

Des cidres et des couleurs

Partie 2 : Comment se forme la couleur d'un jus de pomme ou d'un cidre ?

Introduction

La couleur est un critère qui prend de plus en plus d'importance dans ce qui fait la qualité et la diversité des produits cidricoles (Figure 1). Un premier article a permis de mieux cerner cette diversité et de mieux connaître les préférences des consommateurs (revue Pomme à cidre n°44). Mais d'autres questions subsistent : **D'où vient cette couleur, quels sont les paramètres qui l'orientent vers telle ou telle nuance avec plus ou moins d'intensité ? Sur quels leviers peut-on agir pour mieux « choisir » la couleur d'un cidre ?**

Figure 1: Quelques exemples de la diversité de couleur des cidres



Derrière ces questions se cachent des acteurs moléculaires bien particuliers, des mécanismes biochimiques en lien avec des conditions physico-chimiques souvent complexes et des procédés technologiques dont l'exploration s'avère passionnante.

Contrairement aux vins rouges ou rosés, la couleur d'un cidre classique (hors cidre rosé) ne provient pas directement de l'extraction de molécules colorées. La peau de certaines variétés de pommes contient bien des polyphénols colorés, mais ces composés ne sont généralement pas extraits lors du râpage et du

Les trois acteurs principaux du scénario de la couleur

a - Les polyphénols, essentiellement des composés incolores.

Il existe plusieurs sous-catégories de polyphénols qui doivent être distinguées, car elles n'ont pas du tout le même rôle dans la génération de la « couleur » que nous décrivons par la suite. Ainsi, on distingue principalement les acides phénoliques, les catéchines, les dihydrochalcones et les tanins (appelés aussi procyanidines ou tanins condensés). Ces tanins contribuent à l'amertume et à l'astringence caractéristiques des variétés dites « amères » ou



Le cas particulier des cidres rosés issus de pommes à chair rouge

La coloration de ces cidres rosés est due à un polyphénol particulier, l'anthocyane, proche des composés colorés du vin. Dans les pommes classiques, les anthocyanes sont principalement localisées dans la peau et diffusent très peu dans le jus lors de l'extraction. Seules les pommes à chair rouge en contiennent dans la chair et permettent de produire directement un jus coloré sans oxydation. Au contraire l'oxydation a un effet négatif sur la couleur car l'anthocyane de la pomme (l'idéaïne) y est très sensible. C'est la raison pour laquelle les cidres rosés ont tendance à perdre leur couleur après quelques mois de bouteille lorsque de l'air est incorporé au moment du conditionnement.

R. BAUDOUIN, IFPC

pressage. En revanche, d'autres polyphénols, initialement incolores et largement présents dans la pulpe, sont extraits en quantité dans le moût. Une part de ces polyphénols incolores va être oxydée, en présence d'air, sous l'action d'une enzyme de la pomme. Le résultat de ce phénomène est la synthèse de nombreuses nouvelles molécules que l'on nommera « produits d'oxydation » et dont certaines sont colorées.

Cet article a pour objectif de décrire tout d'abord les trois principaux acteurs impliqués dans ce phénomène d'oxydation, puis de détailler le scénario aboutissant à la couleur et enfin de détailler les paramètres sur lesquels il est possible d'agir pour en limiter l'apparition.

« douces-amères » et des cidres qui en sont issus. Notons que ces quatre catégories qui correspondent toutes à des composés initialement incolores représentent à elles seules plus de 95 % du total des polyphénols de la pomme. Deux classes minoritaires, les flavonols (jaunes) et les anthocyanes (rouges), sont surtout présentes dans la peau (sauf pour les variétés à chair rouge voir encart), et leur transfert vers le moût est quasiment négligeable (Figure 2).

Figure 2 – Les catégories de polyphénols dans la pomme

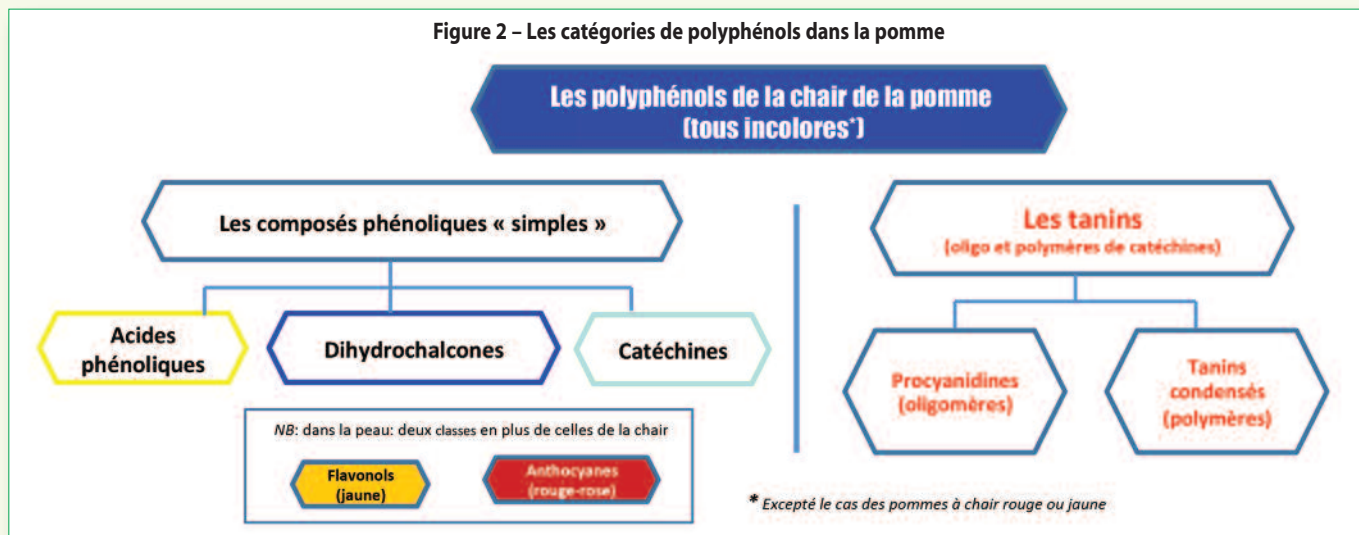


Figure 3 – Coupe de chair de pomme

Au niveau microscopique, la chair de la pomme est constituée de multiples cellules d'environ un dixième de millimètre de diamètre (Figure 3), entourées d'une paroi végétale (constituée de polysaccharides hémicellulose, cellulose) et collées les unes aux autres par une couche de pectine. Les polyphénols du fruit sont localisés à l'intérieur de ces cellules

en particulier dans les tissus végétaux. Elle est souvent responsable des problèmes de brunissement enzymatique entraînant une perte de la valeur marchande post-récolte des fruits et légumes frais (avocat, salade verte, chou-fleur, meurtrissures sur fruits et légumes...). Soulignons qu'au niveau de la cellule végétale, la PPO est fixée dans des particules de la taille de bactéries, les plastes; elle est donc insoluble et, après pressage elle reste associée aux bourbes et sera éliminée par une clarification. Par ailleurs, la PPO n'est pas localisée dans la vacuole: lorsque le fruit est sain et intègre, elle n'est donc pas en contact avec les polyphénols; cette compartimentation interdit l'oxydation et donc la formation de couleur tant que la chair du fruit n'est pas « altérée ».

dans un « sac » intracellulaire, la vacuole, qui représente l'essentiel du volume de la cellule et qui contient le jus. (Figure 4).

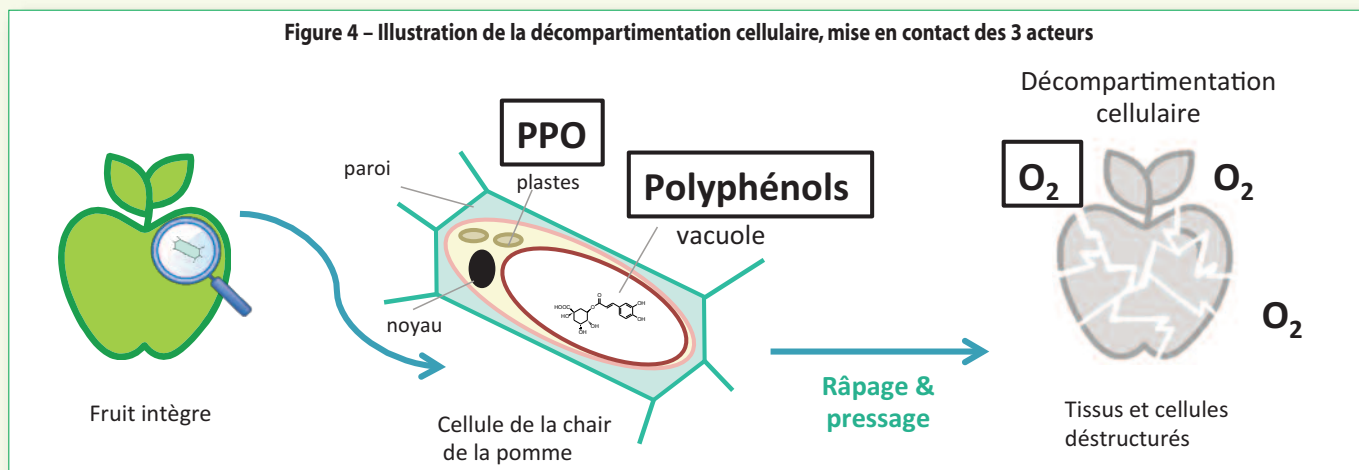
b - L'oxygène. C'est un acteur essentiel de l'oxydation des polyphénols. Évidemment l'oxygène de l'air est présent dans l'atmosphère ambiante des ateliers de transformation. Mais notons que la pomme, elle-même, est un fruit « poreux » qui contient de l'air dans ses tissus. Entre les cellules existent des espaces remplis d'air appelés méats (en gris foncé dans la Figure 3), c'est d'ailleurs pour cela que la pomme flotte ! Nos récents travaux à l'INRA et à l'IFPC montrent que cette part d'oxygène contenue dans les fruits n'est pas négligeable dans sa contribution à l'oxydation et donc à la formation de la couleur.

c - La polyphénoloxydase (ou PPO). La PPO est une protéine enzymatique largement présente dans quasiment tous les tissus de la pomme et que l'on retrouve dans de nombreux tissus vivants

La PPO une enzyme productrice de quinones : KESAKO ?

La PPO est une enzyme, c'est-à-dire qu'elle possède la propriété d'accélérer fortement (ou catalyser) une réaction chimique (ici une oxydation) d'un composé initial dit « substrat », en un autre composé, dit « produit ». Dans notre cas, les substrats sont certains polyphénols et l'oxygène (appelé « co-substrat »), et les produits sont nommés « quinones ». Parmi la diversité des polyphénols, la PPO « choisit » ses substrats: l'acide chlorogénique est le substrat préférentiel, mais les dihydrochalcones et les catéchines sont également substrat. Il est important de souligner que les tanins diminuent l'action enzymatique de la PPO; on dit que ce sont des inhibiteurs. Étant donné les principaux substrats de la PPO, on forme en priorité des quinones d'acide chlorogénique, de catéchines et de dihydrochalcones.

Figure 4 – Illustration de la décompartmentation cellulaire, mise en contact des 3 acteurs



Le scénario de la formation des composés colorés

a - La mise en contact des trois acteurs. Le râpage et le pressage sont les étapes clés de la formation de la couleur dans le moût. Lors de la désintégration des cellules et des tissus par le râpage et le pressage, les polyphénols, la PPO et l'oxygène, qui étaient initialement séparés, sont mis en contact (Figure 4) : la réaction d'oxydation enzymatique peut alors commencer ! Pour simplifier, on peut expliquer cette oxydation enzymatique en deux étapes que sont (i) la formation des quinones et (ii) les réactions des quinones avec formation des polyphénols oxydés.

b - La formation de « quinones ». Cette réaction enzymatique s'exerce dès les premières secondes du râpage et se poursuit jusqu'à ce qu'un des acteurs fasse défaut : (i) l'oxygène vient à manquer ou (ii) tous les substrats phénoliques du moût sont consommés ou (iii) la PPO est finalement inactivée ou éliminée par une clarification ou filtration. Étant donné les fortes teneurs en polyphénols des variétés à cidres, ce sont plutôt les situations (i) et (iii) qui se produisent. Les quinones sont certes colorées (jaune plus ou moins intense) mais elles ne seront pas responsables de la couleur du jus ou du cidre au final car ce sont des espèces instables, très réactives et donc transitoires qui vont se trouver impliquées dans de multiples réactions chimiques.

c - Les réactions des quinones. Les quinones formées sont rapidement impliquées dans des réactions chimiques, soit i) « d'addition » à d'autres polyphénols du moût soit ii) de transfert d'oxydation à d'autres polyphénols. Cette réaction peut aboutir à oxyder des polyphénols comme les tanins qui ne sont pas des substrats de la PPO.

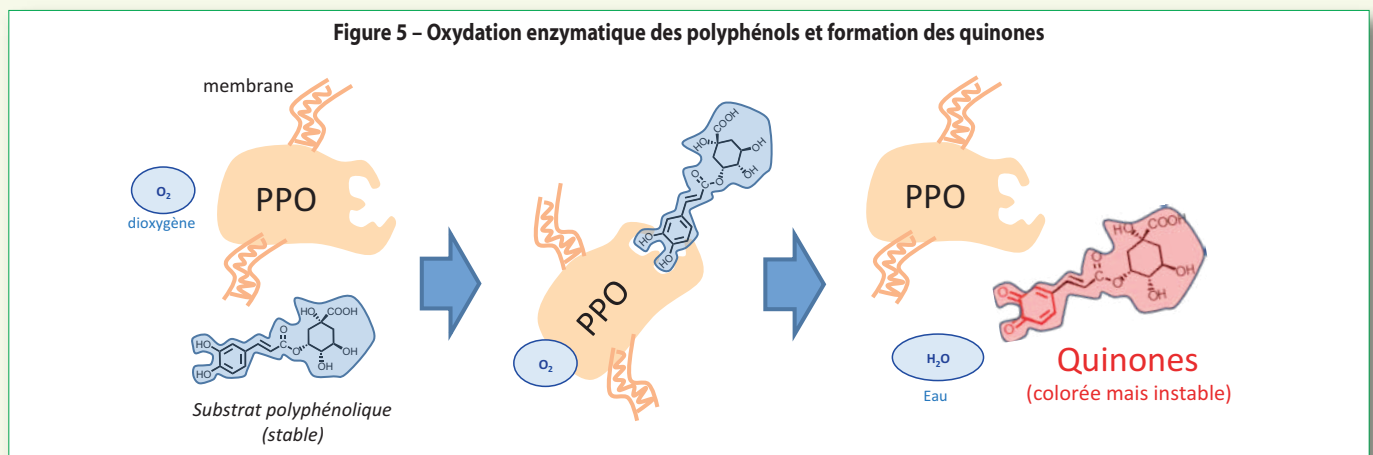
Le résultat est la formation de nouveaux composés stables dont

la plupart sont incolores. Seuls certains de ces nouveaux composés sont colorés. Il faut bien comprendre que l'oxydation des polyphénols ne se limite pas à la couleur. Elle génère majoritairement des molécules incolores qui sont pourtant susceptibles de présenter des propriétés gustatives, nutritionnelles spécifiques qu'il serait nécessaire d'explorer à l'avenir. On retiendra que l'apparition de la couleur ne constitue que la partie visible de l'iceberg « oxydation ».

d - La nature des composés colorés formés. Même si elles ne sont présentes qu'en faibles concentrations, les molécules colorées ainsi formées existent néanmoins sous une grande diversité de structures chimiques. Les travaux du projet CICHROM ont permis de mieux préciser la nature de ces « colorants naturels du jus de pomme ». Parmi cette diversité on retrouve : (i) des molécules colorantes très solubles dans l'eau avec un fort pouvoir colorant jaune issus principalement de l'oxydation des dihydrochalcones, (ii) des pigments moins solubles correspondant à des molécules issues du couplage oxydatif entre catéchines et dihydrochalcones et (iii) des tanins oxydés colorés (orange) dont la structure complexe doit encore être précisée. Des travaux d'analyse chromatographique des moûts de pomme ont pu montrer que la variété de pomme influait fortement sur la synthèse privilégiée d'une de ces trois catégories de molécules colorées.

Des travaux en milieux modèles qui reproduisent la diversité variétale sont en cours actuellement pour mieux comprendre l'impact de la composition polyphénolique initiale du moût (concentrations et proportions des différentes catégories de polyphénols, activité PPO, pH) sur l'orientation des voies réactionnelles de la formation des molécules de la couleur.

Figure 5 – Oxydation enzymatique des polyphénols et formation des quinones



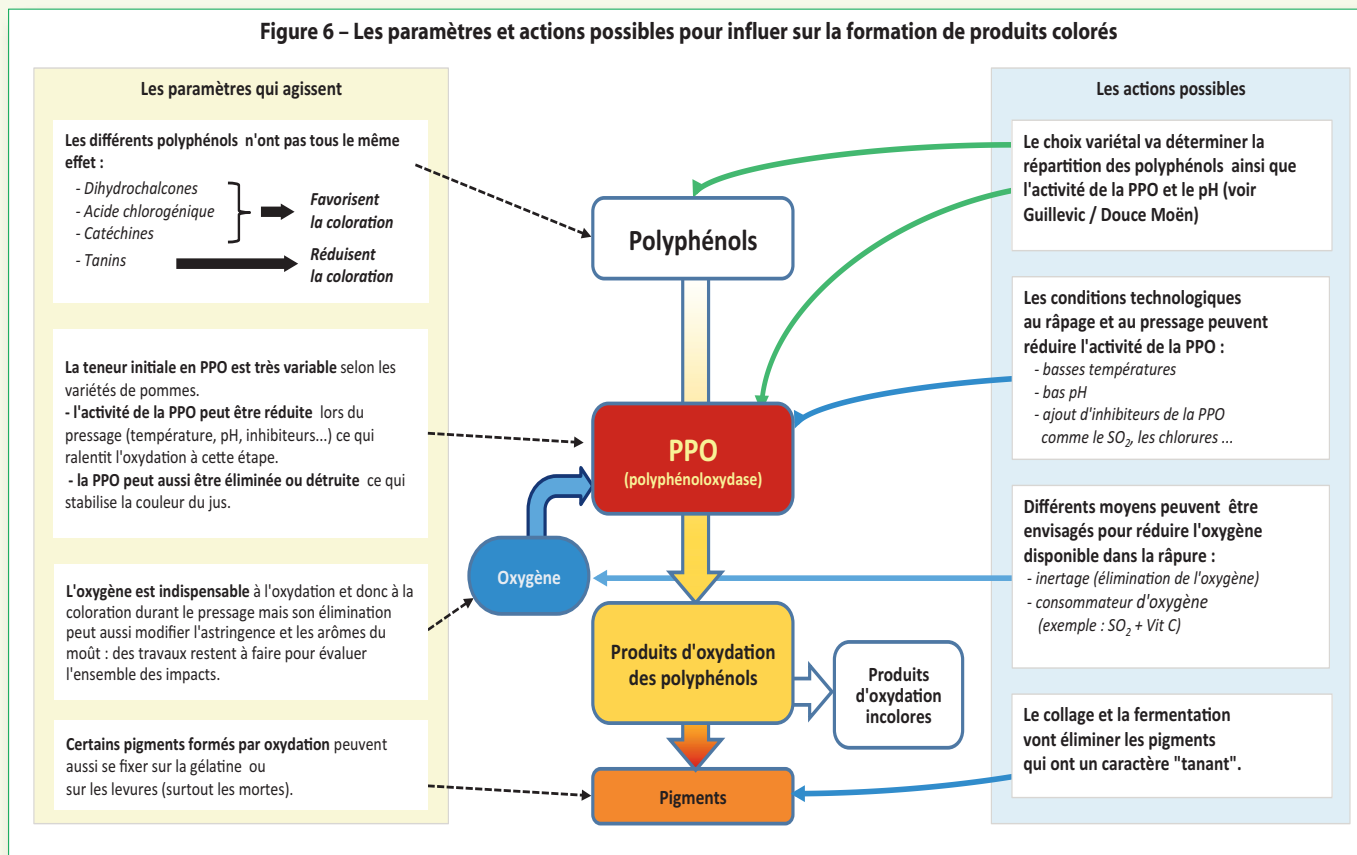
Quels paramètres pour influencer sur la formation de la couleur du moût ?

La présentation des acteurs et des mécanismes impliqués dans la formation de produits d'oxydation colorés permet d'en déduire les paramètres sur lesquels il faut agir pour influencer la couleur. Sans surprise, on peut intervenir directement sur l'enzyme qui oxyde les polyphénols (la PPO) et/ou sur les substrats de l'enzyme (l'oxygène, les polyphénols). Enfin, une partie de la couleur formée est due ou est fixée sur des procyanidines dont on sait qu'elles peuvent être en partie éliminées au cours de l'élaboration du cidre. La Figure 6 schématise le mécanisme décrit plus haut et ré-

sume la façon dont les paramètres interviennent ainsi que les leviers d'actions envisageables.

Dans la réalité, les véritables leviers d'action vont faire intervenir simultanément plusieurs paramètres : la composition en polyphénols est liée à la variété, laquelle agit aussi sur la teneur en PPO et sur le pH. Le choix variétal reste donc un levier important pour orienter la couleur, mais le choix des conditions de pressage peut infléchir fortement la tendance initiale de la matière première. Les variétés telles que Guillevic ou Avrolles cumulent différents

Figure 6 – Les paramètres et actions possibles pour influencer sur la formation de produits colorés



paramètres qui limitent leur aptitude à la coloration : faible pH, faible teneur en PPO, faible teneur en acide chlorogénique et teneur importante en tanins. A l'inverse, une variété comme Douce Moën, possède une aptitude importante au brunissement, lié en particulier à sa richesse en PPO et en acide chlorogénique. Il est possible d'intervenir sur l'activité de la PPO au cours du pressage, étape particulièrement déterminante pour la coloration. Pour réduire l'activité PPO, les basses températures de pressage (l'activité de la PPO est divisée par 3 entre 20°C et 10°C) et l'ajout de chlorure de calcium sur la râpure plutôt que dans le jus (Figure 7) sont les conditions qui semblent les plus pertinentes. Elles permettent de ralentir l'apparition de la coloration au stade

du pressage, mais il sera nécessaire d'y adjoindre un inertage de la cuve, puis une clarification (élimination de la PPO) ou une pasteurisation (destruction de la PPO) pour provoquer une stabilisation de la couleur plus définitive. Les leviers qui réduisent la présence d'oxygène ont été expérimentés et se révèlent très efficaces (Figure 8), mais ils provoquent des effets non contrôlés : i) une augmentation de l'astringence d'autant plus perceptible que les fruits sont initialement riches en polyphénols et ii) un impact sur les arômes (plus végétal / vert) dont il faudra vérifier la possible persistance après fermentation.

Figure 7 – Moûts de la variété Guillevic.

De gauche à droite : i) moût issu de râpure non protégée contre l'oxydation, ii) moût issu de râpure traitée au SO₂, iii) moût issu de râpure protégée au chlorure de calcium et iv) moût issu de râpure protégée au chlorure de calcium, SO₂ et avec inertage de la râpure par un gaz neutre.



P. POUPARD, IFPC

Il est aussi possible d'intervenir « plus directement » sur la PPO, soit en la dénaturant soit en l'éliminant. La dénaturation de la PPO est possible par un traitement thermique. Dans l'idéal, ce traitement devrait être réalisé le plus tôt possible sur la râpure (injection de vapeur, échangeur à surface raclée). Mais ceci semble peu envisageable car un tel traitement entraînerait une difficulté d'extraction du moût (faible rendement) liée à la modification de la texture de la râpure. Le traitement thermique peut néanmoins être réalisé sur le moût en sortie presse pour empêcher toute oxydation ultérieure. Enfin l'élimination de la PPO est possible physiquement car, comme indiqué au début de l'article, c'est une enzyme qui reste insoluble car fixée sur des particules végétales (bourbes). La PPO est ainsi éliminée lors de la clarification du moût. Dans un jus limpide (dépourvu de particules), l'oxydation enzymatique est donc définitivement arrêtée.

Nous nous sommes ici principalement focalisés sur les leviers utiles pour limiter la formation de la couleur, car cette action constitue la principale difficulté mais, bien sûr, les choix opposés permettront de favoriser la coloration. Signalons également qu'il est préférable de prévoir simultanément plusieurs leviers qui seront choisis et associés en fonction de l'objectif poursuivi.



Figure 8 : Différentes couleurs de moût de pomme obtenu à partir de la variété 'Douce Moën' après inertage de la râpura (à gauche) ou sans protection particulière contre l'oxygène (à droite). P. POUPARD, IFPC

Conclusion : Quelles stratégies de maîtrise de la couleur ?

Une tendance actuelle semble être la recherche d'une différenciation ou d'une segmentation, et la couleur peut y contribuer, comme c'est le cas pour les cidres rosés ou les cidres pâles (cidre « blanc » type Guillevic). Mais on peut également se démarquer par des couleurs plus saturées dont l'étude consommateur, présentée dans le précédent article, a montré qu'elles sont souhaitées par certains consommateurs.

Nous considérons aujourd'hui que l'obtention de jus très colorés est relativement aisée par l'utilisation de variétés très « colorantes » comme Douce Moën ou Douce Coëtigné. Qu'il s'agisse d'assurer la constance de la couleur ou de se différencier par la couleur, la principale difficulté sera donc de parvenir à réduire la couleur de certains lots pour pouvoir, par assemblage, construire la couleur souhaitée. Toutefois, plusieurs stratégies peuvent être envisagées :

- Pour obtenir des cidres peu colorés proches du « Guillevic » ou pour produire un cidre rosé avec 20 % de jus de pommes à chair rouge, il faut élaborer un cidre très pâle (la totalité pour le cidre pâle, ou les 80 % de cidre complémentaire pour le cidre rosé). Pour cela, il sera préférable de choisir des pommes qui, naturellement, s'oxydent peu. Les procédés qui limitent l'oxydation peuvent ensuite venir en complément pour accentuer cette tendance naturelle.
- Lorsque l'objectif est simplement d'assurer une régularité des produits, selon un objectif de couleur fixé au préalable, il s'agira plutôt de corriger à la marge, la couleur de l'assemblage. Dans ce cas, le plus pertinent nous semble d'élaborer à la fois des cuvées colorantes et des cuvées peu colorées qui seront « correctrices de la couleur ». Afin de ne pas interférer avec le choix des saveurs, il sera préférable de choisir, pour ces cuvées, des va-

riétés les plus neutres possibles sur le plan des saveurs. Pour les cuvées peu colorées, les procédés limitant la formation de polyphénols oxydés colorés permettront de réduire leur couleur, mais sans nécessairement viser l'absence de couleur, et cette couleur plus claire devrait suffire pour pouvoir agir à l'assemblage. Dans ce cas il pourra être utile de se référer à l'outil de prédiction de la couleur d'un assemblage et / ou au nuancier du cidre, outils décrits dans l'article revue Pomme à cidre n°44.

Ces préoccupations concernant la couleur des cidres et des jus de pomme seront d'autant plus nécessaires que les produits seront conditionnés dans des bouteilles non colorées, pratique peu répandue actuellement mais qui se développe. La couleur pourra alors constituer un vrai critère de choix pour le consommateur.

SYLVAIN GUYOT (INRA BIA PRP), JEAN-MICHEL LEQUERE (INRA BIA PRP), PASCAL POUPARD (IFPC), RÉMI BAUDUIN (IFPC).

Résumé

La couleur des cidres classiques (hors cidre rosé) ne provient pas, comme dans le cas du vin, de l'extraction de molécules colorées du fruit, mais de l'oxydation de polyphénols, initialement incolores, présents dans la pulpe des fruits. Lors du râpage, une part de ces polyphénols incolores va être oxydée, en présence d'air, sous l'action d'une enzyme de la pomme, la PPO. Pour moduler la formation de la couleur (accentuer ou limiter), il est possible d'intervenir directement sur cette enzyme qui oxyde les polyphénols (la PPO) et/ou sur les substrats de l'enzyme (l'oxygène, les polyphénols).

Les résultats présentés dans cet article sont notamment issus du projet « CICHROM » réalisé en partenariat avec : l'INRA BIA équipe PRP, l'UMT Novacidre, l'USC GRAPPE INRA, l'ESA d'Angers, l'UMR CNRS 6226, l'Institut des Sciences Chimiques de Rennes Equipe CORINT, le PAO, le COREC et réalisé grâce au soutien financier des Régions de Bretagne, Pays de la Loire, du Casdar et de l'UNICID.