

Influence de l'éthylène sur les maturités phénolique et cellulaire des raisins au cours de la vinification

Khalid Amrani Joutei¹
Driss Bouya²
Cédric Saucier³
Yves Glories³

¹ Laboratoire de biotechnologie végétale,
Faculté des sciences et techniques Fès
BP 2202,
Route d'Imouzzar,
30000 Fès
Maroc
<khalidamrani@yahoo.fr>

² Faculté des sciences Dhar El Mehraz,
Fès,
Maroc

³ Faculté d'œnologie,
351, cours de la libération,
33405 Talence
France

Résumé

L'utilisation exogène de l'éthylène appliqué sur le raisin à la véraison entraîne l'accumulation des sucres et la diminution de la teneur en acides, ce qui a pour conséquence d'augmenter l'indice technologique S/AT. Par ailleurs, l'éthylène conduit à une accumulation très importante des anthocyanes et en même temps à une fragilisation des parois cellulaires estimée par l'indice de maturité cellulaire EA. Cette fragilisation est confirmée par la baisse des teneurs en pectines dès l'application du traitement et par l'augmentation des teneurs en activités enzymatiques polygalacturonase et pectinestérase. Tout cela est en faveur d'une extraction importante des anthocyanes au cours de la vinification.

Mots clés : éthylène ; maturation ; composé phénolique ; vinification.

Thèmes : productions végétales ; technologies agroalimentaires ; méthodes et outils.

Abstract

Influence of ethylene on the phenolic and cell ripeness of grape berries during wine-making

The exogenic use of ethylene applied to ripening grape berries leads to the accumulation of sugars and to the reduction of the acid content, thereby causing the increase of the S/AT technological index. Additionally, it leads to an important accumulation of anthocyanins and to a weakening of the cell walls as shown by the EA cell maturity index. This weakening is confirmed by the fall in the overall pectin content as soon as the treatment is applied and by the increase in the content of polygalacturonase and pectinesterase activities. This is in favour of an important anthocyanin extraction during the wine-making process.

Key words: ethylene; maturation; phenolic compounds; wine-making.

Subjects: vegetal productions; agro-food technologies; tools and methods.

Le raisin étant un fruit non climactérique, l'éthylène ne joue aucun rôle dans sa maturation naturelle (Reid *et al.*, 1985). Néanmoins, cette phytohormone a un rôle non négligeable sur l'apparition des anthocyanes chez le raisin de table variété Don Mariano (Almela *et al.*, 1998). Par ailleurs, l'application exogène de l'éthylène sur des grappes, effectuée pendant la phase de croissance ralentie des baies, accélère la biosynthèse des anthocyanes (Hale *et al.*, 1970). La libération des composés phénoliques au cours de la vinification demeure un grand problème puisque les tanins et les anthocyanes, responsables des caractères organoleptiques du vin, ne sont pas extraits en totalité (Amrani et Glories, 1994).

L'influence de l'éthylène sur la fragilité cellulaire et sur la libération des composés phénoliques au cours de la vinification n'a jusqu'à ce jour pas encore été élucidée. C'est ainsi que l'éthylène réputé actif sur quelques aspects physiologiques de la plante a été testé dans le but de déterminer son rôle dans les maturités technologique, phénolique et cellulaire des raisins.

Matériel et méthode

Les raisins du cépage Cinsault planté dans la région de Fès et du cépage Carignan planté dans la région de Meknès au Maroc ont été traités à la véraison,

Tirés à part : K. Amrani Joutei

en 2003, par aspersion directe sur les grappes (environ 10 mL par grappe) d'une solution aqueuse à 100 mg/L d'éthéphon (Sigma 9323), précurseur exogène de l'éthylène. Une semaine après l'application, trois prélèvements de 400 baies chacun sont réalisés au cours de la maturation – une semaine après le traitement pour le premier prélèvement, 15 jours après pour le deuxième et 30 jours après pour le troisième – (les prélèvements sont effectués en triple pour des raisons de répétabilité) : 100 baies sont utilisées pour déterminer la teneur des pellicules en pectines (Robertson, 1979), 100 baies sont utilisées pour déterminer la teneur des pellicules en activités pectinestérase (PE) et polygalacturonase (PG) (Somogyi-Nelson, 1952), les 200 baies qui restent étant utilisées pour déterminer la maturité phénolique des raisins (Ribereau-Gayon *et al.*, 1998). Les baies sont broyées et deux échantillons de cette mixture sont prélevés par pesée représentant 25 x densité du moût/1 000. Le premier échantillon reçoit 25 mL d'une solution aqueuse à 5 g/L d'acide tartrique et à pH 3,2 ; le second reçoit 25 mL d'HCl 0,1 N. Les deux échantillons sont incubés pendant 4 heures puis filtrés. Pour le premier échantillon, le dosage des anthocyanes (Ribereau-Gayon et Stonstreet, 1965) et la détermination de l'absorbance à 280 nm (les deux valeurs sont multipliées par 2 pour tenir compte de la dilution des 25 mL ajoutés) donneront respectivement le potentiel en anthocyanes extractibles

(ApH3,2) et la richesse phénolique totale du raisin (RPT) ; pour le second échantillon, le dosage des anthocyanes (multiplié par 2 pour tenir compte de la dilution des 25 mL ajoutés) donnera le potentiel total des raisins en anthocyanes (ApH1). L'indice de maturité cellulaire EA est représenté par la formule :

$$EA = (ApH1 - ApH3,2 / ApH1) \times 100$$

Les teneurs en sucres sont déterminées par réfractométrie et l'acidité totale par titration avec la soude 0,1 N (virage au bleu de bromothymole).

Résultats

Les *tableaux 1* et *2* montrent que l'éthéphon appliqué sur les raisins à la véraison, fait augmenter la teneur en sucres tout en faisant baisser simultanément les teneurs en acides, et cela d'une façon très importante. Cette évolution débute à partir du premier prélèvement et se traduit à la maturité par une augmentation significative du rapport S/AT (sucre/acidité totale = maturité technologique). On ne remarque aucun changement significatif quant au poids des baies.

Par ailleurs, le potentiel total des pellicules en anthocyanes (ApH1) subit une augmentation très importante au cours de la maturation. L'écart par rapport au témoin commence à se creuser dès les premiers jours du traitement pour atteindre des valeurs allant jusqu'à 58 %. Le potentiel

extractible (ApH3,2) suit la même évolution, ce qui a pour conséquence d'abaisser considérablement l'indice EA (qui représente l'indice de maturité cellulaire) au cours de la maturation. Cette baisse peut atteindre 20 % par rapport aux baies non traitées. À noter que l'indice RPT (richesse phénolique technologique) du raisin subit également une légère augmentation par rapport au témoin.

L'évolution de la fragilité cellulaire estimée par la teneur en pectines totales et en activités enzymatiques des pellicules de raisin est considérablement modifiée. On constate que la teneur en pectines totales diminue au cours de la maturation et ces teneurs sont très inférieures à celles du témoin. Cette baisse est observable dès la véraison et elle est très importante à la maturité (environ 16 % pour le Cinsault et 19 % pour le Carignan). Cette diminution de la teneur en pectines est accompagnée par une augmentation significative des activités pectine-estérase (PE) et polygalacturonase (PG) qui peuvent atteindre respectivement 43 % et 20 % dans le cas du Cinsault et 20 % et 15 % dans le cas du Carignan.

Discussion

L'estimation de la qualité des raisins est généralement déterminée par la mesure de la maturité technologique S/AT. Or, cet indice ne tient pas compte de la teneur des raisins en composés phénoliques ni

Tableau 1. Influence de l'éthéphon sur les maturités phénolique et technologique des raisins de Cinsault.

Table 1. Influence of ethephon on the phenolic and technologic maturities of Cinsault grape berries.

Prélèvement	Témoin			Ethéphon		
	1	2	3	1	2	3
Poids 100 baies(g)	189 ± 7	215 ± 9	238 ± 11	178 ± 9	211 ± 9	229 ± 11
Suces (g/L)	124	178	235	146	209	256
Acidité totale (g/LH2SO4)	13	8	4,8	13	9	4,5
S/AT	9,5	22	48	12	26	56
Maturité cellulaire						
ApH1 (mg/L)	111 ± 5	275 ± 12	459 ± 21	129 ± 6	386 ± 15	567 ± 21
ApH3,2 (mg/L)	59 ± 3	154 ± 7	275 ± 13	74 ± 3	238 ± 10	362 ± 15
EA %	46	44	40	42	38	36
RPT						
Pectines (µ gal/g de PF)	5743 ± 119		5121 ± 175	5027 ± 99		4154 ± 112
PE(U/mL)	19 ± 0,81		24 ± 0,9	22 ± 1		29 ± 1,2
PG(U/mL)	0,43 ± 0,011		0,46 ± 0,011	0,49 ± 0,010		0,53 ± 0,012

S/AT = sucre/acidité totale = maturité technologique ; RPT = richesse phénolique totale ; ApH1 = potentiel total en anthocyanes ; ApH3,2 = teneur en anthocyanes extractibles ; EA = Indice de maturité cellulaire ; PE = pectine-estérase ; PG = polygalacturonase.

Tableau 2. Influence de l'éthéphon sur les maturités phénolique et technologique des raisins de Carignan.

Table 2. Influence of ethephon on the phenolic and technologic maturities of Carignan grape berries.

Prélèvement	Témoin			Ethéphon		
	1	2	3	1	2	3
Poids 100 baies(g)	189 ± 7	215 ± 9	238 ± 11	178 ± 9	211 ± 9	229 ± 11
Sucres (g/L)	124	178	235	146	209	256
Acidité totale (g/LH2SO4)	13	8	4,8	13	9	4,5
S/AT	9,5	22	48	12	26	56
Maturité cellulaire						
ApH1 (mg/L)	111 ± 5	275 ± 12	459 ± 21	129 ± 6	386 ± 15	567 ± 21
ApH3,2 (mg/L)	59 ± 3	154 ± 7	275 ± 13	74 ± 3	238 ± 10	362 ± 15
EA %	46	44	40	42	38	36
RPT	27	33	36	30	38	42
Pectines (µ gal/g de PF)	5743 ± 119		5121 ± 175	5027 ± 99		4154 ± 112
PE(U/mL)	19 ± 0,81		24 ± 0,9	22 ± 1		29 ± 1,2
PG(UmL)	0,43 ± 0,011		0,46 ± 0,011	0,49 ± 0,010		0,53 ± 0,012

S/AT = sucre/acidité totale = maturité technologique ; RPT = richesse phénolique totale ; ApH1 = potentiel total en anthocyanes ; ApH3,2 = teneur en anthocyanes extractibles ; EA = Indice de maturité cellulaire ; PE = pectine-estérase ; PG = polygalacturonase.

de leur extractibilité. Dans ces conditions, la maturité phénolique (Robertson, 1979), permet une meilleure approche de la teneur en composés phénoliques du raisin et constitue un complément à la maturité technologique. Nous avons montré dans ce travail que lorsqu'il est appliqué à la véraison, l'éthylène entraîne l'augmentation des teneurs en sucres et la diminution de l'acidité totale, permettant l'amélioration de la qualité technologique du raisin suite à l'augmentation du rapport S/AT. Ces résultats sont en accord avec ceux de Agravante *et al.*, (1991) qui ont montré que la teneur en sucres totaux augmente dans les bananes traitées par l'éthylène suite à la dégradation de l'amidon.

Concernant la richesse phénolique technologique, nous avons remarqué que l'éthylène permet une accumulation importante des anthocyanes dans les pellicules de raisins, ce qui est en accord i) avec les résultats de Hale *et al.* (1970) qui ont montré que l'application de l'éthylène sur des grappes pendant la phase de croissance ralentie des baies accélère la biosynthèse des anthocyanes et ii) avec ceux d'Almela *et al.* (1998) qui ont montré que l'éthylène entraîne l'augmentation de la teneur en anthocyanes, principalement la péonidine chez le raisin de table variété Don Mariano. Parallèlement à cette biosynthèse, on constate que l'éthylène entraîne une augmentation de l'indice de maturité cellulaire EA par rapport à celui du témoin. La détermination de la teneur en pectines des parois cellulaires,

principalement les protopectines qui représentent la fraction insoluble des pectines, permet d'expliquer ce phénomène. Nous avons montré précédemment (Amrani et Glories, 1994) que les teneurs en protopectines diminuaient au cours de la maturation grâce à la présence d'enzymes de nature pectolytique qui dégradent ces molécules en molécules solubles et que la teneur de ces enzymes augmente de la véraison à la maturité. Ces changements ont pour but de modifier l'état des cellules puisqu'on observe une fragilisation des parois cellulaires au cours de la maturation entraînant une libération plus importante des constituants du suc vacuolaire. Ces observations sont confirmées par la diminution très importante de la teneur en pectines dès l'application de l'éthylène et par l'augmentation des activités PG et PE qui permettent la dégradation des protopectines (tableaux 1 et 2). Ces résultats confirment non seulement les observations de Lohani *et al.* (2004) qui ont montré que l'éthylène stimule les enzymes hydrolytiques (PME, PG, PL et cellulase) au cours de la maturation des bananes, mais aussi celles de Agravante *et al.* (1991) indiquant que l'exposition des bananes à l'éthylène induit leur maturation, cette dernière s'accompagnant de l'activation de polygalacturonase et de l'augmentation des teneurs en pectine soluble aux dépens des macromolécules de protopectines.

On a montré en effet que l'expression des gènes codants pour les hydrolases pariétales est induite au cours de la maturation et régulée par l'éthylène (Smith *et al.*). Par ailleurs, on a montré chez la tomate que l'augmentation de l'activité PG résulte d'une synthèse *de novo* (Tucker et Grierson, 1982) et que l'ARN qui code pour la PG (Slater *et al.*, 1985) voit sa concentration augmenter plusieurs centaines de fois lorsque l'expression des gènes atteint son maximum au moment du pic d'éthylène. En outre, la synthèse des ARNm de maturation est stimulée par un apport d'éthylène exogène (Maunder *et al.*, 1987).

Conclusion

Tous ces résultats permettent d'affirmer le rôle important de l'éthylène sur la libération des composés phénoliques au cours de la vinification et donc sur les caractères organoleptiques des vins obtenus. On constate que l'éthylène a un double rôle : d'une part, il stimule la synthèse des anthocyanes dans les pellicules, augmentant ainsi le potentiel des raisins en ces pigments ; d'autre part, il permet une synthèse importante des enzymes hydrolytiques, principalement les polygalacturonases et les pectinestérases induisant ainsi une fragilisation de la paroi cellulaire de la pellicule. Cela a pour consé-

quence de favoriser l'extraction, au cours de la vinification, des anthocyanes mais également des tanins, surtout les tanins liés aux parois cellulaires (Amrani Joutei *et al.*, 1994), grâce à la dégradation plus importante des structures pariétales. ■

Références

- Agravante JU, Matsui T, Kitagawa H. Changes in pectinmethylesterase, polygalacturonase and pectic substances of ethanol- and ethylene-treated bananas during ripening. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi (JPN)* 1991 ; 38 : 527-32.
- Almela L, Fernandez-Lopez JA, Carreno J, Martinez A. Influence of ethylene and antigibberellins on the anthocyanin content of the table grape Cv Don Mariano. Second International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry, 1998 September 1-3.
- Amrani Joutei K, Glories Y, Mercier M. Localisation des tanins dans la pellicule de baie de raisin. *Vitis* 1994 ; 33 : 133-8.
- Amrani Joutei K, Glories Y. Étude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. *J Int Sci Vigne vin* 1994 ; 28 : 303-17.
- Hale CR, Coombe BG, Hawker JS. Effects of ethylene and 2-chloroethylphosphonic acid on the ripening of grapes. *Plant Physiol* 1970 ; 45 : 620-3.
- Lohani S, Trivedi PK, Nath P. Changes in activities of cell wall hydrolases during ethylene-induced ripening in banana : effect of 1-MCP, ABA and IAA. *Postharvest Biology and Technology (USA)* 2004 ; 31 : 119-26.
- Maunder MJ, Holdsworth MJ, Slater A. Ethylene stimulates the accumulation of ripening-related mRNA in tomatoes. *Plant Cell Environ* 1987 ; 10 : 177-84.
- Reid MS, Pech JC, Latche A. Non intervention d'éthylène dans la crise respiratoire des cerises. *Fruits* 1985 ; 40 : 197-203.
- Ribereau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. *Traité d'œnologie. Tome II : Chimie du vin, stabilisation et traitements*. Paris : Dunod, 1998.
- Ribereau-Gayon P, Stonstreet E. Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull Soc Chim* 1965 ; 9 : 2649-52.
- Robertson GL. The fractional extraction and quantitative determination of pectic substances in grapes and musts. *Am J Enol Vitic* 1979 ; 30 : 182-6.
- Slater A, Maunder MJ, Edwards K, Schuch W, Grierson D. Isolation and characterisation of cDNA clones for tomato PG and other ripening-related proteins. *Plant Mol Biol* 1985 ; 5 : 137-47.
- Smith DL, Starrett DA, Gross KC. A gene coding for tomato fruit beta-galactosidase II is expressed during fruit ripening. Cloning, characterization, and expression pattern. *Plant Physiol* 1998 ; 117 : 417-23.
- Somogyi-Nelson. Notes on sugar determination. *J Biol Chem* 1952 ; 195 : 19.
- Tucker GA, Grierson D. Synthesis of polygalacturonase during tomato fruit ripening. *Planta* 1982 ; 155 : 64-7.