Connaissance Vigne Vin 1976, **10**, N° 2, 193-226.

LES COLLOIDES GLUCIDIQUES SOLUBLES DES MOUTS ET DES VINS (*)

L. USSEGLIO-TOMASSET

Sezione di Chimica Enologica
Istituto sperimentale per l'enologia, Asti (Italie)

En 1963, une précédente conférence sur les colloïdes du vin avait été faite ici même à Bordeaux, à l'occasion du 2e Symposium International d'Œnologie célébrant le centenaire des premières recherches de PASTEUR sur le vin.

Douze ans après, ce sujet est l'objet de nouvelles études destinées à préciser et approfondir les connaissances obtenues dans un domaine œnologique peu étudié.

Notre exposé laissera volontairement de côté les protéines, déjà étudiées par de nombreux auteurs ; nous parlerons seulement ici des colloïdes de nature glucidique.

Dès le début du siècle, on a utilisé les expressions de « gommes » et de « pectines ». MUNTZ et LAINE (1905, 1906), SEMICHON (1927), SEMICHON et FLANZY (1926) les rendent même responsables du caractère moelleux des vins sans que, d'ailleurs, on sache exactement pourquoi. La perennité des mythes comme le poids de l'autorité des savants sont cependant tels qu'en 1963, encore, dans le Lexique de la Vigne et du Vin, à l'article « moelleux », on trouve cette seule explication : « caractéristique d'un vin riche en extrait, glycérine et substances pectiques ». Encore faut-il remarquer que cette définition est donnée en français, en italien, en espagnol, en portugais et en russe, tandis qu'en anglais et en allemand il n'est plus question de pectines ; on constate donc, au sujet de l'influence organoleptique des substances pectiques, de bien curieuses divergences entre les mondes slave et latin et le monde anglo-saxon.

SEMICHON et FLANZY (1927) signalent une méthode de dosage spécifique des gommes et des pectines, ces dernières étant précipitées sous forme de pectate de calcium. Ces auteurs signalent également, fort justement, une estérification de l'acide pectique par le méthanol, bien

(*) Conférence donnée à l'Institut d'Œnologie de Bordeaux, le 22 septembre 1975.

qu'ils donnent de la structure des pectines une interprétation inexacte, les considérant comme issues de la polymérisation d'un pentose et d'une molécule de glycérophosphate ; quant aux gommes, ces mêmes auteurs, les considèrent comme des polymères du glucose.

Malgré ces erreurs, inévitables eu égard aux possibilités analytiques de ce temps, SEMICHON et FLANZY avaient réussi à identifier de façon exacte la nature particulière des pectines, colloïdes acides, source de méthanol, différents des autres substances ; ils avaient également remarqué que les divers hyphomycètes **(Botrytis cinerea, Penicillium expansum)**, comme les levures, ne forment pas de pectines.

C'est à PEYNAUD (1951, 1952) que l'on doit la première différenciation analytique faite entre gommes et pectines ; cet auteur considère ces dernières comme des acides polygalacturoniques partiellement méthylés et les teneurs qu'il en donne sont, de toute évidence, très inférieures aux valeurs précédemment admises pour les moûts et les vins.

USSEGLIO-TOMASSET (1958 a, 1958 b, 1959 a, 1959 b, 1961 a, 1961 b), USSEGLIO-TOMASSET et TARANTOLA (1963) ont réalisé de nombreux travaux sur les colloïdes des moûts et des vins, au moyen de la technique de l'électrophorèse en phase libre de TISELIUS ; en utilisant une solution tampon convenable, il est possible de séparer, sous l'influence d'un champ électrique, des espèces colloïdales possédant différentes valeurs de mobilité électrophorétique ; ceci provient de différences de charges électriques et des dimensions moléculaires des particules.

Dans une cellule en U, aux faces planes optiquement travaillées, on peut mesurer, au moyen d'un dispositif optique particulier, le gradient d'indice de réfraction d'un composant mobile à l'intérieur de la cellule, gradient proportionnel à celui de la concentration en composant ; celui-ci est visualisé sous la forme d'un pic proportionnel à la concentration ; on peut photographier ce pic et, après agrandissement, mesurer sa surface ce qui permet d'obtenir la concentration.

Ces recherches ont été réalisées, soit directement sur des moûts et des vins soumis à une double dialyse (d'abord contre l'eau, puis contre une solution-tampon), soit sur des colloïdes précipités, après acidification, par addition d'alcool éthylique jusqu'à 80 °.

Cette méthode permet de séparer rapidement les pectines des autres colloïdes dépourvus de charge électrique ; ces pectines font preuve d'une

mobilité importante, provoquée par la présence de carboxyles libres dans la chaîne polygalacturonique.

Au cours de la vinification, les pectines sont rapidement déméthylées par la pectineméthylestérase du moût ; ceci se produit au cours des deux jours suivant le foulage, avec une augmentation des charges électriques et donc avec une augmentation de la mobilité des particules colloïdales ; en outre, il se produit une dégradation, plus lente mais également profonde, de la chaîne polygalacturonique, par suite de l'action d'une polygalacturonase du moût, qui brise la chaîne en libérant de l'acide galacturonique.

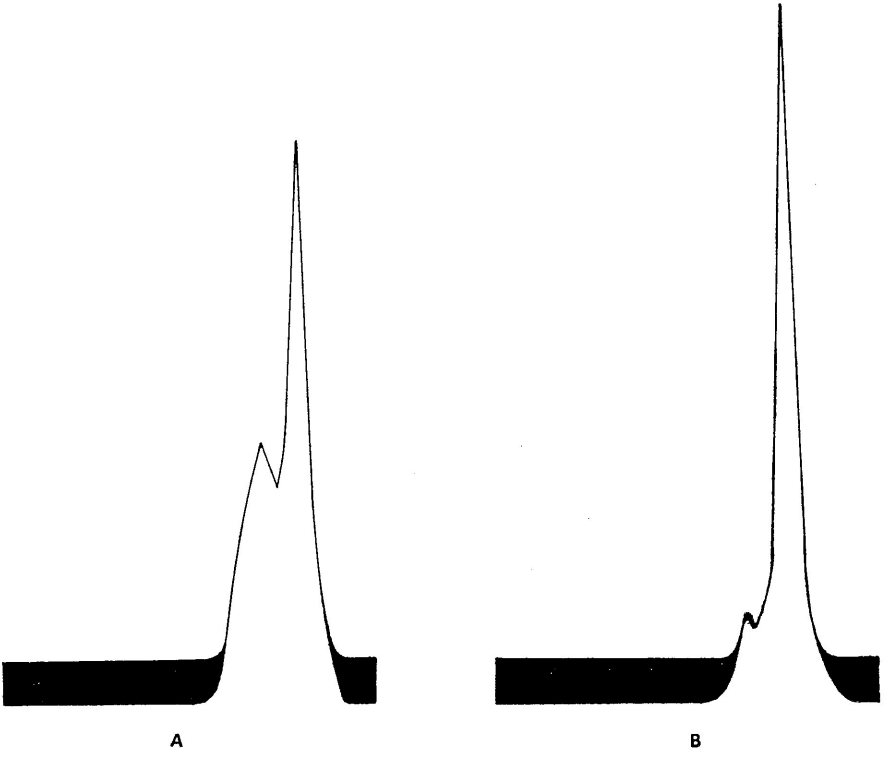


Fig. 1. — Comparaison des électrophorégrammes des colloïdes de deux vins.
A — Vin de cépage Dolcetto (vinification en rouge après éraflage).
B — Vin de cépage Cortese (vinification en blanc)

En vinification en blanc, en fin de fermentation, il se produit une chute importante de la teneur en pectines. En vinification en rouge, par contre, il s'établit un équilibre entre les pectines hydrolysées et celles extraites du marc ; en fin de fermentation, la teneur en pectines du vin

rouge reste encore élevée. La figure 1 montre la comparaison des électrophorégrammes de deux vins, un vin blanc et un vin rouge ; on remarque, au début de l'électrophorèse, la séparation rapide entre les pectines et les colloïdes à faible mobilité ; la prolongation de l'électrophorèse permet de séparer complètement le pic correspondant aux pectines de celui des colloïdes dépourvus de charge électrique ; on remarque également, dans les deux cas, l'importante différence de concentrations.

L'emploi de cette technique (USSEGLIO-TOMASSET, 1958 b) a également permis de confirmer les conclusions de SEMICHON et FLANZY (1927) : **Botrytis cinerea, Penicillium expansum** ne forment pas de pectines dans le vin.

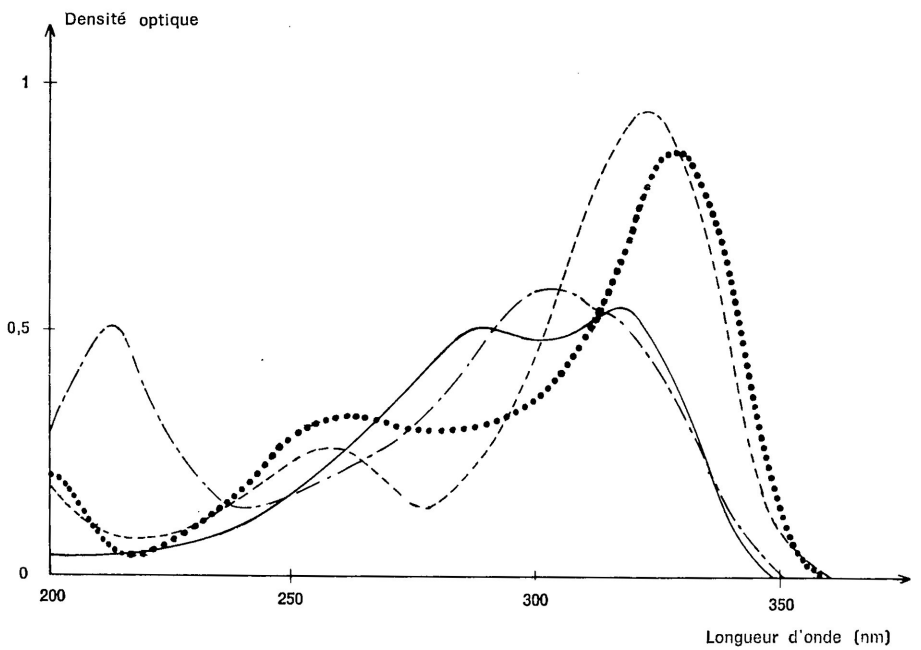


Fig. 2. — Spectres d'absorption de solutions pures d'arabinose, de galactose, de rhamnose et d'acide galacturonique chauffées en présence d'acide sulfurique.
———— Arabinose —·—·— Acide galacturonique
— — — — Galactose ..... Rhamnose

Au cours d'un autre travail (TARANTOLA et USSEGLIO-TOMASSET, 1963 b) on a abordé l'étude des colloïdes en utilisant, après modifications, une méthode spectrophotométrique signalée par ZITKO et **al.** (1961) ; celle-ci utilise la régression multiple avec traitement statistique des résultats de façon à calculer les erreurs maximales admissibles. Cette méthode est basée sur le fait que les pentoses, les hexoses et l'acide galacturonique, lorsqu'on les chauffe en présence d'acide sulfurique,

donnent des spectres d'absorption différents (figure 2) ; par trois lectures à trois longueurs d'onde différentes, il est possible de calculer les teneurs en arabanes, galactanes et pectines des colloïdes précipités du vin ou isolés à partir des diverses parties de la baie, par extraction aqueuse et précipitations successives par l'alcool ; on a pu ainsi étudier la composition des colloïdes solubles des différentes parties de la baie de raisin, pulpe, pellicules et pépins. On procède de la façon suivante : A partir de 100 ml de pulpe homogénéisée, on précipite les colloïdes par addition d'alcool ; les pellicules et les pépins sont broyés, à l'aide d'un mixeur à couteaux, en présence d'acétone ; l'opération est répétée à plusieurs reprises, en renouvelant chaque fois la solution d'acétone ; le broyat est ensuite séché à 30 °C pendant 24 h. On le soumet alors à plusieurs extractions successives par l'eau chaude, pour en extraire les substances solubles ; l'addition d'alcool à cette solution permet enfin de précipiter les colloïdes.

Nos recherches ont porté sur trois cépages provenant du vignoble expérimental de notre Institut : Dolcetto, Barbera (cépages rouges) et Cortese (cépage blanc), Les résultats obtenus sont les suivants : par rapport à la totalité des colloïdes extraits, ceux de la pulpe représentent environ 40 p. 100, ceux des pellicules 30 à 35 p. 100 ; ceux des pépins représentent un pourcentage légèrement inférieur. Il faut cependant noter que, tandis que les colloïdes de la pulpe sont directement dissous dans le moût, ceux des pellicules et des pépins subissent plusieurs extractions successives ; de plus, les pellicules, déchirées au moment du foulage, sont constituées par des tissus aqueux et fragiles tandis que les pépins présentent une structure anatomiquement bien définie, à surface compacte et se retrouvent presque intacts lors du décuvage ; dans la vinification en rouge, ce sont les pellicules qui apportent les colloïdes au vin ; l'influence des pépins reste négligeable.

La composition des colloïdes du moût et des colloïdes extraits des pellicules est très peu différente ; dans les deux cas, les pectines constituent 40 à 50 p. 100 des colloïdes présents ; pendant la vinification en rouge, les pellicules donnent une quantité de colloïdes sensiblement égale à celle déjà présente dans le moût ; aussi, au décuvage, obtient-on une teneur en colloïdes précipitables presque deux fois plus importante que celle du moût après pressurage.

Les déterminations spectrophotométriques, tout en permettant une meilleure différenciation des monomères constitutifs des espèces colloïdales, ne sont cependant pas tout à fait spécifiques ; en effet, après



chauffage en présence d'acide sulfurique, le glucose, le mannose et le galactose donnent, dans l'ultra-violet, les mêmes spectres d'absorption. On ne peut donc pas distinguer les galactanes des mannanes et des éventuels polymères du glucose. En outre, le rhamnose, dans ces conditions, donne un spectre très peu différent de celui des hexoses.

Aussi, dans un travail en cours de publication (USSEGLIO-TOMASSET et CASTINO, 1975), le problème a-t-il été abordé de nouveau ; le but recherché consiste à tenter d'identifier et de doser les divers monomères obtenus par hydrolyse des colloïdes ; d'autre part, nous avons cherché à obtenir, grâce à des méthodes physico-chimiques appropriées, des renseignements sur le poids moléculaire des particules colloïdales.

Avant de passer à la description des méthodes utilisées, nous aimerions signaler les travaux de BUCHI (1954) et de BUCHI et DEUEL (1954). Ces travaux, déjà anciens, sont rarement cités ; ils représentent cependant une étude importante et approfondie du problème des colloïdes du moût.

BUCHI et DEUEL précipitent, par addition d'alcool, les colloïdes de 400 litres de moût de Räuschling préalablement centrifugé ; les pectines sont tout d'abord éliminées par saponification à pH 8,5 et précipitation sous forme de pectate de calcium. L'addition d'alcool permet d'obtenir 55 g d'un précipité colloïdal que l'on sèche ensuite sous vide.

A partir de cet échantillon, BUCHI et DEUEL tentent alors une série de fractionnements successifs par extractions par l'alcool, à chaud, suivies de précipitations, en utilisant 18 électrolytes différents, sans parvenir à aucune séparation ; ces auteurs concluent donc que la substance colloïdale étudiée est parfaitement homogène et constituée d'une seule espèce colloïdale. Après hydrolyse de ce colloïde pendant 20 heures à 110 °C en présence d'acide sulfurique, après neutralisation par le carbonate de baryum, BUCHI et DEUEL réalisent une chromatographie sur papier (qui permet d'identifier plusieurs sucres après élution et colorimétrie) en même temps qu'un fractionnement sur colonne de cellulose en utilisant le n-butanol comme éluant ; ils obtiennent ainsi plusieurs fractions à partir desquelles ils identifient divers sucres sous forme cristallisée.

L'acide galacturonique est dosé, dans l'échantillon initial, par décarboxylation à chaud en présence d'acide chlorhydrique, absorption du CO_2 par la baryte et titration en retour de la baryte en excès.

ISVV

Ces auteurs analysent ainsi la composition du colloïde du moût de Räuschling ainsi que celle du vin correspondant. De la même façon, ils conduisent l'identification de la composition d'un extrait colloïdal obtenu à partir d'un vin d'Ebling.

Dans tous les cas. on remarque, après élimination des pectines, la présence d'une certaine quantité d'acide galacturonique ; il reste également du galactose, du mannose, de l'arabinose et du rhamnose, tandis qu'il n'y a ni glucose ni xylose. BUCHI et DEUEL obtiennent également un acide aldobyonique, identifié au α-D-galacturonoside-2-L-rhamnose après hydrolyse partielle du colloïde du moût en présence d'acide oxalique à 3 p. 100, à 110 °C, pendant 18 heures.

En conclusion, BUCHI et DEUEL, précipitant à partir d'un moût un complexe colloïdal, ont réussi à le fractionner en deux composants : les pectines, d'une part (séparées sous forme de pectate de calcium après hydrolyse alcaline) et un colloïde, d'autre part, d'une structure complexe mais que ces auteurs considèrent comme une seule substance homogène ; ce colloïde est constitué d'un mélange d'acide galacturonique, de galactose, de mannose, d'arabinose et de rhamnose. Parmi les substances, après hydrolyse acide, glucose et xylose n'apparaissent pas ; l'acide galacturonique et le rhamnose présents dans le polymère sont combinés sous forme d'acide aldobyonique.

Nos recherches, vingt ans après, réalisées au moyen de méthodes plus modernes et plus sensibles, confirment ces remarquables résultats.

Les buts que nous nous étions fixés étaient les suivants :

1 — Identification de la composition, qualitative et quantitative, des colloïdes de nature glucidique.

2 — Détermination du poids moléculaire des particules colloïdales.

3 — Identification des structures caractéristiques de façon à savoir si les colloïdes obtenus après élimination des pectines sont constitués d'une seule espèce colloïdale complexe ou s'ils résultent de l'association de colloïdes de nature différente.

L'étude a été réalisée sur les colloïdes de trois moûts (Muscat 1972, Barbera 1972, Nebbiolo 1973) ainsi que sur ceux des vins correspondants issus des fermentations spontanées des moûts.

Le moût de Muscat a fermenté, en blanc, à basse température (6 à 7 °C) afin d'étudier l'évolution des colloïdes ; habituellement, dans ce type de vin, on arrête la fermentation alcoolique quand environ 50 p. 100 du sucre initial a été consommé ; le vin reste doux et est commercialisé ainsi Les vins de Barbera et de Nebbiolo sont obtenus par vinification en rouge après éraflage ; les colloïdes sont précipités et séparés par centrifugation 11 jours après la mise en cuve ; dans le cas du vin de Barbera, cette extraction a été aussi réalisée 2 ans et 5 mois après la mise en cuve.

Séparation des colloïdes des moûts et des vins.

Les colloïdes étudiés sont obtenus de la façon suivante : à un certain volume de moût ou de vin, clarifié initialement par centrifugation à 10.000 tours par minute, on ajoute 5 p. 100 en volume d'acide chlorhydrique dilué au demi, puis 5 volumes d'alcool à 95 °. On centrifuge l'ensemble des colloïdes précipités et on le lave avec de l'alcool neutre ; on dissout le tout dans l'eau tiède et on reprécipite par l'alcool ; après lavage à l'alcool absolu on sèche sous vide à 35 °C ; la substance obtenue est enfin moulue finement dans un mortier. On obtient ainsi, à partir des moûts, une poudre jaune-brun tandis que les vins donnent une impalpable poudre blanche.

Le tableau I rassemble les résultats relatifs aux quantités de colloïdes totaux ainsi obtenus.

TABLEAU I

Teneurs en colloïdes totaux de quelques moûts et de vins correspondants

	Teneurs en colloïdes totaux (mg de poids sec par litre)
Moût de Muscat 1972	525
Vin de Muscat 1972	282
Moût de Nebbiolo 1973	280
Vin de Nebbiolo 1973 (tout de suite après décuvage)	498
Moût de Barbera 1972	625
Vin de Barbera 1972 (tout de suite après décuvage)	1150
Vin de Barbera 1972 (après 29 mois de vieillissement)	712

On constate le phénomène déjà signalé (USSEGLIO-TOMASSET, 1959) selon lequel, après fermentation en blanc, il se produit une nette diminution des colloïdes totaux ; cette diminution est imputable à la dégradation importante des pectines au cours de la fermentation alcoolique.

Après fermentation en rouge, en présence des parties solides, on enregistre une nette augmentation des colloïdes totaux à la suite de la diffusion dans le jus des colloïdes du marc.

A partir des colloïdes des moûts on sépare également les pectines selon le protocole suivant : 1 g de colloïdes est dissous dans 40 ml d'eau ; on amène le pH, par addition de soude, à 9,5 ; 6 heures après le pH est ramené à 6,5 par addition d'acide acétique ; on ajoute alors au milieu 2 ml de solution de chlorure de calcium 2 N. Après 8 heures de repos on sépare par centrifugation le précipité de pectate de calcium. A partir du surnageant limpide on précipite alors les colloïdes par addition de 5 volumes d'alcool à 95 ° ; ceux-ci sont séchés sous vide à 35 °C et finement broyés.

Méthodes d'analyse.

Nous avons tout d'abord recherché les conditions optimales pour l'hydrolyse acide des colloïdes, en opérant en ampoule fermée, à 100 °C, et en solution normale en acide sulfurique.

L'arabinose et les hexoses sont dosés après 1, 3, 6, 12 et 24 heures d'hydrolyse ; pour l'arabinose il se produit une perte sensible après 6 heures ; pour les hexoses, les valeurs restent constantes entre 3 et 6 heures ; on choisit donc une durée d'hydrolyse de 4 heures, à 100 °C, en ampoule fermée.

Au cours d'essais sur des solutions pures, on constate que dans ces condition le taux de récupération de l'acide galacturonique est de 62,8 p. 100 tandis que celui de l'acide glucuronique est de 77,8 p. 100 ; on tient compte de ces valeurs dans l'évaluation relative de ces deux acides.

Après hydrolyse, on fait passer la solution sur une petite colonne de résine Dowex 1 (AG 1X 8 100-200 mesh) mise sous forme acétate ; l'acide sulfurique et les acides uroniques sont ainsi fixés par la résine tandis que les sucres sont recueillis dans le percolat, évaporé ensuite à sec dans un évaporateur rotatif. Le résidu, repris par l'eau dans une capsule de verre, est évaporé jusqu'à siccité à l'étuve à 50 °C ; repris à nouveau dans un peu d'eau, il est analysé par chromatographie sur papier, par chromatographie sur couche mince de cellulose et par électrophorèse sur papier.

A partir de la colonne de résine, les acides uroniques sont alors élués par l'acide acétique 2 N ; l'éluat est concentré à sec, sous vide, comme les sucres ; on analyse enfin les acides uroniques par chromatogrgaphie sur couche mince de silice.

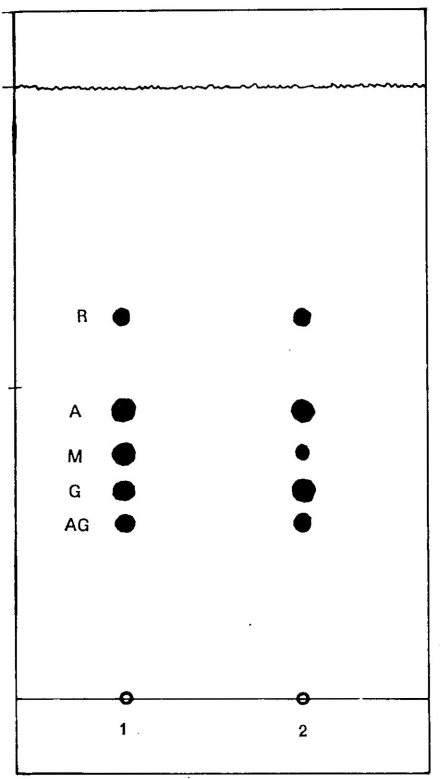


Fig. 3. — Chromatographie sur couche mince de cellulose de l'hydrolysat des colloïdes d'un vin de Muscat 1971.
Solvant : chlorure de méthylène, méthanol, acide acétique, eau, 50, 15. 25. 10.
Révélation : p-anisidine + acide phtalique 0,1 M

1 — Mélange témoin
2 — Hydrolysat de colloïdes
AG = acide galacturonique témoin (3 µg)
G = galactose témoin (3 µg)
M = mannose témoin (3 µg)
A = arabinose témoin (3 µg)
R = rhamnose témoin (3 µg)

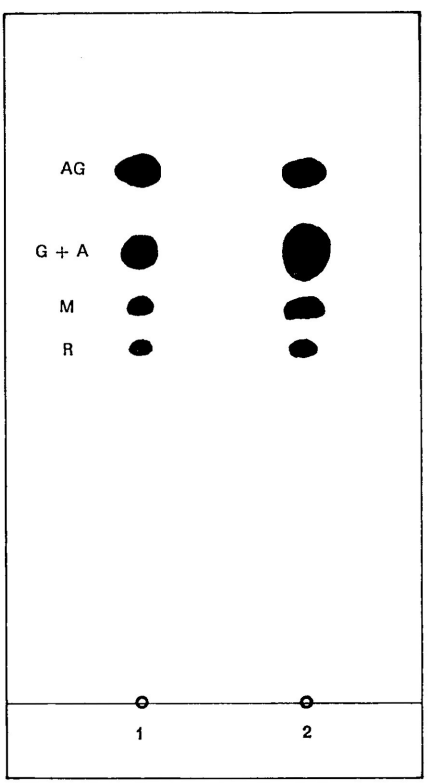


Fig. 4. — Electrophorèse sur papier de l'hydrolysat des colloïdes d'un vin de Muscat 1971.
Solution-tampon : tétraborate de sodium 0,05 M
Gradient de potentiel : 50 A
Durée de l'électrophorèse : 4 heures
Révélation : diphénylamine-aniline

1 — Mélange témoin
2 — Hydrolysat de colloïdes
R = rhamnose témoin
M = mannose témoin
G + A = galactose + arabinose témoins
AG = acide galacturonique témoin

Les figures 3 et 4 montrent respectivement un chromatogramme sur couche mince de cellulose et un électrophorégramme sur papier ; on peut ainsi identifier les substances suivantes : galactose, mannose, arabinose, rhamnose, acide galacturonique. La présence de ces monomères est rigoureusement confirmée, même pour ceux qui comme le rhamnose sont

présents à de faibles concentrations ; à ce propos, il est intéressant de comparer le chromatogramme de la figure 3 — sur lequel le rhamnose possède le Rf le plus élevé — et l'électrophorégramme de la figure 4 sur lequel le rhamnose possède la plus faible mobilité.

La chromatographie des sucres sur couche mince est suivie d'une densitométrie (on éclaire les taches du chromatogramme en lumière monochromatique, à 450 nm de longueur d'onde, et on enregistre la lumière réfléchie) ; on procède de même pour les chromatogrammes des acides uroniques sur couche mince de silice, en éclairant les taches en lumière monochromatique de 400 nm de longueur d'onde.

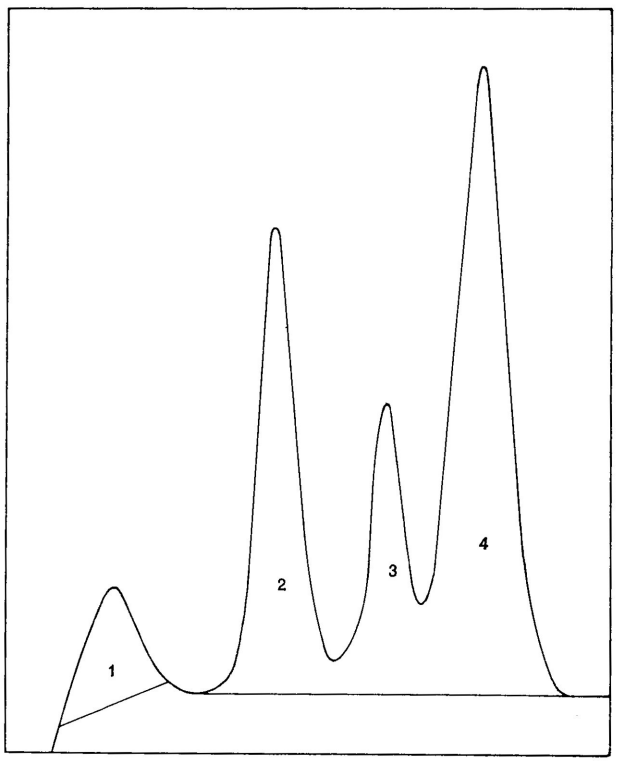


Fig. 5. — Spectres densitométriques des substances neutres présentes dans l'hydrolysat des colloïdes d'un vin de Muscat 1971.

1 — Rhamnose 2 — Arabinose 3 — Mannose — 4 — Galactose

Les figures 5 et 6 montrent les spectres densitométriques obtenus ; on peut, à partir de ceux-ci, calculer les proportions relatives des divers constituants. Sur la figure 6 on peut voir, à côté de l'acide galacturonique,

une faible quantité d'acide glucuronique (environ 6 p. 100 des acides uroniques totaux) que l'on n'avait pas pu identifier, jusqu'à présent, par suite du manque de sensibilité des techniques utilisées.

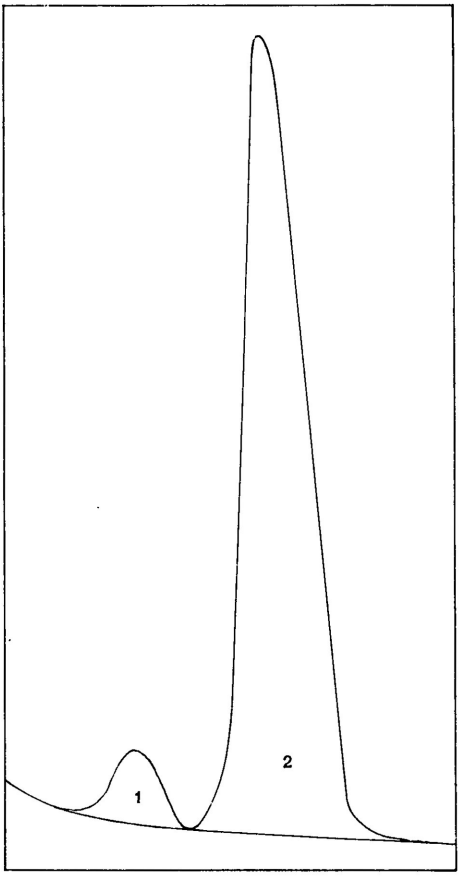


Fig. 6. — Spectres densitométriques des substances acides présentes dans l'hydrolysat des colloïdes d'un vin de Muscat 1971.

1 — Acide glucuronique
2 — Acide galacturonique

Nous avons également utilisé l'électrophorèse des colloïdes sur papier de fibre de verre, avec une solution tampon phosphatée M/15 à pH 7,5 (selon SORENSEN), suivie d'une révélation à chaud avec l'α-naphtol en milieu sulfurique. Cette technique permet de séparer les colloïdes en deux fractions qu'on analyse ensuite séparément après une élution par l'eau.

Cette analyse approfondie des colloïdes du moût n'a pas permis d'identifier de monomères du glucose ; malgré la synthèse importante de

ce sucre au cours de la maturation du raisin, il n'entre pas dans la constitution des colloïdes solubles ; on rencontre, certes, dans les vins, de faibles quantités de polymères du glucose mais elles proviennent uniquement du métabolisme levurien.

En conclusion, les monomères présents dans les colloïdes précipitables des moûts sont les suivants : galactose, mannose, arabinose, rhamnose, acide glucuronique et acide galacturonique.

Après avoir identifié les monomères constitutifs des colloïdes des moûts et des vins, nous avons cherché à mettre au point une méthode permettant le dosage spécifique de chaque composant ; ce but a été atteint en couplant la spectrophotométrie dans le visible et l'ultra-violet avec la chromatographie sur couche mince suivie d'une densitométrie. Les caractéristiques de cette méthode sont les suivantes :

1 — Comme on l'a déjà vu, le galactose, le mannose, arabinose, le rhamnose et les acides uroniques chauffés en présence d'acide sulfurique convenablement concentré donnent des spectres caractéristiques dans l'ultraviolet ; une mesure à 325 nm, réalisée directement sur les colloïdes, permet d'obtenir la valeur de la somme des contributions de chaque composant.

2 — L'arabinose est dosé spécifiquement, directement sur les colloïdes selon la méthode de BOLOGNANI et **al.** (1961), par réaction avec la phloroglucine en milieu acétique-chlorhydrique et après double lecture à 552 et 510 nm.

3 — Les acides uroniques sont dosés spécifiquement, également directement sur les colloïdes, par réaction avec le carbazol en solution sulfurique (GREGORY, 1960) ; le fait que la réaction soit faite directement sur les colloïdes est très important ; ceci permet un dosage exact des acides uroniques sans hydrolyse préalable susceptible de provoquer des pertes importantes d'acide galacturonique.

4 — La chromatographie sur couche mince, suivie d'une densitométrie, de l'hydrolysat des colloïdes privé des acides uroniques après percolation sur résine, permet de connaître les pourcentages relatifs des sucres, en particulier du galactose, du mannose et du rhamnose.

5 — Si, de la concentration totale des colloïdes, exprimée en galactose après mesure à 325 nm, on retranche les concentrations en arabinose et en

acides uroniques dosés directement (exprimées également, toutes deux, en galactose) on obtient la somme des concentrations relatives à l'ensemble galactose + mannose + rhamnose ; à partir de ce résultat et des pourcentages des trois composants obtenus par densitométrie on obtient la concentration en chaque composé.

Cette méthode nécesairement un peu sophistiquée, permet donc le dosage de chaque monomère entrant dans la composition des colloïdes étudiées.

Pour obtenir des informations sur les dimensions moléculaires et sur la structure des particules colloïdales, nous avons à nouveau employé la technique de filtration sur gel.

On utilise une colonne de 2,6 x 87 cm (dimensions internes) correspondant à un volume total V_t = 461,7 ml. La couche filtrante est constituée de Sepharose 6 B (Pharmacia) qui permet le fractionnement des substances ayant un poids moléculaire compris entre quelques milliers et un million ; le gel obtenu montre une remarquable compacité ainsi qu'une bonne perméabilité, sans compression, aux solutions aqueuses, malgré la grandeur des mailles du réseau à trois dimensions.

Le mécanisme de fonctionnement de ce gel est le suivant : les substances d'un poids moléculaire élevé percolent tout d'abord ; celles-ci, ayant des dimensions supérieures à celles des mailles du réseau, ne peuvent en effet pénétrer dans les granules gonflés qu'elles contournent et sont éluées immédiatement : au fur-et-à-mesure que diminue le poids moléculaire, le parcours des molécules à travers la couche filtrante s'allonge en même temps que l'élution est progressivement retardée ; il existe une corrélation sensiblement linéaire entre le logarithme du poids moléculaire et le volume d'élution.

Si l'on désire utiliser la colonne pour la détermination des poids moléculaires, il faut d'abord déterminer quelques paramètres ; en premier lieu, on doit connaître le volume V_o ou volume d'exclusion, c'est-à-dire le volume d'élution d'une substance d'un poids moléculaire si élevé qu'elle ne pénètre pas dans les granules gonflés et est immédiatement éluée. L'évaluation de V_o est obtenue en employant un dextrane témoin de poids moléculaire très élevé et coloré en bleu (dextrane bleu), mis en vente dans ce but par la firme Pharmacia : 2 ml de solution à 0.2 p. 100 sont élués à travers la colonne, de bas en haut, par une solution 0,05 M de Na_2SO_4 alimentée par une pompe péristaltique d'un débit de 12,5 ml par h. ;

au moyen d'un collecteur de fractions, on recueille des fractions de 5 ml dont on mesure la densité optique à 250 nm ; on détermine le volume V_o correspondant au maximum de densité optique (fig. 7).

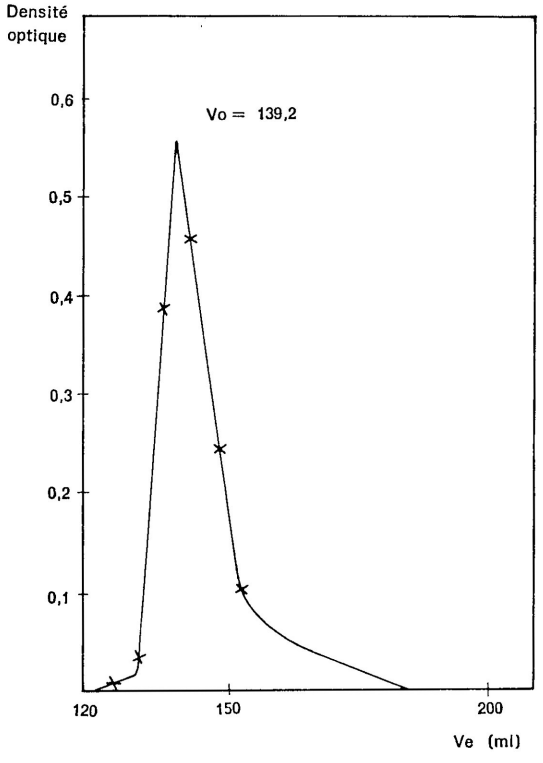


Fig. 7. — Détermination du volume d'exclusion Vo du gel utilisé (Dextrane Bleu, longueur d'onde 250 nm)

Pour établir une relation entre les poids moléculaires et les volumes d'élution, il faut étalonner la colonne, c'est-à-dire relier les valeurs des volumes d'élution aux poids moléculaires des molécules-témoins. Ce sont des mélanges de polymères de glucose du commerce dont le poids moléculaire moyen varie en fonction de la référence du fabricant. Dans chaque cas, pour une substance témoin, il existe un certain pourcentage de particules dont le poids moléculaire est supérieur à une certaine valeur ; le pourcentage complémentaire est inférieur à cette même valeur (tableau II).

La valeur de référence pour le poids moléculaire de chaque dextrane est la valeur moyenne (ex. : Dextran T 10 de poids moléculaire moyen 9300).

TABLEAU II

Composition de 100 mg de différents dextranes du commerce

(Pharmacia)

Dextran T 10	46,7 mg	de P.M.	<	9300	et	53,3 mg	de P.M.	>	9300
Dextran T 20	69,7 mg	—	<	22300	et	30,3 mg	—	>	22300
Dextran T 40	72,6 mg	—	<	44400	et	28,4 mg	—	>	44400
Dextran T 70	62,5 mg	—	<	69500	et	37,5 mg	—	>	69500
Dextran T 110	67,8 mg	—	<	100500	et	32,2 mg	—	>	100500
Dextran T 150	54,5 mg	—	<	167000	et	45,5 mg	—	>	167000

Pour chaque catégorie de substance-témoin il faudra définir le volume d'élution Ve caractéristique en passant une solution de cette substance sur la colonne. Les éluats sont récupérés par un collecteur de fractions et pour chaque tube la concentration en dextrane est déterminée par la mesure de la densité optique à 325 nm après chauffage en présence d'H_2SO_4 ; la concentration est exprimée en µg par ml.

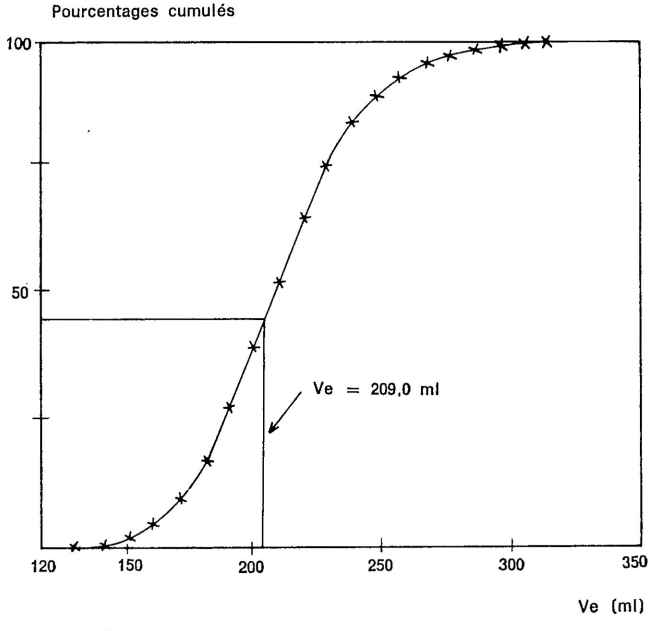


Fig. 8. — Détermination du volume d'élution (Ve) pour un type de dextrane donné (ici dextrane T 150).

On exprime chaque concentration en pour cent de la concentration totale et l'on porte sur un graphique des pourcentages cumulés en fonction des volumes d'élution (fig. 8). Le volume d'élution de la substance de

référence est donné par la courbe en prenant comme pourcentage cumulé le pourcentage moyen correspondant à la substance ; ex. le dextrane T 150 a un pourcentage de 45,5, un volume d'élution de 209 ml).

Les volumes d'élution des différents dextranes ont été déterminés suivant le même processus.

Pour l'étalonnage de la colonne et par la suite pour la détermination des poids moléculaires des dextranes isolés, on utilise à la place du volume d'élution la valeur Kav définie par la relation :

$$Kav = \frac{Ve - Vo}{Vt - Vo}$$

où Ve volume d'élution de la substance
Vo volume d'exclusion du gel
Vt volume total du gel

Il est évident que Kav varie entre 0 et 1 ; il prend la valeur 0 quand Ve = Vo (volume d'élution minimum) et la valeur 1 quand Ve = Vt (volume d'élution maximum).

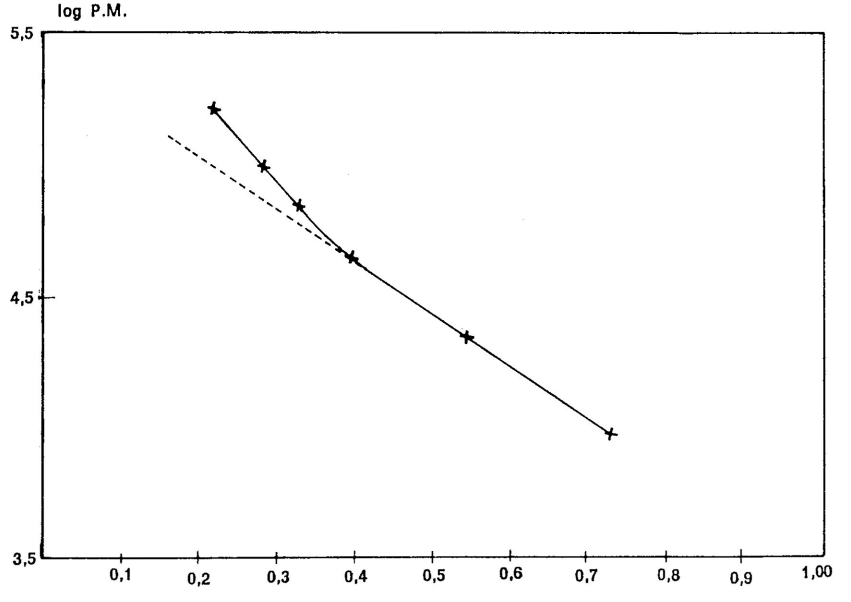


Fig. 9. — Détermination de la relation entre le logarithme des poids moléculaires (log P.M.) et KaV

Si, sur un graphique, on porte les valeurs de Kav en fonction des logarithmes des poids moléculaires, on remarque que, pour les poids

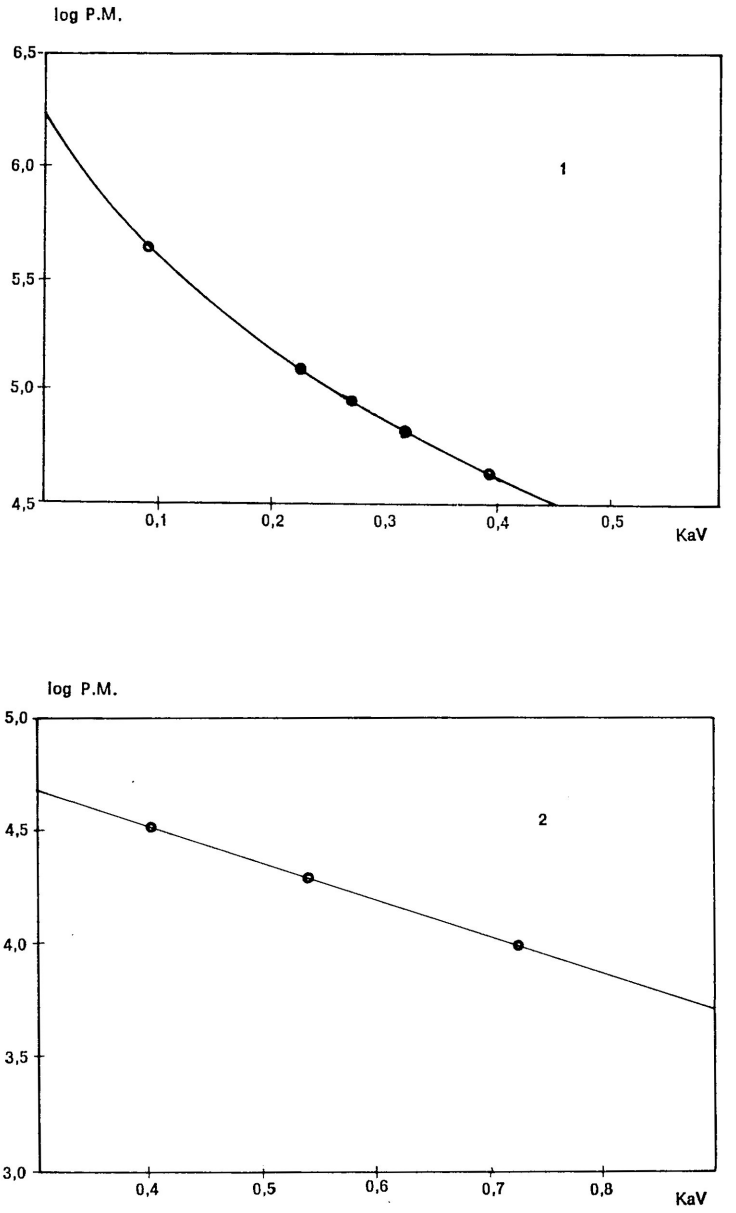


Fig. 10. — Détermination de la relation entre les logarithmes des poids moléculaires (log P.M.) et KaV

1 — Courbe établie par calcul statistique (méthode de régression multiple) avec 4 couples de valeurs ; son équation est :

log P.M. = 6,1792314 — 5,0797292 KaV + (KaV)2

2 — Droite établie par calcul en employant la méthode des moindres carrés avec 3 couples de valeurs ; son équation est :

log P.M. = — 2,0048661 KaV + 5,4372751

moléculaires les plus élevés, la corrélation tend à devenir curviligne (fig. 9) ; il est cependant possible, à partir des données expérimentales, soit de calculer l'équation de la ligne droite utilisable jusqu'à un poids moléculaire de 44.000, soit d'établir l'équation de la courbe du second degré utilisable d'un poids moléculaire de 44.000 jusqu'à 1.500.000 ; le calcul de cette équation du second degré revient à résoudre le problème d'une régression multiple dans laquelle la valeur $(Kav)^2$ est utilisée

TABLEAU III

Composition des colloïdes totaux
(pourcentages de monomères exprimés en poids secs)

	Galactose	Mannose	Arabinose	Rhamnose	Acides uroniques
Moût de Nebbiolo 1973	37,68	3,82	15,68	3,87	38,95
Moût de Nebbiolo 1973 après élimination des pectines	51,34	9,36	25,38	2,73	11,13
Vin de Nebbiolo 1973 au décuvage	38,42	25,50	17,04	5,28	13,76
Moût de Muscat 1972 après élimination des pectines	51,30	10,10	18,00	4,33	16,27
Vin de Muscat 1972 entièrement fermenté	45,00	34,40	11,79	2,05	6,76
Moût d Barbera 1972 après élimination des pectines	45,68	7,30	21,99	6,24	18,79
Vin de Barbera 1972 au décuvage	34,92	18,30	20,20	8,96	17,62
Vin de Barbera 1972 après 29 mois de vieillissement	31,64	39,85	12,30	5,39	10,82

comme une deuxième variable. La figure 10 montre la parfaite correspondance entre les courbes calculées et les données expérimentales, avec la possibilité d'une extrapolation correcte pour les poids moléculaires plus élevés.

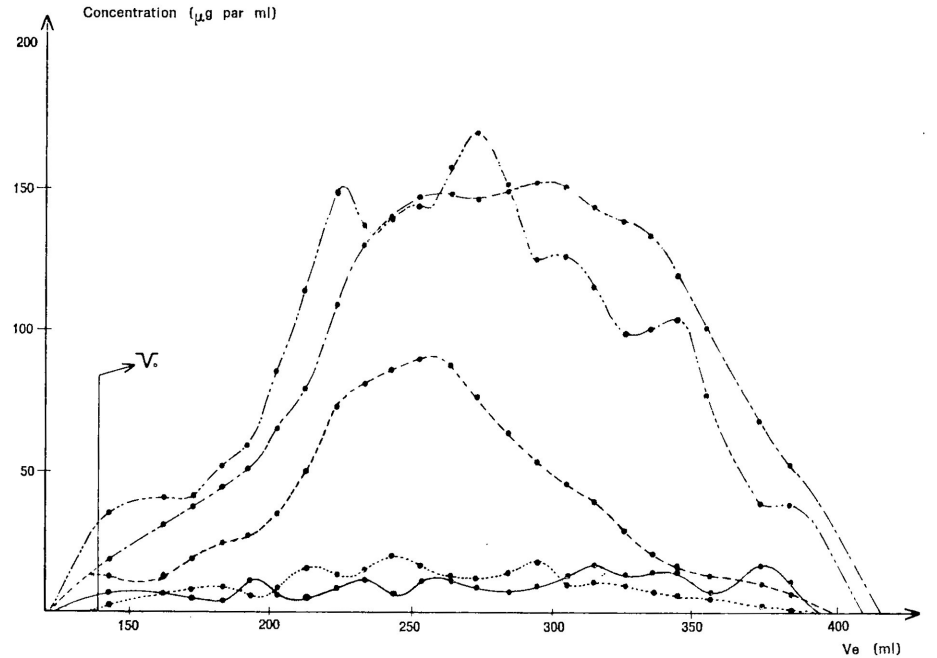


Fig. 11. — Fractionnement sur gel de Sepharose 6B de 100 mg de colloïdes d'un moût de Nebbiolo 1973 avant élimination des pectines, en solution dans 2 ml de Na_2 SO_4 0,05 M

——.——.—— Galactose ———— Mannose — — — — Arabinose ..... Rhamnose
——.——.——.—— Acides uroniques

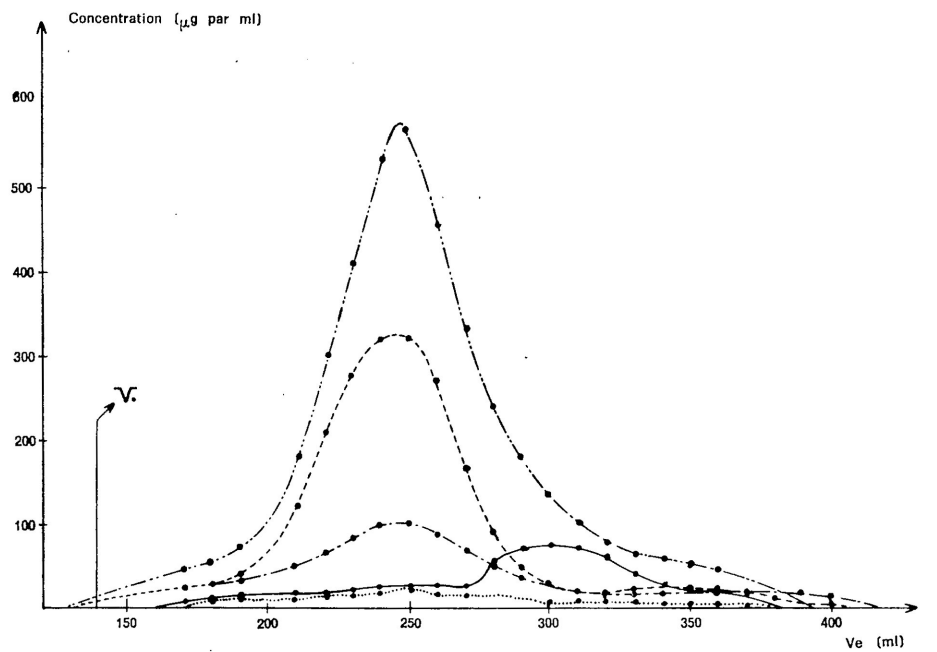


Fig. 12. — Fractionnement sur gel de Sepharose 6B de 100 mg de colloïdes d'un moût de Nebbiolo 1973 après élimination des pectines en solution dans 2 ml de Na_2 SO_4 0,05 M

——.——.—— Galactose ———— Mannose — — — — Arabinose ..... Rhamnose
——.——.——.—— Acides uroniques

Grâce à cette méthode il est possible de déterminer les valeurs des poids moléculaires des colloïdes en fonction du volume d'élution sur la colonne de gel.

Tous les colloïdes présents dans le tableau III (dans lequel on précise, pour chacun, la composition en divers monomères) sont analysés, sur colonne de Sepharose 6 B, de la façon suivante :

On fait passer à travers le gel 100 mg de colloïdes dissous dans 2,0 ml de Na_2SO_4 0,05 M en éluant avec Na_2SO_4 0,05 M. On recueille 60 fractions de 5 ml chacune ; on détermine le volume exact de chaque fraction par pesée de chaque tube avant et après collection et en divisant le poids par 1,00472, densité du Na_2SO_4 0,05 M.

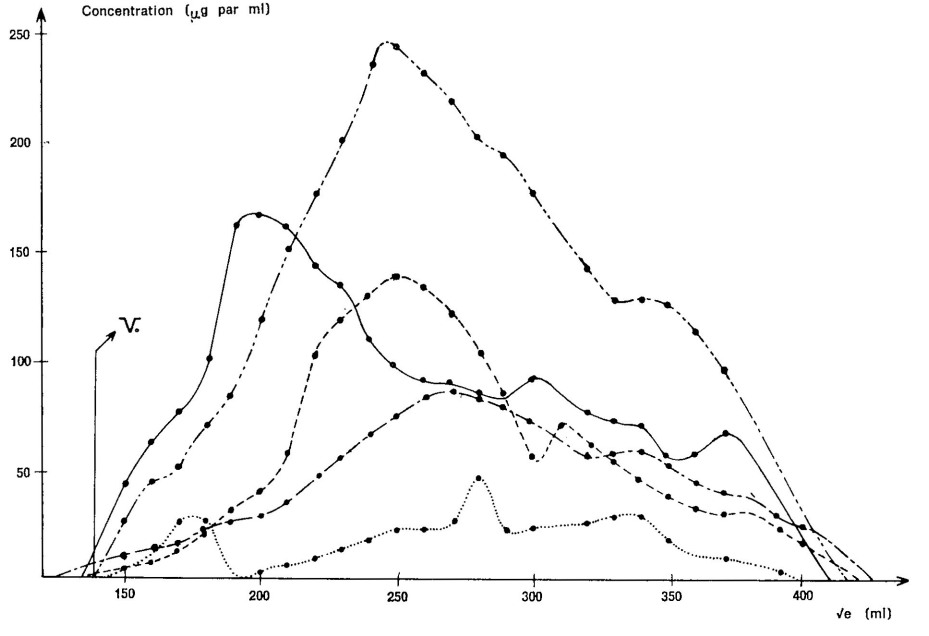


Fig. 13. — Fractionnement sur gel de Sepharose 6B de 100 mg de colloïdes du vin correspondant de Nebbiolo 1973 en solution dans 2 ml de Na_2 SO_4 0,05 M

—.—.— Galactose — — — Mannose — — — — Arabinose ..... Rhamnose
—.—.— Acides uroniques

Sur les fractions paires, on établit le spectre dans l'ultra-violet, après chauffage en solution sulfurique, en particulier la densité optique à 325 nm ; en outre, on dose l'arabinose et les acides uroniques ; toutes ces déterminations sont réalisées sur les colloïdes non traités. Les fractions impaires sont soumises à l'hydrolyse ; on y dose les monomères

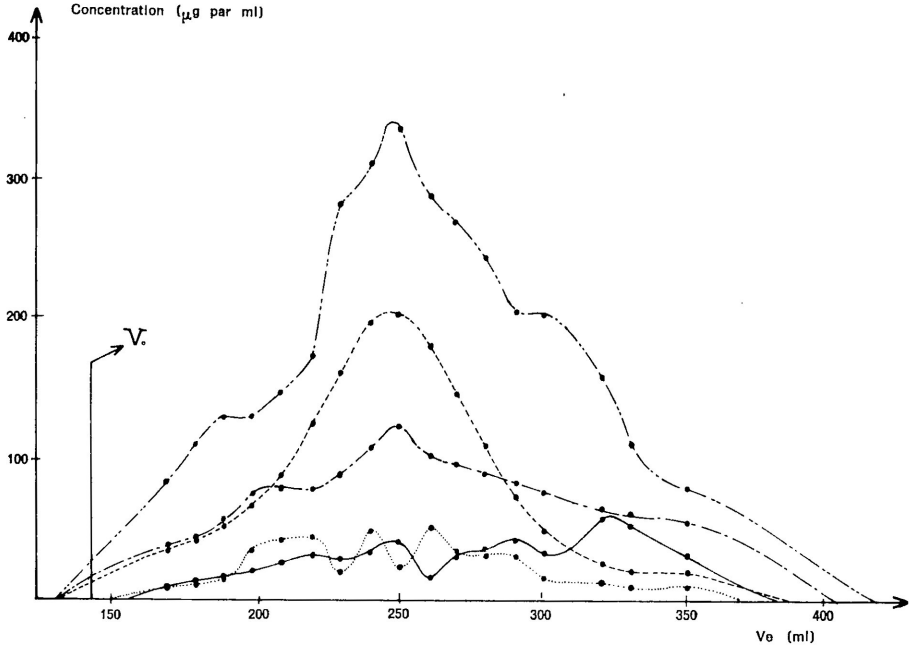


Fig. 14. — Fractionnement sur gel de Sepharose 6B de 100 mg de colloïdes d'un moût de Barbera 1972 après élimination des pectines en solution dans 2 ml de $Na_2 SO_4$ 0,05 M.

——.—— Galactose ———— Mannose — — — — Arabinose ..... Rhamnose
—.—.— Acides uroniques

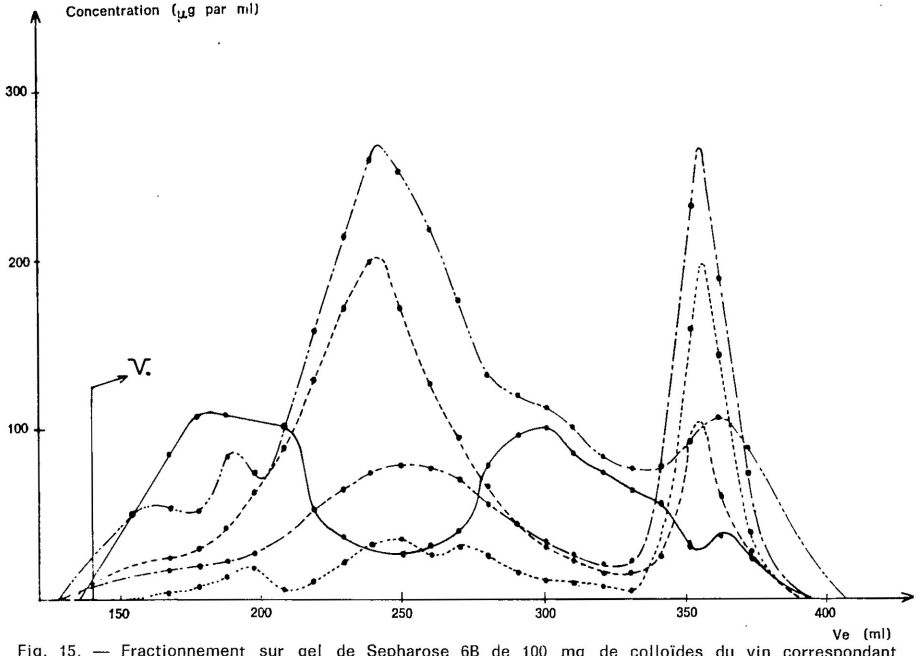


Fig. 15. — Fractionnement sur gel de Sepharose 6B de 100 mg de colloïdes du vin correspondant de Barbera 1972, en solution dans 2 ml de $Na_2 SO_4$ 0,05 M

——.—— Galactose ———— Mannose — — — — Arabinose ..... Rhamnose
—.—.— Acides uroniques

selon les procédés précédemment étudiés. Pour chaque colloïde, on obtient donc la courbe de la concentration de chaque monomère en fonction du volume d'élution.

TABLEAU IV

Composition en monomères et distribution des poids moléculaires des colloïdes d'un moût de Nebbiolo 1973

(les résultats sont exprimés en pour cent des colloïdes totaux)

Poids moléculaire	Galactose	Mannose	Arabinose	Rhamnose	Acides uroniques
1.510.885	1,15	1,40	1,34	0,14	0,55
1.029.247	2,72	3,82	2,60	1,13	1,32
731.511	4,29	6,24	3,62	3,01	2,31
526.929	5,88	8,27	4,91	5,73	3,57
384.693	7,57	9,91	6,85	9,10	5,06
284.646	9,65	11,75	9,23	12,72	6,77
213.466	12,31	15,85	12,10	15,05	8,93
162.248	15,97	18,03	15,89	18,96	11,60
124.987	21,05	20,11	21,23	25,30	15,00
97.584	27,13	23,59	28,72	30,65	19,50
77.218	32,72	27,85	36,69	37,14	24,73
61.929	38,56	30,65	45,24	45,07	30,37
50.338	44,56	35,49	54,08	51,66	36,33
42.086	51,03	40,08	62,44	57,06	42,09
36.443	57,82	43,61	69,63	61,96	47,81
31.609	63,78	46,70	75,75	67,91	53,73
27.393	68,94	50,96	80,90	74,85	59,79
23.740	73,98	56,13	85,37	79,21	65,71
20.573	78,55	62,46	89,12	83,67	71,24
17.830	82,56	67,78	91,93	87,63	76,66
15.542	86,57	73,68	93,93	91,05	81,92
13.391	90,66	79,53	95,50	93,60	86,50
11.605	93,64	82,77	96,88	95,88	90,28
10.057	95,62	87,17	98,10	97,49	93,41
8.716	97,17	93,36	99,16	98,59	95,85
7.553	98,72	97,66	99,85	99,51	97,76
6.546	99,61	99,74	100,00	99,98	99,17
5.673	100,00	99,98		100,00	99,89
4.916					100,00

La comparaison des concentrations des différentes fractions permet d'obtenir des conclusions sur la nature des colloïdes. en particulier de

savoir s'ils possèdent une structure complexe ou proviennent d'un mélange de colloïdes. Il est également possible d'exprimer les pourcentages de chaque monomère en fonction des poids moléculaires, avec des précisions, soit sur la distribution des poids moléculaires, soit sur la structure colloïdale.

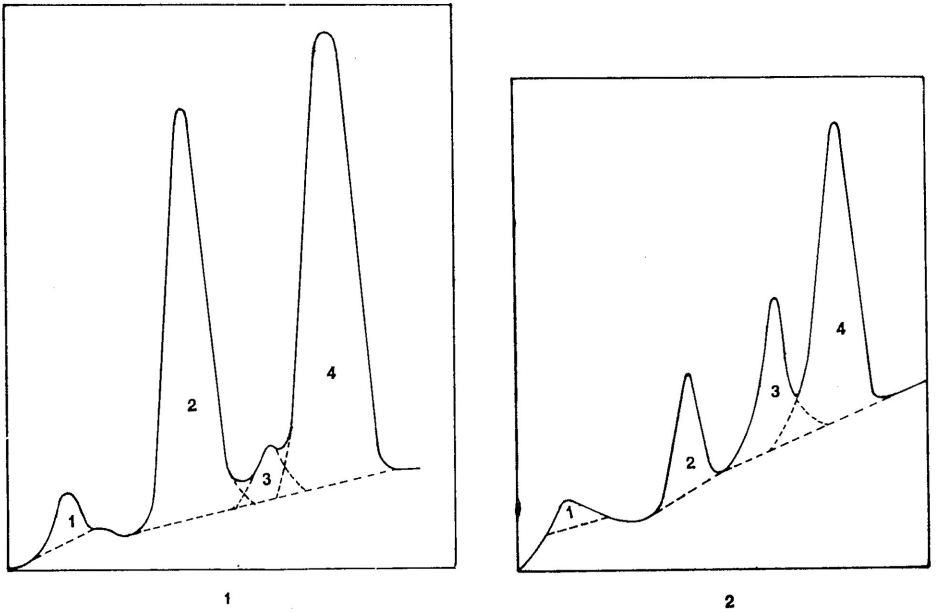


Fig. 16. — Composition d'un moût de Nebbiolo après élimination des pectines.
1 — Pour un poids moléculaire de 62 000
2 — Pour un poids moléculaire de 27 400
1 — Rhamnose 2 — Arabinose 3 — Mannose 4 — Galactose

Les figures 11, 12, 13, 14 et 15 montrent les résultats obtenus dans l'analyse des colloïdes du moût de Nebbiolo avant et après l'élimination des pectines, ceux obtenus sur les colloïdes du vin de Nebbiolo, ceux, enfin, relatifs aux colloïdes du moût et du vin de Barbera.

On remarque, sur les graphiques, que le développement de la concentration des monomères en fonction des volumes d'élution est différent : ce fait montre qu'il n'existe pas une seule substance colloïdale susceptible de présenter une composition constante.

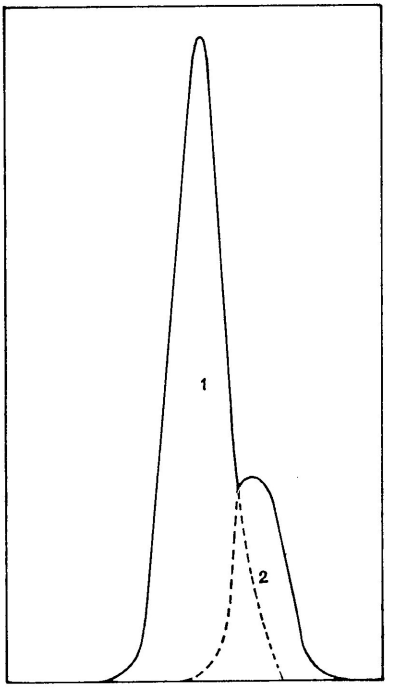
Les colloïdes des moûts

Comme nous l'avons déjà vu, l'analyse des colloïdes précipitables du moût permet de mettre en évidence la présence des monomères

suivants : galactose, mannose, arabinose, rhamnose, acides galacturonique et glucuronique.

Mannose et rhamnose sont peu abondants ; les teneurs en mannose sont inférieures à 10 p. 100, celles en rhamnose à 6 p. 100.

Les pectate de calcium séparé des autres colloïdes est dissous dans une solution d'acide sulfurique largement diluée puis précipité à nouveau après neutralisation du milieu et addition de chlorure de calcium. Le précipité recueilli, séché sous vide, possède une teneur en acide galacturonique de 63,9 p. 100. Une hydrolyse ultérieure permet d'identifier la présence d'arabinose, de rhamnose et de galactose.



1 — Mannose
2 — Glucose

Fig. 17. — Fractionnement sur gel de Sepharose 6B des colloïdes formés par **Saccharomyces cerevisiæ** var. **ellipsoideus** à partir d'un milieu synthétique

Cependant, si l'on soumet à l'électrophorèse sur fibre de verre cette solution de pectate de calcium préalablement agitée en présence de résine cationique sous forme sodique, on obtient un composant mobile constitué d'acide galacturonique pur. On peut donc en conclure que même si les pectines, comme le montrent les phénomènes de coprécipitation, présen-

tent une remarquable tendance à s'associer à d'autres colloïdes, elles ne semblent pas inclure dans leur structure moléculaire de grandes quantités d'autres monomères que l'acide galacturonique.

En ce qui concerne la distribution des poids moléculaires, les résultats du tableau IV donnent la composition en divers monomères des colloïdes d'un moût de Nebbiolo, après élimination des pectines.

On peut affirmer que 60 à 70 p. 100 des colloïdes des moûts, comme ceux des vins, ont un poids moléculaire compris entre 20.000 et 200.000 ; 10 à 15 p. 100 ont un poids moléculaire supérieur à 200.000 ; 5 p. 100, enfin, ont un poids moléculaire inférieur à 10.000.

Comme nous l'avons déjà souligné, la composition des colloïdes varie fortement en fonction des volumes d'élution, c'est-à-dire en fonction des différents poids moléculaires.

Si l'on compare les figures 16/1 et 16/2 on voit très nettement des différences entre les teneurs en mannose, arabinose et galactose ; ces variations importantes ne militent pas en faveur de l'hypothèse d'une seule substance colloïdale.

Les colloïdes provenant de la levure.

On a déjà vu que les levures cèdent au milieu de fermentation des colloïdes de nature glucidique (USSEGLIO-TOMASSET, 1961). Pour identifier la structure et déterminer les poids moléculaires de ceux-ci, on prépare un milieu synthétique (WICKERHAM, 1951) que l'on ensemence par une souche de **Saccharomyces cerevisiae.** Après incubation de 20 jours à 20 °C, on précipite les colloïdes par addition d'alcool. Après hydrolyse, on réalise un chromatogramme sur couche mince dont le spectre densitométrique montre la présence de mannose à côté d'une faible quantité (28 p. 100 environ) de glucose (fig. 17). La figure 18 montre la variation des concentrations, exprimées en mannose, de ces colloïdes cédés au milieu par les levures ; 24 p. 100 de ceux-ci ont un poids moléculaire supérieur à 500.000, 74 p. 100 supérieur à 50.000.

Les colloïdes des vins.

Lorsqu'on passe du moût au vin, deux phénomènes différencient les colloïdes des deux milieux ; d'une part, dans le vin, à la suite de l'action de la polygalacturonase du moût, presque toutes les pectines ont disparu par hydrolyse en acide galacturonique ; d'autre part, il apparaît des poly-

mères du mannose (ainsi que, en plus faible quantité, des polymères du glucose) provenant de l'action des levures au cours de la fermentation alcoolique.

A ce propos, il est intéressant d'examiner les résultats obtenus sur les colloïdes du vin de Barbera (fig. 15). Outre les phénomènes signalés plus haut (en particulier l'augmentation de la concentration en mannose vers les poids moléculaires plus élevés), on note une

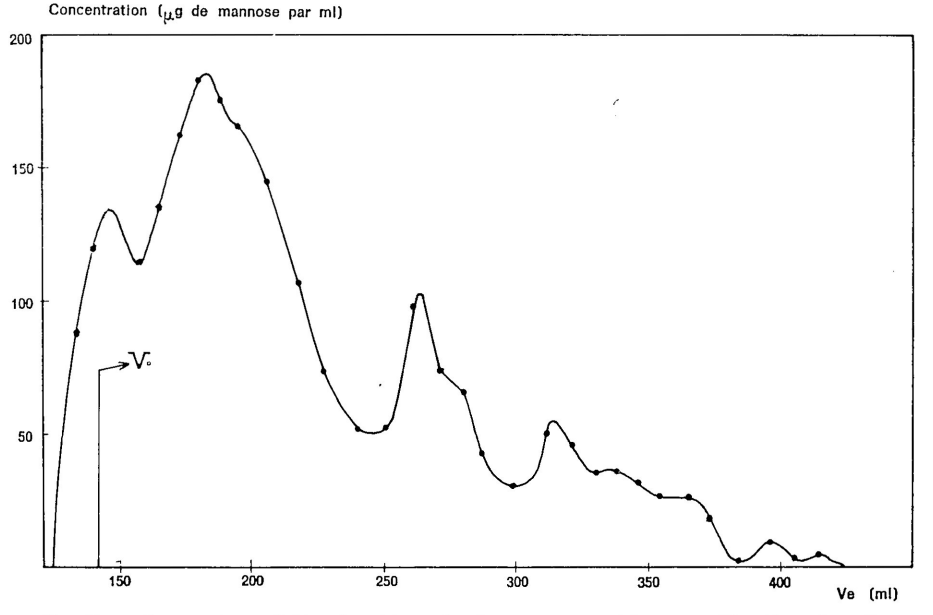


Fig. 18. — Dosage des colloïdes formés par **Saccharomyces cerevisiæ** var. **ellipsoideus** à partir d'un milieu synthétique (les teneurs sont exprimées en microgrammes de mannose par millilitre).

augmentation des teneurs en acide galacturonique, rhamnose et arabinose avec le même maximum pour ces trois substances, correspondant au volume d'élution égal à 355 ml, c'est-à-dire à un poids moléculaire de 12.466. La présence d'un maximum de concentration, correspondant à un poids moléculaire particulier, simultanément pour ces trois monomères et pour eux seuls, prouve l'existence dans le vin d'un complexe colloïdal d'un poids moléculaire d'environ 12.500, constitué dans des proportions bien définies d'acide galacturonique, de rhamnose et d'arabinose.

Si l'on calcule les concentrations des trois monomères entre les volumes d'élution 330 et 380 (c'est-à-dire dans la zone des trois pics superposés, symétriques par rapport au volume d'élution 355) et si l'on exprime les résultats en micromoles, on obtient les valeurs suivantes :

Acide galacturonique ..... 24,93 µmoles
Rhamnose . . .. 20,86 µmoles
Arabinose . . .. 10,12 µmoles

Dans le complexe colloïdal de poids moléculaire défini, les trois monomères sont donc présents dans les proportions suivantes :

Acide galacturonique (parfois remplacé, en faible quantité par 6 à 7 p. 100 d'acide glucuronique) .... 5 molécules
Rhamnose . . .. 4 molécules
Arabinose . ..... 2 molécules.

Cette structure, qui montre un rapport sensiblement équimoléculaire entre l'acide galacturonique et le rhamnose, confirme les résultats de BUCHI et DEUEL qui, par hydrolyse partielle, avaient isolé un acide aldobionique constitué de rhamnose et d'acide galacturonique ; l'arabinose, cependant, entre également dans la composition du polymère tandis que le galactose et le mannose en sont absents.

Il faut en outre souligner que ce complexe colloïdal de poids moléculaire égal à 12.500 reste présent dans les colloïdes précipitables du vin après plus de deux ans et demi de vieillissement.

On peut se demander, cependant, si l'acide galacturonique, le rhamnose et l'arabinose présents dans les colloïdes des moûts et des vins après élimination des pectines doivent être considérés comme formant un seul colloïde ; à ce propos, il faut également remarquer que les faibles quantités de rhamnose trouvées ne permettent d'inclure dans cette structure, que de faibles quantités d'arabinose ; ce sucre, cependant, est, après le galactose, celui qui est le plus fréquent dans les colloïdes des moûts privés de pectines ; il est aussi présent en grande quantité dans les colloïdes des vins. Seule une faible partie de l'arabinose participe donc à la formation du complexe colloïdal, avec le rhamnose et l'acide galacturonique ; le reste entre dans la composition de molécules colloïdales de nature différente.

Conclusions

En conclusion, les colloïdes solubles de nature glucidique susceptibles d'être extraits des moûts et des vins après précipitation par l'alcool

peuvent être divisés en deux groupes : d'une part les pectines, constituées essentiellement d'acide galacturonique (même si elles donnent des phénomènes de coprécipitation avec d'autres colloïdes) ; d'autre part un autre groupe de colloïdes dans lequel l'acide galacturonique reste encore présent et que l'on peut, par électrophorèse, fractionner en deux composants.

Six sont les monomères participant à la structure des colloïdes des moûts : galactose, mannose, arabinose, rhamnose, acide galacturonique et glucuronique. Les proportions des divers monomères sont très variables selon les poids moléculaires ; ceci confirme l'existence d'un mélange d'espèces colloïdales.

Dans les vins, nous avons identifié une structure caractéristique, d'un poids moléculaire défini, stable au cours du vieillissement, constituée par un mélange d'acide galacturonique, de rhamnose et d'arabinose.

Soixante à soixante-dix pour cent des colloïdes des moûts et des vins ont un poids moléculaire compris entre 20.000 et 200.000 ; moins de 5 p. 100 ont un poids moléculaire supérieur à 500.000 ou inférieur à 6.500.

Les levures forment des colloïdes de nature glucidique constitués essentiellement de mannose et de faibles quantités (28 p. 100 environ) de polymères du glucose. Ces colloïdes ont un poids moléculaire plus élevé : pour 74 p. 100 d'entre eux, celui-ci dépasse 50.000 ; pour 24 p. 100 ce poids moléculaire est supérieur à 500.000.

Ces quelques résultats ne concluent pas l'étude des colloïdes des vins ; de nombreux problèmes restent encore non résolus, non seulement en ce qui concerne l'amélioration de la connaissance des structures colloïdales, mais encore l'influence de ces divers colloïdes vis-à-vis de la filtrabilité, de la précipitation de sels peu solubles, en un mot de la stabilisation des vins ; il aurait été particulièrement intéressant, en outre, d'étudier les colloïdes des moûts et des vins provenant de raisins botrytisés. Ce travail doit donc être considéré comme une première contribution, essentiellement analytique, à l'étude d'un sujet de recherche particulièrement complexe et difficile.

RESUMÉ

Les colloïdes des moûts et des vins, obtenus par précipitation par l'alcool, peuvent être divisés en deux groupes : les pectines, d'une part, essentiellement constituées

d'acide galacturonique, un autre groupe de colloïdes, d'autre part, contenant encore de l'acide galacturonique, pouvant être ultérieurement fractionné par électrophorèse.

Six monomères entrent dans la structure des colloïdes : le galactose, le mannose, l'arabinose, le rhamnose, l'acide galacturonique et l'acide glucuronique.

Les taux en divers monomères sont très variables selon les poids moléculaires ; ceci milite en faveur d'un mélange d'espèces colloïdales.

On note, dans les vins, une structure de poids moléculaire defini, constituée d'acide galacturonique, de rhamnose et d'arabinose, stable dans le temps.

Les levures forment des colloïdes de nature glucidique, constitués essentiellement de mannanes et d'une faible quantité de polymères de glucose.

Le poids moléculaire des colloïdes des moûts et des vins est, pour 60 à 70 p. 100, compris entre 20.000 et 200.00 ; moins de 5 p. 100 dépassent la valeur de 500.000 ou sont inférieurs à 6.500.

Les colloïdes produits par les levures ont des poids moléculaires plus élevés : 74 p. 100 dépassent la valeur de 50.000 et 24 p. 100 le poids moléculaire de 500.000.

SUMMARY

Musts and wines colloïds prepared by precipitation with alcohol can be divided between two groups : pectins, mainly including galacturonic acid and an another group containing galacturonic acid which can be fractionnated by electrophoresis.

Colloïds are composed with six monomers : galactose, mannose, arabinose, rhamnose, galacturonic and glucuronic acids.

Ratios of different monomers are very different in connection with molecular weights ; that proves a mixture of colloïds.

In wines a stable, define molecular weighted structure was identified ; it contains galacturonic acid, rhamnose and arabinose.

Yeasts are producing glucidic colloïds mainly constituted by mannanes with small quantities of glucose polymers.

Molecular weight of colloïds extracted from musts and wines is included, for 60 to 70 per cent, between 20 000 and 200 000 ; less than 5 per cent overweigh 500 000 or underweigh 6 500.

Molcular weight of colloïds produced by yeasts is higher : 74 per cent overweigh 50 000 and 24 per cent overweigh 500 000.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Kolloide, die durch Fällung von Mosten und Weinen erhalten werden, teilen sich in zwei Gruppen auf : die Pektine, welche im wesentlichen aus Galakturonsäure bestehen, und eine andere Grouppe von Kolloiden, in denen die Galakturonsäure noch anwesend ist, und die noch eine spätere Fraktionierung durch Elektrophorese erfahren können.

Es handelt sich um die Monomere, die an der Struktor der Kolloide teilnehmen : Galaktose, Mannose, Arabinose, Rhamnose, Glucuronsäure, Galakturonsäure.

Die Anteile der diversen Monomere sind sehr verschieden, entsprchend der Molekulargewichte, und dies spricht zugunsten einer Mischung von Kolloiden.

Man hat in der Weinen eine Struktur mit bestimmtem Molekulargewicht festgestellt, welche aux Galakturonsäure, Ramnose und Arabinose gebildet wird und zeitstabil ist.

Die Hefen produzieren glucose-artige Kolloide, welche im wesentlichen aus Mannanen und in geringerer Menge (ca. 28 %) aus Polymeren der Glucose besteht.

Das Molekulargewicht der Kolloide der Moste und Weine bewegt sich zu 60-70 % zwischen 20.000 und 200.000, und weniger als 5 % übersteigen den Wert von 500.000 oder unterschreiten 6.500 .

Die von der Hafe produzierten Kolloide haben höhere Molekulargewichte : 74 % über 50.000 und 24 % über 500.000.

RESUMEN

Los colloides obtenidos por precipitacion con el alcohol de mostos y de vinos, pueden ser divididos en dos grupos : las pectinas que estan esencialmente constituidas poer al âcido galacturonico y otro grupo de colloides, en el que el âcido galacturonico esta todavia presente y que pueden ser ulteriormente fraccionados par electroforesis.

Hay seis monomadres que participan en la estructura de los colloides : galactosa, manosia, arabinosa, ramnosia, el âcido galacturonico el âcido glucoronico.

Las proporciones de las diferentes monomadres son muy diversas, en funcion de los pesos moleculares y esto habla en favor de una mezcia de especies colloidales.

Se ha notado en los vinos una estructura de un peso molecular definido, constituido por el âcido galacturonico, ramnosia y arabinosa, estable con el tiempo/

Las levaduras producen coloides de naturaleza glucidica, constituidos esencialmente por mannanes y en mas pequena cantidad (aproximadamente 28 %) por polimadres de glucosa.

El peso molecular de las coloides de mostos y de vinos estâ, para el 60-70 %, comprendido entre 20.000 y 200.000 ; menos del 5 % superan el valor de 500.000 o son inferiores a 6.500.

Los coloides producidos por la levadura, tienen pesos moleculares mas elevados : el 74 % superan el valor de 50.000 y el 24 % sobrepasan el P.M. 500.000.

RIASSUNTO

I colloidi ottenibili per precipitazione con alcol dai mosti e daie vini possono separarsi in due gruppi: le pectine, che risultano costituite essenzialmente da acido galatturonico, e un altro gruppo di colloidi nei quali l'acido galatturonico è ancora presente e che risulta suscettibile di ulteriore frazionamento per elettroforesi.

Sei sono i monomeri che partecipano alla struttura dei colloidi: galattosio, mannosio, arabinosio, ramnosio, acido galatturonico, acido glucuronico.

Le proporzioni deil vari monomeri risultano moito diverse in funzione dei pesi molecolari e ciô parla in favore di una miscela di specie colloidali.

E' stata rilevata nei vini struttura a peso molecolare definito, costituita da acido galatturonico, ramnosio e arabinose, stabile nel tempo.

I lieviti producono colloidi a natura glucidica costituiti essenzialmente da mannani e da monori quantità (28 % circa) di polimeri del glucosio.

Il peso molecolare dei colloidi dei mosti e dei vini è per il 60-70 % compreso tra 20.000 e 200.000; meno del 5 % supera il valore 500.000 o è inferiore a 6.500.

Il colloidi prodotti dal lievito hanno pesi molecolari più elevation : il 74 % supera il valore 50.000 e il 24 % supera il P.M. 500.000.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BOLOGNANI L., COPPI G. et ZAMBOTTI V., 1961. Experientia **17,** 67.

BÜCHI W., 1954. Über ein Polysaccharid im Beerensaft von **Vitis vinifera** L. **Promotionarbeit,** Juris-Verlag, Zürich.

BÜCHI W. et DEUEL H., 1954. Über ein Polysaccharide im Beerensaft von **Vitis vinifera** L. **Helvetica Chimica Acta, 37,** 1392.

GIBBONS M. 1955. **Analyst,** 80, 268.

GREGORY J.D., 1960. **Arch. Biochem. Biophysics, 89,** 157.

KIRSTI A. GRANATH et BERIT E. KVIST, 1967. Molecular weight distribution analysis by gel chromatography on sephadex. **J. Chromatog., 28,** 69-81.

MUNTZ A., 1905. Le moelleux des vins, **Rev. Vitic., 22,** 187.

MUNTZ A. et LAINE E., 1906. Les matières pectiques dans le raisin et leur rôle dans la qualité des vins. **Ann. Brass. Dist., 9,** 157 et 173.

PEYNAUD E., 1951. Sur les matières pectiques des fruits. **Ind. Agric. Alim.,** n. 11-12.

PEYNAUD E., 1952. Sur les matières pectiques des moûts de raisin et des vins. **Ann. Falsif. Fraudes, 45,** 11.

SEMICHON L., 1927. Les pectines des raisins et le moelleux des vins. **Chim. Industr., 17,** 25.

SEMICHON L. et FLANZY M., 1926. Sur les pectines des raisins et le moelleux des vins. **C.R. Acad. Sci., 183,** 394.

SEMICHON L. et FLANZY M., 1927. Sur la constitution et le dosage des pectines et des gommes dans le vin et le moût de raisin. **Ann. Falsif. Fraudes, 20,** 395.

TARANTOLA C. et USSEGLIO-TOMASSET L., 1963 a. La pectinmetilesterasi nelle uve : sua ripartizione nell'acino ed evoluzione nella vinificazione. **Atti Acc. It. Vite Vino, 15,** 209.

TARANTOLA C. et USSEGLIO-TOMASSET L., 1963 b. I colloidi delle uve e dei vini. **Riv. Vitic. Enol., 16,** 449.

USSEGLIO-TOMASSET L., 1958 a. Determinazioni elettroforetiche su mosti e su vini. **Ann. Sper. Agr.,** n.s. **12,** 3.

USSEGLIO-TOMASSET L., 1958 b. Alcuni aspetti del metabolismo della **Botrytis cinerea** e del **Penicillium expansum** vegentanti su mosto d'uva. **Ann. Sper. Agr.,** n.s., **12,** 1689.

USSEGLIO-TOMASSET L., 1959 a. L'evoluzione delle sostanze colloïdali dal mosto al vino. **Ann. Sper. Agr.,** n.s., **13,** 385.

USSEGLIO-TOMASSET L., 1959 b. La carica, la mobilità elettroforetica e la natura delle pectine dei mosti e dei vini. **Riv. Vitic. Enol., 12,** 316, 349.

USSEGLIO-TOMASSET L., 1961 a. Il colloidi ceduti al substrato fermentativo dal **Saccharomyces cerevisiae** var. **ellipsoideus. Riv. Vitic. Enol., 14,** 63.

USSEGLIO-TOMASSET L., 1961 b. L'attivitâ pectolitica del mosto d'uva. **Ann. Sper. Agr.,** n.s., **15,** 423.

USSEGLIO-TOMASSET L. et TARANTOLA C., 1963. Gli enzimi pectolitici del mosto. **Vitis, 3,** 190.

USSEGLIO-TOMASSET L., 1974. I colloidi dell'uva e del vino. **Vignevini, 1,** 33-43.

USSEGLIO-TOMASSET L. et CASTINO M., I colloidi solubili di natura glucidica dei mosti e dei vini. **Riv. Vitic. Enol.** (sous presse).

WICKERHAM L.J., 1951. Taxonomy of yeasts. **Tech. Bull.** Nr. 1029, Dept. Agr. Washington, D.C.

ZITKO V. et ROSIK J., 1961. Spektrophotometrische Bestimmung des Pektins und begleitender Polysaccharide, **Nahrung, 5,** 491.