teneur en polyphénols totaux, notamment en œnologie. Dans les milieux complexes, comme les jus de fruits et les extraits végétaux, d'autres constituants que les polyphénols, réagissent avec le réactif de Folin Ciocalteu ; SINGLETON et ROSSI (1965) citent l'acide ascorbique, le bisulfite, les sucres réducteurs, les ions ferreux, ils pensent que ces interférences peuvent être défalquées ; MYERS et SINGLETON (1979) ajoutent à ces données, les acides nucléiques, les acides aminés et démontrent l'intervention des complexes tanins-protéines et des combinaisons sulfhydryl-cinnamates. Les protéines (PESEZ et POIRIER, 1954), les réductones (CORNWELL et WROSTAD, 1981) peuvent également réduire le réactif de Folin Ciocalteu.

L'importance de ces différents artéfacts sur le dosage des polyphénols totaux est appréciée par les utilisateurs du réactif de Folin Ciocalteu en fonction de la concentration en polyphénols et des interférences dans les milieux étudiés. Pour éliminer l'influence des composés susceptibles de modifier le résultat attribué aux polyphénols, MARIGO (1973) a proposé de réaliser l'analyse au Folin Ciocalteu avant et après la fixation des substances polyphénoliques sur Polyclar AT (polyvinylpyrrolidonne insoluble). L'application de cette technique de dosage par différence à l'étude de l'élaboration et de la conservation de concentrés de moûts de raisin a donné des résultats difficilement explicables.

Le problème du dosage des polyphénols totaux a donc été repris avec la mise en œuvre de solutions modèles. La constitution de celles-ci a visé

à reproduire sommairement la composition des moûts et en particulier celle des moûts mutés. Les résultats publiés par SOMERS et ZIEMELIS (1980) ont permis d'expliquer les observations faites sur les solutions modèles testées contenant de l'anhydride sulfureux. Le travail présenté s'applique aux moûts de raisin et aux jus reconstitués à partir de concentrés ; il complète les éléments apportés par SOMER et ZIEMELIS (1980), acquis sur l'étude du dosage des polyphénols des vins blancs. Les approches successives des difficultés rencontrées pour l'appréciation globale des polyphénols dans les moûts ont conduit à proposer une méthode d'isolement des polyphénols qui permette l'application du réactif de Folin Ciocalteu ainsi que d'autres mesures générales concernant les polyphénols.

MATERIELS ET METHODES

I. — DOSAGES

Le réactif de Folin Ciocalteu est mis en œuvre selon la technique mise au point par BLOUIN et *al.* (1972). Les leucoanthocyanes ou procyanidines sont estimées par la méthode de mesure décrite par POMPEI et *al.* (1979) ; pour les jus colorés, on tient compte de la différence de densité optique avant et après hydrolyse acide (AUBERT, 1970). La détermination des catéchines et tanins catéchiques est effectuée selon le protocole publié par POMPEI et PERI (1971).

II. — SOLUTIONS MODELES

Les solutions des substances responsables des interférences potentielles au réactif de Folin Ciocalteu sont préparées par dissolution dans une solution aqueuse d'acide tartrique à 2 g/l ajustée à pH 3 par de l'hydroxyde de potassium. L'indication « sucres » correspond à une solution d'une teneur égale en fructose et glucose de 80 g/l. La quantité d'anhydride sulfureux est ajustée à partir de solution sulfureux à 4 p. 100.

III. — ECHANTILLONS DE MOUTS ANALYSES

Une vendange d'*Ugni blanc* est divisée en deux lots de 30 kg chacun ; le mutage à 1 g/kg par une solution sulfureuse à 4 p. 100, est effectué sur le fouloir dans un cas, et sur moût décanté dans l'autre. Les moûts concentrés des cépages Maccabeu, Grenache et Alicante nous ont été fournis par l'Institut National de la Recherche Agronomique (Domaine Expérimental de Pech Rouge, 11430 Gruissan). L'indication « Maccabeu oxydé » correspond au moût obtenu à partir de raisins congelés dont le stockage prolongé après décongélation a entraîné un brunissement important des baies.

IV. — PRODUITS ET REACTIFS CHIMIQUES

L'acide gallique (forme hydratée), le glucose et le réactif de Folin Ciocalteu sont des produits provenant de la firme MERCK ; la catéchine de la Sté FLUKA ; le fructose et l'acétone de la Sté PROLABO.

RESULTATS ET DISCUSSION

I. — ROLE DES INTERFERENCES

L'application du réactif de Folin Ciocalteu à des solutions modèles (tableau I) confirme que le complexe oxydant n'est pas spécifique des polyphénols ; cependant, les substances réductrices testées individuellement, à la concentration à laquelle on les trouve généralement dans les moûts mutés, ont une réponse faible par rapport à celles des polyphénols : la solution de sucres à 160 g/l équivaut à 32,5 mg d'acide gallique par litre ; une solution d'anhydride sulfureux à 1 g/l correspond à 49,0 mg par litre. A mesure que les solutions modèles sont plus complexes, le résultat est amplifié ; la différence avec la valeur escomptée, compte tenu des réactions individuelles de chacun des composants du mélange, augmente. La présence de sucre dans une solution d'acide gallique à 100 mg/l accroît le résultats de 43 p. 100 (solution n° 5), l'addition d'anhydride sulfureux à 1 g/l entraîne une amplification de la réaction colorée de 360 p. 100 (solution n° 6). Les interférences au dosage des polyphénols par le réactif de Folin Ciocalteu ont donc un effet synergique sur la mesure spectrophotométrique. Cette influence est accentuée si la quantité de polyphénols est plus élevée ainsi que le montre la comparaison des solutions d'acide gallique à 100 et 200 mg/l et des solutions de catéchines à 30 et 100 mg/l ; à titre d'exemple, le résultat de l'analyse au réactif de Folin Ciocalteu est quatre fois supérieur à la valeur escomptée pour la solution modèle n° 16 contenant l'acide gallique et la catéchine à 100 mg/l en présence de sucres (160 g/l) et d'anhydride sulfureux (1 g/l). Dans les moûts mutés l'utilisation du réactif de Folin Ciocalteu donnera des résultats très largement supérieurs à la valeur réelle du contenu en polyphénols du milieu même si l'effet synergique est moindre lorsque l'anhydride sulfureux se trouve combiné (SOMERS et ZIEMELIS, 1980). Le dosage sur milieu modèle dépourvu d'anhydride sulfureux montre que le résultat sur moût brut serait entaché d'une erreur trop grossière pour pouvoir appliquer directement la réaction de Folin Ciocalteu sur le moût, le jus ou les moûts concentrés.

Lorsqu'on dose des dilués d'un même moût avec le complexe phosphomolybdotungstique, les résultats obtenus ne correspondent pas au facteur de dilution (tableau II) ; cette constatation ne peut s'expliquer que par l'effet conjugué des interférences dont la proportion par rapport aux polyphénols varie avec le taux de dilution. En conséquence, il est impossible de tenir compte de l'influence des interférences par l'application d'un facteur correctif.

Des polymères réticulés sont connus pour leur propriété adsorbante vis-à-vis des substances polaires en solution aqueuse ou hydro-alcoolique. Le Polyclar AT (polyvinylpyrrolidone insoluble) a été notamment utilisé pour l'analyse des polyphénols (LOOMIS et BATAILLER, 1966 ; ANDERSEN et SOWERS, 1968 ; GLORIES, 1971). JERUMANIS (1973) pour les bières,

TABLEAU I

Rôle des interférences dans le dosage des polyphénols par le réactif de Folin Ciocalteu

Solutions testées par le réactif de Folin Ciocalteu	N° des solutions modèles	Valeurs escomptées (b)	Résultats obtenus
Sucres 160 g/l (a)	1	—	32,50
SO_2 1 g/l	2	—	49,00
Sucres + SO_2	3	81,50	154,60
Acide gallique 100 mg/l	4	—	100,00
» » » + sucres	5	132,50	190,10
» » » + » + SO_2	6	181,50	850,10
Acide gallique 200 mg/l + sucres	7	232,50	431,50
» » » + » + SO_2	8	281,50	1256,10
Catéchine 100 mg/l	9	—	98,80
Catéchine 100 mg/l + sucres	10	131,30	188,00
» » + sucres + SO_2	11	180,30	900,50
Catéchine 30 mg/l + sucres	12	62,10	94,70
» » + sucres + SO_2	13	111,10	427,00
Acide gallique 100 mg/l + catéchine 100 mg/l	14	198,80	204,10
Acide gallique 100 mg/l + catéchine 100 mg/l + sucres	15	231,30	445,70
Acide gallique 100 mg/l + catéchine 100 mg/l + sucres + SO_2	16	280,30	1150,60
Acide gallique 200 mg/l + catéchine 30 mg/l + sucres + SO_2	17	311,10	1178,20

(a) = cette solution est préparée avec du glucose et fructose en partie égale et 2 g d'acide tartrique par litre. Elle est ajustée à pH 3 par addition d'une solution normale de potasse.

(b) = compte tenu des sommes calculées à partir des réactions individuelles au Folin Ciocalteu de chaque composé testé.

MARIGO (1973) pour les extraits de végétaux ont proposé une méthode visant à éliminer les interférences par la mise en réaction avant et après adsorption des polyphénols, dont la teneur est ainsi obtenue par différence.

TABLEAU II

Influence de la dilution sur les résultats de la réaction du Folin Ciocalteu d'un moût muté
(cépage *Ugni blanc*)

* Résultats exprimés en mg d'acide gallique par litre

Facteur de dilution	Valeur * escomptée	Résultat * obtenu	Différence en p 100
1	—	873,20	—
1/2	436,60	389,20	12,30
1/3	291,10	242,00	20,30
1/4	218,30	177,80	22,80
1/6	145,50	105,20	38,30
1/8	109,20	77,80	40,40
1/10	87,30	61,00	43,10

Les résultats enregistrés avec les solutions modèles (tableau III) ne sont pas en accord avec les valeurs escomptées lorsque les interférences testées (sucres, anhydride sulfureux) sont présentes dans le milieu. Les adsorbants utilisés fixent bien quantitativement l'acide gallique et la catéchine. La méthode par différence amenuise l'erreur par rapport au dosage sur milieu brut, mais l'écart reste trop important pour pouvoir adapter cette façon de procéder aux moûts mutés. Compte tenu de la réaction des sucres et de l'anhydride sulfureux vis-à-vis du réactif de Folin Ciocalteu en présence ou non de polyphénols, les données du tableau III étaient prévisibles puisque l'analyse est effectuée sur milieu brut en présence de polyphénols, puis sur solution privée de polyphénols par adsorption.

L'étude en solution modèle démontre clairement que le réactif de Folin Ciocalteu surestime la teneur en polyphénols des moûts et en particulier des moûts mutés en raison de leur richesse en sucres et en anhydride sulfureux et de l'effet synergique des interférences.

TABLEAU III

Dosage de composés phénoliques de solutions modèles obtenu par différence : Réaction au Folin Ciocalteu de la solution brute réaction au Folin Ciocalteu de la solution traitée par un adsorbant de polyphénols

Résultats exprimés en mg d'acide gallique par litre

Solutions analysées par le réactif de Folin Ciocalteu	Adsorbants des polyphénols	
	Polyclar AT	Polyamide MN SC 6
Acide gallique 200 mg/l	198,8	202,0
» » » + sucre 160 g/l	371,4	355,6
» » » + » + SO_2 1 g/l	541,0	531,4
Catéchine 25 mg/l	24,2	24,2
» » + sucre 160 g/l	57,9	45,2
» » + » + SO_2 1 g/l	121,5	104,2

II. — ISOLEMENT DE POLYPHENOLS DES MOUTS DE RAISIN EN VUE DE LEUR DOSAGE

Si l'on désire apporter une solution au problème de l'appréciation globale des polyphénols dans les moûts mutés il faut s'orienter, en fonction des données obtenues sur solution modèle, soit vers l'utilisation d'un réactif plus spécifique que le Folin Ciocalteu, soit vers une méthode d'isolement des polyphénols afin d'effectuer la réaction du Folin Ciocalteu sur une solution exempte de substances à effet synergique sur la réaction colorée. DE CLERCK et JERUMANIS (1967) ont étudié en détail les méthodes colorimétriques pour le dosage des polyphénols des bières ; le réactif de Folin Denis ne leur semble pas suffisamment spécifique et proposent d'utiliser le citrate de fer ammoniacal. L'estimation du pouvoir réducteur par le complexe Fer-Dipyridyle pourrait être testée sur les milieux qui nous intéressent (CHAPON et *al.* 1971) ; en effet, les sucres ne réagissent pas et les auteurs indiquent le moyen d'éliminer l'influence du sulfite. L'isolement des polyphénols, en vue de leur dosage, a été préféré, il était ainsi envisageable d'effectuer la mesure des leucoanthocyanes sur le même extrait ; celle-ci nécessite également l'isolement des composés à doser (FLANZY et *al.*, 1969 ; POMPEI et *al.*, 1971 ; WUCHERPFENNIG et MILLES, 1973), d'autre part, le réactif de Folin Ciocalteu est universellement utilisé en œnologie, il peut être, en effet, appliqué directement sur les vins rouges (SOMERS et ZIEMELIS, 1980).

Les formes simples des phénols (acides et flavonoïdes) sont isolées sans difficulté majeure par chromatographie sur gel de silice (MOROT-GAUDRY et *al.*, 1974), sur Polyclar AT (BOURZEIX et *al.*, 1973), sur polyamide (HERRMANN et WALDECKE, 1977), ou sur cellulose (VUATAZ et *al.*, 1959) ; l'élution des formes condensées polyphénoliques est plus difficile, elle nécessite des solvants très polaires, et demeure malgré tout incomplète (GLORIES, 1971). En fonction des données obtenues sur l'isolement des polyphénols du cidre (LEA, 1974), des graines de sorgho (STRUMEYER et MALIN, 1975), de vins rouges (MOUTOUNET et CHUDZIKIEWICZ, 1979), de vins blancs (LEA et *al.*, 1979) notre choix s'est porté sur le Sephadex LH 20. Les conditions opératoires permettant d'isoler quantitativement les polyphénols des moûts ont été mises au point en premier lieu, avec des solutions d'acide gallique et de catéchine en présence de glucose, de fructose, d'anhydride sulfureux ajustées à pH 3 avec de l'acide tartrique et de l'hydroxyde de potassium.

Protocole adopté : une colonne de 6,5 mm de diamètre intérieur est remplie, sur une hauteur de 130 mm de Sephadex LH 20 conditionné selon les indications de la firme PHARMACIA. En tête de colonne, un robinet à trois voies permet l'admission au choix, de l'échantillon, des solvants d'élution et d'effectuer la chromatographie sous pression d'azote. Le montage chromatographique sous azote est réalisé avec un équipement OMNIFIT.

Le volume de l'échantillon déposé est de 0,5 ml pour les moûts issus de macération et de 5 ml dans les autres cas, ainsi que pour les solutions modèles (Comme cela sera démontré par la suite, l'échantillon doit être amené à un pH inférieur à 3, si nécessaire, par addition d'acide orthophosphorique.).

Les interférences sont éliminées par passage de 5 ml d'eau. L'ensemble des polyphénols est élué par 20 ml d'une solution acétonique à 60 p. 100 dans l'eau. Le solvant est éliminé par évaporation à 30 °C sous vide partiel et sous courant d'azote. Le résidu est repris par 10 ml d'eau ajustée à pH 3 par l'acide chlorydrique.

Les résultats mentionnés dans le tableau IV indiquent que la récupération de l'acide gallique et de la catéchine est quantitative dans les conditions analytiques précisées ci-dessus. Ainsi, l'effet synergique des interférences est éliminé. En fonction de la simplicité de la méthode décrite, on peut penser que les autres acides phénols et flavonoïdes présents dans les moûts de raisin sont bien retenus par le Sephadex LH 20 et élués par le solvant acétone/eau. S'il est facile de se rendre compte de la fixation et de l'élution des composés phénoliques simples il est moins aisé, par des moyens analytiques peu sophistiqués, de s'assurer de l'élution quantitative de polyphénols condensés. Porté à ébullition dans

le butanol acide, le Sephadex LH 20 donne une coloration brune ; en présence de Folin Ciocalteu, il engendre une coloration bleutée ; de la sorte, il n'est pas possible d'examiner si des polyphénols restent fixés sur la colonne après passage du solvant jusqu'à épuisement en polyphénols éluables. Le tableau V rapporte, dans les deux dernières colonnes, les résultats comparatifs obtenus par hydrolyse acide sur les polyphénols de type proanthocyanidine isolés, soit à partir de l'utilisation du Sephadex LH 20, soit à partir de polyamide selon le protocole proposé par POMPEI et *al.* (1971). Dans l'ensemble, les quantités mesurées sont du même ordre de grandeur dans la mesure où les moûts sont jugés normaux ; on remarquera, en effet, que l'oxydation du moût (Maccabeu 78) engendre des composés qui ne se fixent plus sur le Sephadex LH 20, contrairement au pouvoir adsorbant du polyamide. L'application du réactif de Folin Ciocalteu au moût sans traitement préalable, entraîne une estimation par large excès de la quantité de polyphénols totaux de moûts (tableau V).

TABLEAU IV

Analyse de solutions modèles par le réactif de Folin Ciocalteu. Comparaison de la mesure sur solution brute et après isolement des polyphénols par chromatographie sur Sephadex LH 20

Résultats exprimés en mg d'acide gallique par litre

Solutions modèles	Réaction au Folin Ciocalteu	
	sur solution brute	après isolement sur Sephadex LH 20
Acide gallique 200 mg/l + sucres 160 g/l	431,5	198,8
» » » + » + SO_2 1 g/l	1256,1	198,8
Catéchine 30 mg/l + sucres 160 g/l	94,7	27,2
» » + » + SO_2 1 g/l	427,0	29,1

En fonction des problèmes posés par l'utilisation directe du réactif de Folin Ciocalteu aux moûts mutés et des résultats obtenus sur solutions modèles et avec des échantillons de moûts, il semble, actuellement, préférable d'utiliser la méthode décrite pour estimer la teneur en polyphénols des moûts. Cette technique analytique, relativement longue, se prête mal à une analyse de routine ; il faut éviter, aussi, un stockage prolongé des polyphénols dans la solution acétonique (GLORIES, 1978). Par contre, elle offre la possibilité d'effectuer sur le même extrait différentes mesures qui

demandent une certaine purification de l'échantillon pour pouvoir être interprétables (polyphénols totaux, proanthocyanides, réaction avec la vanilline, spectre U.V.).

TABLEAU V

Dosage de polyphénols dans les moûts mutés et les concentrés de moûts de raisin

Echantillons	moût brut	Polyphénols isolés sur :			
		Sephadex LH 20			Polyamide
	Folin Ciocalteu		Réaction à la vanilline	Procyanidine par hydrolyse acide	
	en acide gallique (mg/l)		en catéchine (mg/l)	en chlorure de cyanidine (mg/l)	
Ugni blanc sulfité après pressurage	725,9	80,6	25,0	70,1	70,6
Ugni blanc sulfité au foulage	873,2	176,0	70,0	149,9	146,8
Maccabeu 78 « moût oxydé »	631,2	53,3	0	16,8	40,8
Maccabeu 80	326,1	46,3	0	43,6	57,8
Grenache concentré stocké à 15 °C pendant 1 an	557,6	124,8	90,0	110,7	—
Grenache concentré stocké congelé	520,7	139,5	260,0	176,0	190,8
Alicante de macération sulfitique	2 524,8	1 556,9	430,0	3 921,4	4 375,9

Pour que la récupération des polyphénols soit totale sur Sephadex LH 20, il faut prendre la précaution d'ajuster le pH, de l'échantillon déposé, au-dessous de 3. En effet, on trouve sur le moût d'*Ugni blanc* (tableau V) amené à pH 4, une teneur en polyphénols totaux de 94,8 mg/l au lieu de 176,0 mg/l, les proanthocyanidines passent de 149,9 à 141,0 mg/l ; le spectre U.V. des extraits chromatographiques obtenus aux différents pH indique que ce sont les dérivés cinnamiques qui ne sont pas retenus par le Sephadex LH 20 aux pH élevés (figure 1).

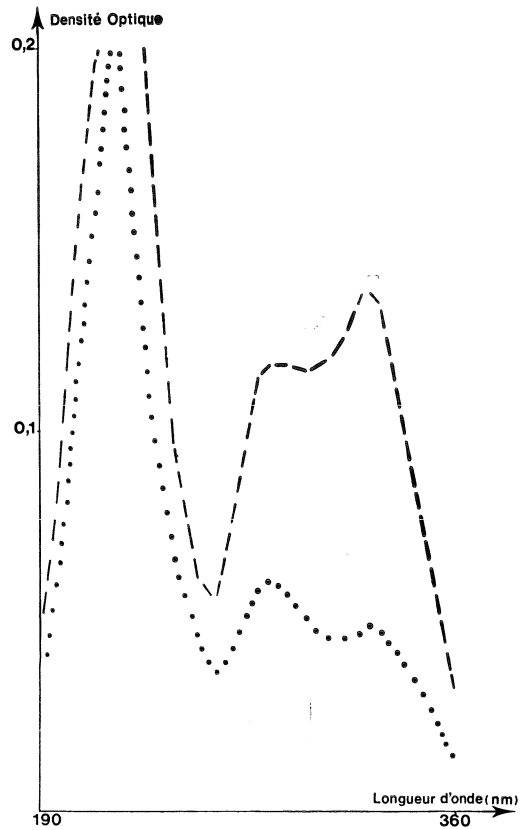


Fig. 1. — Spectre U.V. de moût de raisin (Ugni banc muté au foulage) chromatographié sur Sephadex LH 20 à pH 2,6 (— — — — —) à pH 4 (. . . . .).

Le règlement communautaire (n° 337/79 J.O. n° L57/3) exige pour les moûts de raisin concentrés rectifiés des normes limitatives en ce qui concerne les phénols totaux et les phénols simples ; il a paru intéressant à partir du système analytique utilisé pour les phénols totaux de distinguer par élution sélective les phénols simples. Le graphique de la figure 2 montre que l'élution par l'eau distillée permet d'estimer globalement cette valeur. Seules les deux premières fractions de 5 ml renferment des sucres ; la réaction au Folin Ciocalteu est surtout intense dans les fractions 3 et 4, les autres polyphénols sont élués par le mélange acétone/eau (60/40 v/v) ; les formes condensées se trouvent à près de 80 p. 100 dans la fraction acétone/eau ; le spectre U.V. des différentes fractions confirme l'identité de la partie phénols simples ; on remarque, en effet, le pic caractéristique vers 330 nm des dérivés cinnamiques.

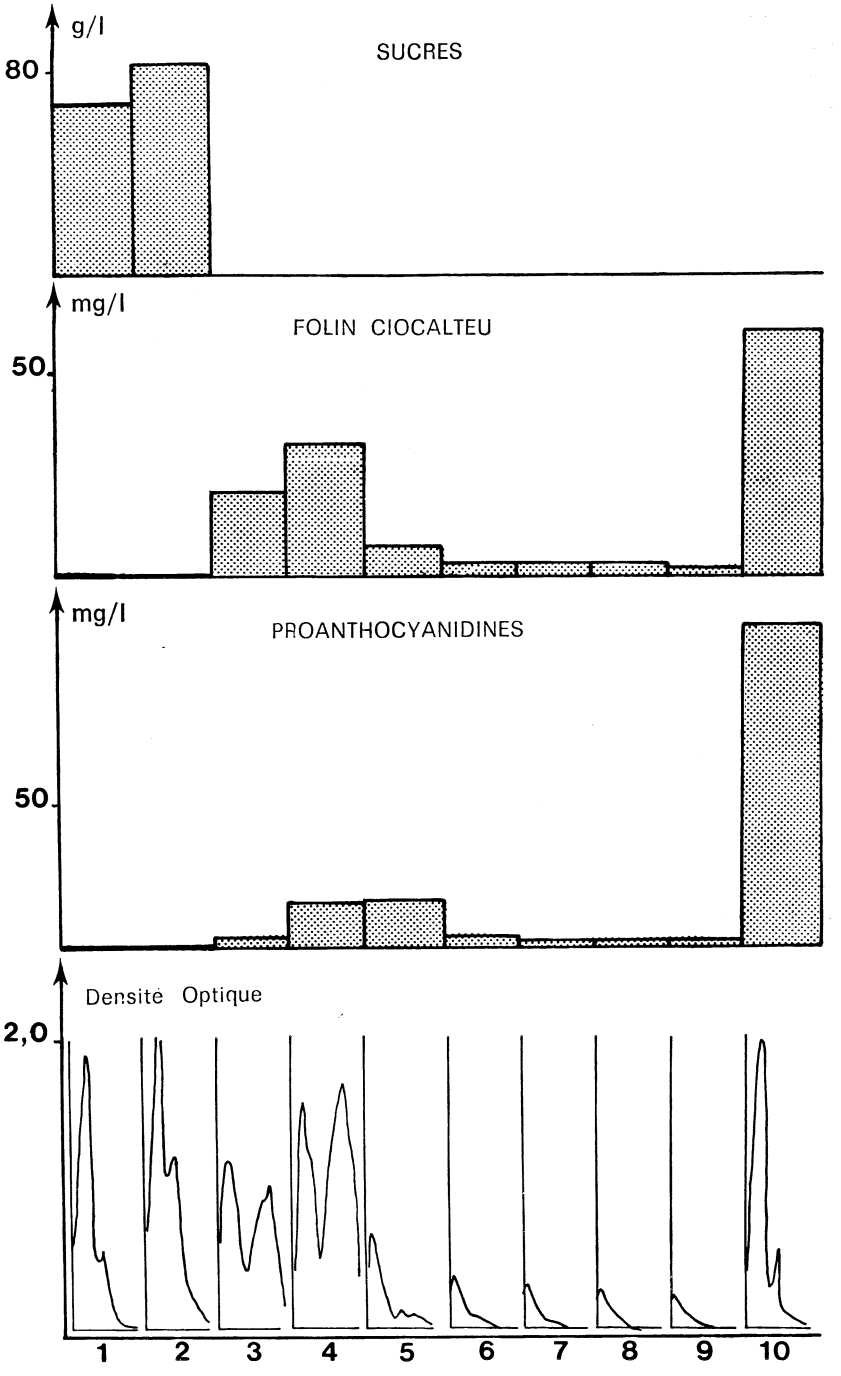


Fig. 2. — Schéma de l'élution de la chromatographie sur Sephadex LH 20 d'un moût de raisin (Ugni blanc muté au foulage). Les fractions de 1 à 9 sont obtenues avec l'eau distillée la fraction 10 avec une solution d'acétone à 60 p. 100 dans l'eau.
Les spectres U.V. sont enregistrés de 190 à 330 nm (voir figure 1).

L'appréciation de la proportion de phénols simples est accessible avec l'équipement qui permet le dosage des polyphénols totaux ; on opèrera de la manière suivante : injection de l'échantillon, amené à pH inférieur à 3 avec l'acide ortho-phosphorique, sur la colonne de Sephadex LH 20 (0,5 ou 5 ml de moût selon la concentration en polyphénols), élimination des interférences par lavage avec 10 ml d'eau, élution par 15 ml d'eau distillée, puis par 20 ml de solution d'acétone/eau (60/40), évaporation des deux dernières fractions sous vide à 30 °C sous courant d'azote ; l'analyse avec le réactif de Folin Ciocalteu est effectuée sur chacune d'elles après reprise par 5 ml d'eau à pH 3. Le résultat de l'éluat aqueux correspond aux phénols simples, et la somme de la mesure des deux fractions aux poyphénols totaux. Ces indications sont déduites d'essais avec un moût frais de cépage blanc ; en conséquence, cette technique chromatographique devra faire l'objet de vérifications, ou d'éventuelle adaptation pour une application plus générale.

CONCLUSION

Il a été mis en évidence, à l'aide de solutions modèles (polyphénols en présence ou non de substances réductrices du moût de raisin), que le réactif de Folin Ciocalteu ne peut s'appliquer directement sur moût de raisin, et notamment sur les moûts mutés sans que la teneur réelle en polyphénols soit très largement surestimée. Les méthodes de dosage avec le complexe phosphomolybdotungstique, qui prévoient des mesures par différence avant et après traitement spécifique sur les polyphénols sont inexploitables sur moûts de raisin. Les sucres du raisin et l'anhydride sulfureux ont un effet synergique sur la réaction d'oxydo-réduction.

Avec les conditions opératoires mises au point, l'utilisation de la chromatographie sur Sephadex LH 20 permet efficacement d'éliminer les interférences, d'effectuer les mesures globales des polyphénols avec plus de précision, de distinguer également la proportion de phénols simples, des moûts de raisin et des dérivés riches en sucres et en anhydride sulfureux.

Manuscrit reçu le 11 septembre 1981, accepté pour publication le 12 novembre 1981.

RÉSUMÉ

L'étude de la réaction de Folin Ciocalteu en solution modèle a montré que ce réactif ne peut être utilisé directement sur les moûts de raisin, en particulier s'il s'agit de moûts mutés. Une méthode d'isolement est proposée pour l'évaluation de mesures globales de polyphénols (Folin Ciocalteu, hydrolyse acide, réaction avec la vanilline, spectre UV).

SUMMARY

A study of the reaction of Folin-Ciocalteu in a sample solution revealed that this reactive agent cannot be used directly in grape musts, especially for preserved musts. An isolation method is proposed to evaluate total polyphenol measurements (Folin Ciocalteu, acid hydrolysis, vanillini reaction, UV spectrum).

ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Reaktion von Folin-Ciocalteu in einer Modellösung hat sich herausgestellt dass dieser Reaktif nicht direkt beim Most verwendet werden kann, hauptsächtlich dann wenn es sich um Moste handelt wo Alkohol zugesetzt worden ist (mutierte Moste). Eine Isolationsmethode wird vorgeschlagen um globale Messungen der Polyphenole zu ermitteln.

RESUMEN

El estudio de la reacción de Folin-Ciocalteu en soluciones patrones han demostrado que ese reactivo no puede ser utilizado directamente sobre el mosto de uva en particular si se trata de mostos apagados (azufrados). Un método de aislamiento se propone para la evaluación de las medidas globales de los polifenoles (Folin Ciocalteu, hidrolisis en medio ácido, reacción con la vanilina, expecto UV).

RIASSUNTO

Lo studio della reazione di Folin Ciocalteu in soluzione tipo ha mostrato che questo reattivo non puô esser utilizzato direttamente sui mosti d'uva, particolarmente quando sono mosti, la cui fermentazione è arrestata. Un metodo d'isolamento è proposto per la valutazione di misure globali dei polifenoli (Folin Ciocalteu, idrolisi Acida, reazione con la vanillina, spettro U.V.).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDERSEN R. et SOWERS J., 1968. Optimum conditions for bounding of plants phenols to insoluble PVP. *Phytochemistry,* **7,** 293-301.

AUBERT S., 1970. Méthodes usuelles d'évaluation des anthocyanes et tanins dans les vins. *Ann. Fals. Exp. Chim.,* **690,** 107-117.

BLOUIN J., LLORCA L., MONTREAU F.R. et DUFOUR J.H., 1971. Etude des conditions optimales pour la détermination des polyphénols totaux par le réactif de Folin Ciocalteu. *Connaissance Vigne Vin,* **6,** N° 4, 405-413.

BOURZEIX M., HEREDIA N. et NATCHKOV D., 1973. Isolement quantitatif du monoglucoside du malvidol du vin rouge ou d'extraits méthanoliques de marcs de raisin. *J. Chromat.,* **87,** 269-270.

CHAPON L., LOUIS C. et CHAPON S., 1971. Estimation du pouvoir réducteur des bières par le complexe Fer-Dipyridyle. *Proceeding of the 13th Congress of the European Brewery Convention Estoril.* Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 307-322.

CORNWELL C. et WROLSTAD R., 1981. Causes of browning of pear juice concentrate during storage. *J. Food Sci.,* **26,** N° 2, 515-518.

DE CLERCK J. et JERUMANIS J., 1967. Dosage des polyphénols en brasserie. *Bull. Anc. Brasserie, Louvain,* **63,** N° 4, 137-161.

FLANZY M., AUBERT S. et MARINOV M., 1969. Nouvelle technique de dosage des tanins leucoanthocyaniques. Applications. *Ann. Technol. Agric.*, **18**, N° 4, 327-338.

GLORIES Y., 1971. Essais de détermination de l'état de condensation des tanins du vin rouge. *Thèse Doctorat 3e cycle,* Université de Bordeaux II.

GLORIES Y., 1978. Recherche sur la matière colorante des vins rouges. *Thèse Doctorat d'Etat,* Université de Bordeaux II, p. 133.

HERRMANN et WOLDECKE M., 1977. The flavonol content of peas. *J. Sci. Fd Agric.*, **28**, 365-368.

JERUMANIS J., ,1973. Mise au point des méthodes de dosage des polyphénols en brasserie. *Bull. Anc. Brasserie,* Louvain, **69**, N° 1, 1-14.

LEA A., 1974. The isolation and quantitative determination of phenolic compounds in cider. *Thesis University,* Bristol, p. 70.

LEA A., BRIDLE P., TIMBERLAKE C. et SINGLETON V., 1979. The procyanidins of white grapes and wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **30**, N° 4, 289-300.

LOOMIS W. et BATAILLE S., 1966. Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. *Phytochemistry*, **5**, 423-438.

MARIGO G., 1973. Sur une méthode de fractionnement et d'estimation des composés phénoliques chez les végétaux. *Analusis*, **2**, N° 2, 106-110.

MOROT-GAUDRY J., NICOL M.Z. et JOLIVET E., 1974. Analyse quantitative des acides phénoliques par chromatographie sur gel de silice. *J. Chromat.*, **100**, N° 1, 206-210.

MOUTOUNET M. et CHUDZIKIEWICZ J., 1979. Fractionnement de la matière colorante de vins rouges. *C.R. Groupe Polyphénols,* Logrono (Espagne), 145-148.

MYERS T. et SINGLETON V., 1979. The nonflavonoide phenolic fraction of wine and its analysis. *Am. J. Enol. Vitic.*, **30**, N° 2, 98-102.

PESEZ M. et POIRIER P., 1954. *Méthodes et réactions de l'analyse organique.* III. *Réactions colorées et fluorescences.* Masson et Cie, éd., Paris.

POMPEI C. et PERI C., 1971. Détermination of catechins in wines. *Vitis*, **9**, N° 4, 312-316.

POMPEI C., PERI C. et MONTEDORO G., 1971. Le dosage des leucoanthocyanes dans les vins blancs. *Ann. Technol. Agric.*, **20**, N° 1, 21-34.

SOMERS C. et ZIEMELIS G., 1980. Gross interference by sulphur dioxide in standard determinations of wine phenolics. *J. Sci. Food Agric.*, **31**, N° 6, 600-610.

STRUMEYER D. et MALIN M., 1975. Condensed tanins in grain sorghun : isolation. fractionation and characterization. *J. Agr. Food Chem.*, **23**, N° 5, 909-914.

VUATAZ L., BRANDENBERGER H. et EGLI R., 1959. Separation of the thea polyphenols by cellulose column chromatography. *J. Chromat.*, N° 2, 173-187.

WUCHERPFENNIG K. et MILLIES K., 1973. Eine schnelimethode zur bestimmung der leucoanthocyane in hellen getränkein. *Flussiges Obst*, **40**, N° 2, 48-54.