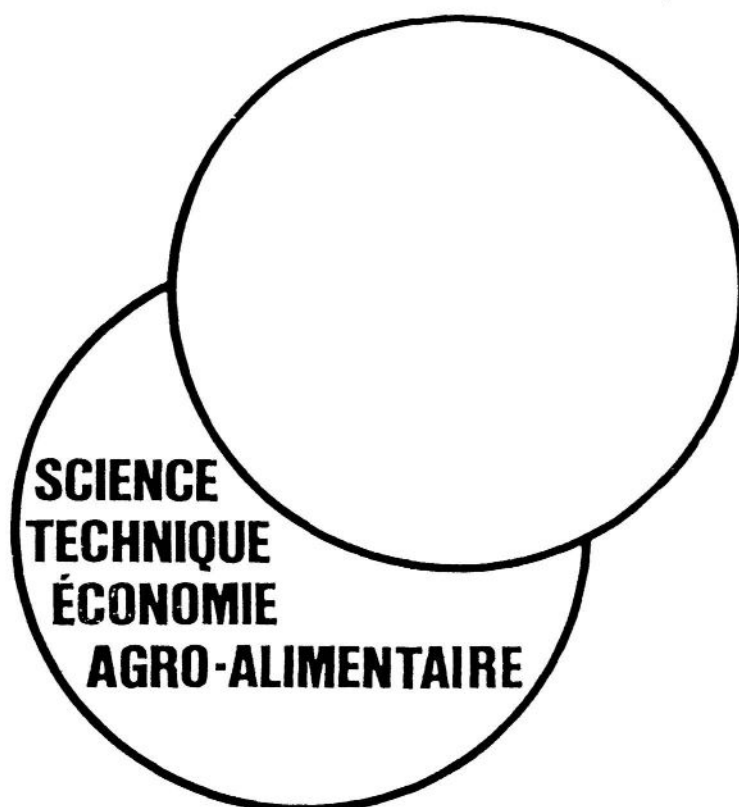




industries alimentaires et agricoles

110^e ANNÉE N° 10 - OCTOBRE 1993

Caractérisation et définition des préparations commerciales de tanins œnologiques

par N. VIVAS ⁽¹⁻³⁾, S. CHAUVET ⁽²⁾, Y. GLORIES ⁽³⁾, P. SUDRAUD ⁽²⁾

Résumé

La reconnaissance et l'identification des préparations commerciales de tanins œnologiques nécessitent la mise au point de mesures rapides et reproductibles. Dans cet objectif, nous avons modifié le protocole « OIV » de mesure de la pureté des tanins et établi une série d'indices permettant de distinguer rapidement l'origine botanique et le mode d'extraction des préparations.

Le dosage des catéchines et des tanins proanthocyaniques a permis de distinguer tanins de bois et tanins de raisin. L'étude des spectres assure la séparation du groupe chêne, châtaignier/noix de galle, tanins exotiques. Le dosage de la scopolétine permet de distinguer le chêne du châtaignier et l'acide digallique les noix de galle des bois exotiques.

Enfin, des indices assurent la distinction entre extraction à l'eau et aux solvants organiques (éthanol, éther) ; d'autres permettent de préjuger des soins apportés à la fabrication des produits.

Mots clés : Tanins commerciaux ; différenciation ; composition ; composés phénoliques.

Introduction

Les tanins sont extraits d'un grand nombre d'espèces végétales et ont pour origine, les parties ligneuses, les fruits, ou les excroissances d'origine pathogène. Leur champ d'utilisation concerne les industries agro-alimentaires, la pharmacologie, la tannerie et même quelques industries lourdes (métallurgie, etc.).

Dans le contexte plus restreint du traitement des vins, les tanins sont utilisés pour aider à la clarification des vins par collage (RIBERAU-GAYON et al., 1977) ; mais cette pratique reste exceptionnelle. En revanche, ils sont susceptibles d'être employés pour améliorer les caractères gustatifs des vins après un élevage de quelques mois

English title : « Definition and characterization of Enological's tannins »

Summary

For recognition and identification commercial preparations of enological tannins requires the setting of rapid and reproductive measures. Aiming at that we have modified the « OIV » measurement protocol of tannins purity and established a series of factors. That allow us to distinguish rapidly, the botanical origin and the preparations extraction mode.

The measuring catechins and proanthocyanin tannins measurements distinguish wood tannins from grape tannins. The study of spectrums insures the separation of oak/chestnut and gallnut/exotic tannins group. Scopoletin measurement makes it possible to distinguish oak from chesnut, and digallic acid the gallnut the exotic woods.

Finally, some indication insure the distinction between extraction of water and organic solvents (ethanol, ether) others allow us to prejudge the care taken in the fabrication of the products.

Keys words : Commercial tannins, differentiation, composition, phenolic compounds.

en cuve, et ceux des eaux-de-vie par l'intermédiaire d'un « boisé » (tanins de chêne en solution alcoolique).

Actuellement, ces préparations représentent une part non négligeable dans l'industrie des produits destinés aux traitements des vins : or, le codex œnologique ne donne que peu d'informations sur le sujet, et les ouvrages d'œnologie traitent rapidement le thème en faisant, le plus souvent, référence au travail déjà ancien de FERRE (1938).

Face à la diversité des tanins mis sur le marché, et devant le manque d'informations sur ces produits, il nous a semblé utile de caractériser les différentes préparations, en cherchant à définir : l'origine botanique des préparations commerciales, la nature du solvant utilisé pour l'extraction (eau, éthanol, éther diéthylique) ainsi que les propriétés technologiques. Ce sont les résultats que nous présentons dans ce travail.

(1) Chargé d'études Tonnellerie DEMPTOS.

(2) Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux, laboratoire de la Répression des Fraudes (DGCCRF, Talence).

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

Matériel et méthodes

I - Tanins testés

Les différents tanins utilisés dans cette étude, sont divisés en deux groupes distincts :

1) Produits fabriqués au laboratoire :

Produits obtenus au laboratoire à partir de sciure de chêne et de châtaignier, répartis en trois lots extraits à l'eau, à l'éthanol ou à l'éther diéthylique.

2) Produits commerciaux (tableau I) :

Ils sont constitués d'une série représentative de 23 préparations couvrant la gamme des marques, des origines botaniques et des modes d'extraction : 7 marques commerciales, 6 origines botaniques (Chêne, Châtaignier, Noix de galle, bois exotiques de Tara, de Québracho et de Myrobolan, Pépins et Marc sec de raisins), 4 modes d'extraction (eau, éthanol, éther, eau sulfitée). Leurs origines ont été vérifiées et garanties.

II - Méthodes analytiques

1) Méthodes retenues :

Les méthodes sont choisies à partir de deux critères :

— D'abord, elles doivent être simples et nécessiter, autant que faire se peut, un matériel limité et non spécifique. Les méthodes sont mises au point pour être appliquées soit dans des laboratoires œnologiques, soit dans des centres de la répression des fraudes : l'utilisation d'outils analytiques complexes en limiterait le développement.

Tableau I : Identification des préparations commerciales de tanins œnologiques testées

Marque	Origine botanique	Mode d'extraction
A	chêne	H ₂ O
	chêne	EtOH
	chêne	H ₂ O
	châtaignier	H ₂ O
B	noix de galle	H ₂ O
	noix de galle	EtOH
	noix de galle	EtOEt
C	tara	EtOH
	noix de galle	EtOH
	chêne	H ₂ O
D	châtaignier	H ₂ O
	chêne	H ₂ O
	chêne	H ₂ O
E	marc	H ₂ O
	pépins de raisins	H ₂ O
	marc	H ₂ O sulfitée
	chêne	H ₂ O
F	marc	H ₂ O
	noix de galle	EtOEt
	myrobolan	H ₂ O
	noix de galle mixte	H ₂ O : EtOH
G	châtaignier	H ₂ O
—	quebracho	H ₂ O

H₂O : eau ; EtOH : ethanol ; EtOEt : ether diéthylique

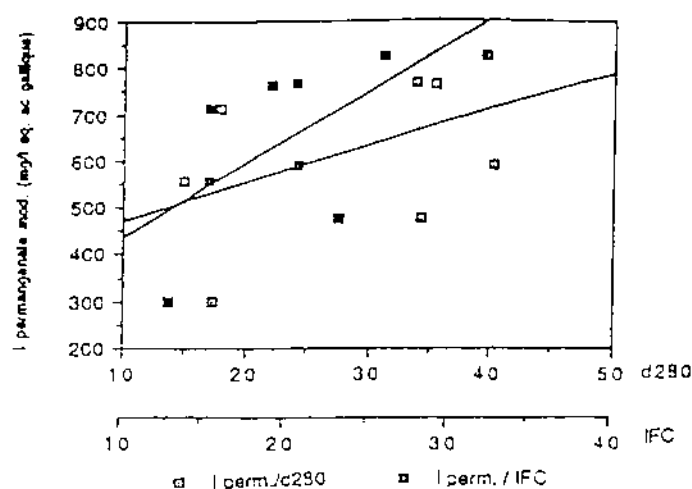


Figure 1 : Comparaison du dosage des phénols totaux par le permanganate de potassium avec la d280 et l'indice de Folin-Ciocalteu

— Enfin, elles doivent être rapides et se prêter facilement aux dosages en série. L'adaptation au flux continu peut être envisagée. Ainsi, les méthodes colorimétriques utilisant la spectrophotométrie seront prises en compte en priorité.

Bien que souvent basées sur des principes analytiques anciens, certaines étapes des différents modes opératoires ont été optimisées.

2) Modes opératoires :

a) Dosage des phénols totaux par la méthode au permanganate de potassium (Codex Œnologique, OIV), au réactif de FOLIN-CIÓCALTEU (SINGLETON et ROSSI, 1965) et par la mesure de la DO 280 nm (RIBEREAU-GAYON, 1970). La méthode au permanganate de potassium est prise en compte car elle est aujourd'hui encore la méthode officielle de dosage des tanins utilisés dans le traitement des vins.

b) Dosage des catéchines par la réaction à la 4-diméthylaminocinnamaldéhyde (4-DMACH), adaptée du protocole de Mc MURROUCH et Mc DOWELL (1978). On mélange 5 ml de réactif [100 mg de 4-DMACH + 10 ml HCl 12N + MeOH qsp 100 ml] à 1 ml de solution aqueuse de tanins. Après 10 mn, la lecture est faite à 640 nm sous 10 mm de parcours optique. Les résultats sont donnés en mg/g d'équivalent (+) catéchine par la réalisation d'une gamme étalon dans les mêmes conditions.

c) Dosage des tanins proanthocyaniques : on mélange 4 ml de solution de tanins (à 200 mg/l) non diluée, 2 ml d'eau distillée et 6 ml HCl 12N dans un tube à hydrolyse. On prépare 2 tubes par solution : l'un est porté à 100 °C durant 30 mn puis refroidi dans un bain d'eau glacée ; le second reste à l'obscurité à température ambiante. Les deux tubes reçoivent 1 ml d'éthanol et la lecture se fait à 550 nm (l = 10 mm). La coloration plus intense du tube porté à 100 °C est due à la transformation de proanthocyanidines en anthocyanidines (cyanidine et delphinidine), rouges. La relation ($\Delta DO_{550} \times 380$) donne les résultats en mg/g de tanins. Bien qu'entaché de certaines erreurs, ce dosage est actuellement le seul moyen rapide de quantifier cette classe de composés.

d) Les spectres UV/visible sont réalisés à partir de solutions à 200 mg de tanins par litre d'eau distillée.

e) Dosage des tanins hydrolisables : les gallotannins sont dosés selon le principe de HASLAM (1965). On porte 3,5 ml de solution de tanins en tube bouché à 0 °C durant 30 mn, puis on ajoute 1,5 ml de KI à 500 g/l ; la réaction se développe à 0 °C en 40 mn. La mesure se fait à 550 nm. Les résultats sont donnés en mg/g d'équivalent acide

trigallique. L'acide digallique est dosé par HPLC selon la méthode décrite par SALAGOFFY et al. (1986).

Les ellagitanins sont estimés par la méthode de BATE SMITH (1972). A 1 ml de solution le tanin, on ajoute 1 ml de MeOH et 0,16 ml d'acide acétique 6% en laisse barboter sous agit. 10 min puis on verse 0,16 ml de nitrate de sodium 6%. Après quelques secondes de barbotage on bouche hermétiquement. La coloration est maximale et stable en 60 min. La lecture se fait à 600 nm et les résultats sont donnés en mg l⁻¹ équivalent d'acide galique cristallin (0,8-1,2 g/l purifiées par CCM, l'ait extrait de châtaigner aqueux, les produits étant identiques à partir de référence). Il existe des méthodes plus spécifiques de dosage des tanins hydrolysables (MOUTOUNET et al. 1980, SCALBERT et al. 1986) mais elles ne donnent pas une expression de la teneur totale en ellagitanins, dans les extraits analysés, car on ne peut pas aujourd'hui encore quantifier toutes les formes d'ellagitanins du bois, certaines étant encore inconnues.

Dosage des coumarines par HPLC. la méthode utilisée s'inspire de celle de SALAGOFFY et al. (1987). Nous ne pratiquons pas d'extraction sur le milieu aqueux préalablement neutralisé par NaOH; cette précaution est inutile car le rubis est suffisamment concentré en coumarines. Les coumarines sont extraites de 20 ml de solution par 3 fois 20 ml d'éther diéthylique, la phase organique est rassemblée par decantation, évaporée à sec et reprise par 20 ml d'eau distillée. Nous employons une colonne de silice greffée C18 et un détecteur fluorimètre à double sensibilité (excitation à 340 nm; émission à 425 nm). Le solvant A = eau milliQ acidifiée par 3% d'acide acétique et le B = acetonitrile RP acidifié par 3% d'acide acétique. Le programme d'élution est celui de SALAGOFFY et al. (1987). L'identification des pics et la quantification est réalisée par co-injection de coumarines pures en quantités connues (SIGMA).

III - Choix des méthodes discriminantes et exploitation des résultats

Seuls, les critères ayant permis de séparer pour chaque échantillon anonyme l'origine botanique et le mode d'extraction sont retenus pour la classification des préparations commerciales. En outre, les résultats obtenus à partir des différentes méthodes doivent être suffisamment caractéristiques d'une origine botanique ou d'un mode d'extraction pour éviter les ambiguïtés lors de l'interprétation. Nous prenons également en compte les marqueurs — molécules spécifiques d'une origine botanique — qui demeurent le critère de différenciation le plus significatif.

Pour confirmer certaines identifications douteuses, nous employons simultanément plusieurs méthodes complémentaires (OIV, 1978 et le présent article).

Tableau II : Incidence du choix du tanin de référence sur le résultat du titrage par la méthode officielle (OIV)

Types de tanins de référence	échantillons analysés		
	1	2	3
galles ether A	75	73	103
galles ether B	67	65	92
galles ether C	62	60	84

norme d'interprétation : non conformité pour des résultats < 65%
unité : résultat en %.

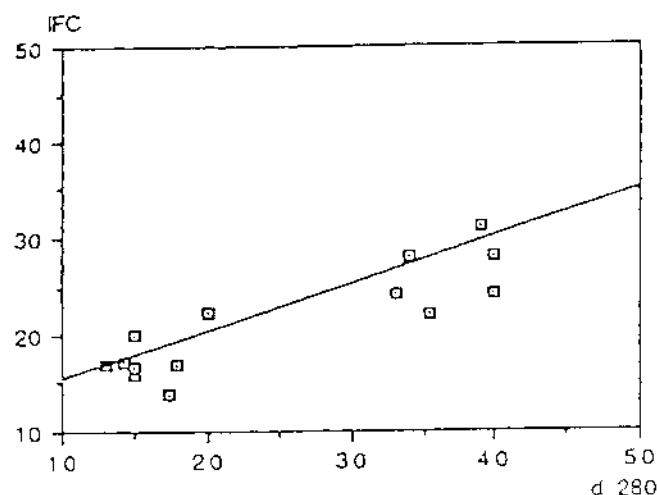


Figure 2 : Corrélation entre la d280 et l'indice de Folin-Ciocalteu pour des tanins de bois

Résultats et discussion

I - État des connaissances sur les méthodes d'évaluation des qualités des préparations commerciales de tanins œnologiques

La seule définition des tanins œnologiques date de 1978 (Codex Œnologique, OIV, 1978). Elle porte sur les caractéristiques du produit et les méthodes d'évaluation de sa pureté. Les critères retenus sont : la richesse en tanins « vrais » évaluée par mesure de l'indice de permanganate par rapport à un produit de référence (tanin officiel issu de noix de galle extrait à l'éther), la fraction insoluble, la perte par dessiccation, ainsi que la teneur en arsenic et en métaux lourds.

Ces paramètres ne permettent pas de vérifier les informations figurant sur l'étiquetage. Seules peuvent être décelées des pollutions dues à des métaux toxiques, ou à des métaux pouvant provoquer des troubles dans les vins (Fer et Cuivre).

Le choix du tanin officiel de référence (galle éther) modifie profondément le résultat du test (tableau II) :

— Ainsi, les échantillons 1 et 2 sont conformes pour les références A et B et non conformes avec la référence C.

— L'échantillon 3 reste conforme pour tous les tests, mais sa pureté passe de 103% à 84%.

Le choix de ce type de référence doit donc être abandonné. En revanche, nous proposons de donner les résultats du titrage en équivalent ac. galique et de définir le pourcentage de pureté du tanin par rapport à une solution d'acide galique étalon. Le dosage est alors remplacé par l'indice D.280 nm.

Le dosage par le permanganate de potassium est une analyse délicate. La corrélation entre différents modes d'évaluation des phénols totaux (fig. 1) montre que l'indice KMnO_4 est peu corrélé avec la d280 et l'indice de Folin (IFC). En revanche, ces deux critères sont relativement bien corrélés entre eux (fig. 2). La mesure simultanée par IFC et la d280 ne donne pas de résultats parfaitement linéaires car, à l'exception du vin ou du raisin, la réaction des composés du bois avec le réactif de Folin n'est pas constante; elle dépend de la nature des molécules (ac. phénols, depsides, coumarines, gallotannins, ellagitanins, aldéhydes phénols...) et de leur coefficients de réponse respectifs. Pour le chêne et le châtaignier, qui ont un profil phénolique très voisin et relativement simple, les deux méthodes (IFC, d280) donnent des résultats identiques.

A partir de ce constat, nous avons entrepris la recherche de critères objectifs de différenciation des tanins commerciaux et d'évaluation de leurs qualités phénoliques.

II - Recherche de la différenciation entre tanins commerciaux de bois et tanins de raisin

Les tanins du raisin et de ses résidus de vinification (raffes, marc) sont essentiellement des tanins condensés (baies et rafles), polymères constitués d'unités flavanol-3 et flavanediol-3,4 (RIBEREAU-GAYON, 1968). Les tanins de bois ou de noix de galle sont, pour la plupart des tanins hydrolysables (METCHE et GIRARDIN, 1980); ils sont classés en gallotannins (HASLAM, 1965; SCALBERT et al., 1990) [glucose + ac. gallique et/ou quinique] et en ellagitannins (BATE-SMITH, 1972; MAYER et al., 1969; MAYER et al., 1971) [glucose + ac. ellagique, ac. gallique et acide hexahydroxydiphénique]. La grande

diversité de ces molécules est résumée sur la fig.3; elle illustre également le grand nombre de composés identifiés dans les tanins commerciaux.

1) Dosage des catéchines et des tanins proanthocyaniques :

Comme le montre la figure 4, le dosage des catéchines ou des tanins proanthocyaniques permet d'obtenir des renseignements sur la nature du matériel de base. En effet, bien que les tanins de bois ou de galle aient des teneurs en phénols totaux comparable à celles des tanins de raisin, leurs concentrations en proanthocyanes et en catéchines sont plus faibles : respectivement inférieures à 0,5 mg et à 10 mg par gramme.

2) Dosage des coumarines :

Pour le cas particulier du Quebracho (*Schinopsis quebracho-colorado*), sa teneur en tanins condensés étant voisine de celle des préparations à base de raisin, il est différencié par un taux d'ombelliférone très

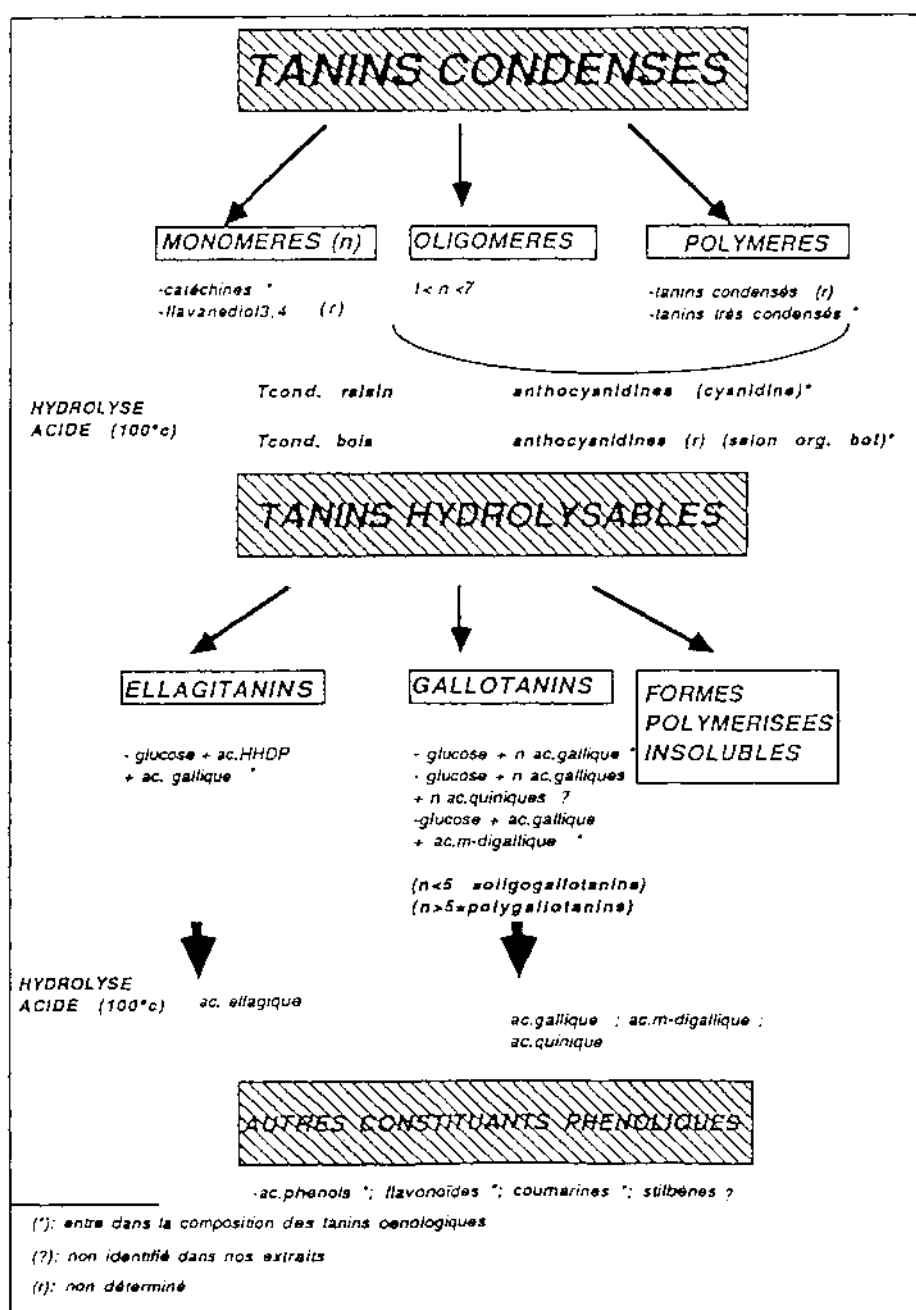


Figure 3 :
Constitution phénolique
des tanins commerciaux

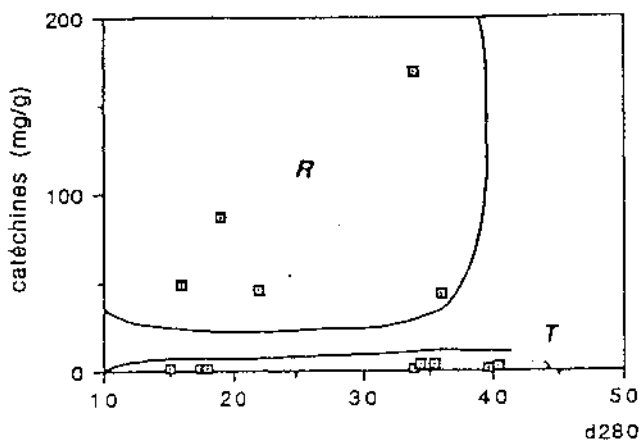
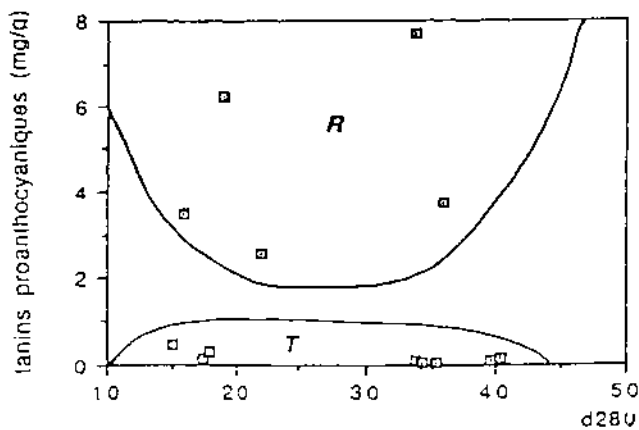


Figure 4 : Différenciation des tanins issus de raisin et de bois ou de galle par le dosage des tanins condensés et des catéchines :
R = tanins de raisin
T = tanins de bois ou de galle

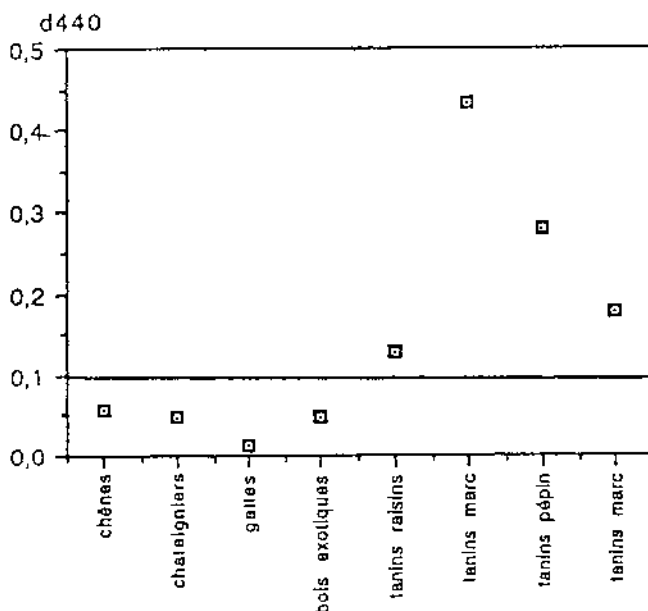


Figure 5 : Importance de la teinte jaune (d 440 nm) en fonction de l'origine botanique des tanins

supérieur aux autres échantillons. Cette observation a déjà été relevée par SALAGOFFY (1988).

3) Mesure de la coloration jaune des solutions de tannin :

La mesure à 440 nm donne une indication supplémentaire, sur l'origine botanique du tannin. A teneur égale en tanins solubilisés dans l'eau (200 mg/l), les tanins de raisin ou de marc ont une absorbance supérieure à 0,08 (fig. 5). La limite de différenciation a été fixée à 0,1 unité de DO.

Ainsi, trois méthodes relativement simples (catechines, tanins proanthocyaniques et d 440 nm) permettent de séparer nettement les tanins de raisin des tanins de bois, et un dosage spécifique complémentaire permet de distinguer le Quebracho (dosage de l'ombellifère) parmi les tanins de raisin, en raison de sa teneur élevée en composé de type flavaniques.

III - Recherche de la différenciation entre tanins de bois et tanins de galle

1 - Essai de différenciation par l'étude des spectres UV/Visible des différentes préparations commerciales

La réalisation de spectres UV/Visible, sur un grand nombre d'échantillons de tanins, a permis d'établir des spectres de référence moyens (fig. 6). Deux catégories de tanins peuvent être différenciées, les tanins de raisins étant identifiés par d'autres méthodes : les préparations de chêne et de châtaignier constituent le premier groupe, les bois exotiques et les galls constituent le second.

Le premier présente, quelque soit le solvant d'extraction, un spectre décroissant sans maximum entre 250 et 400 nm. Le second, en revanche, présente un maximum entre 270 et 280 nm, décalé de 2 à 3 nm, cet écart n'est pas suffisant pour les distinguer.

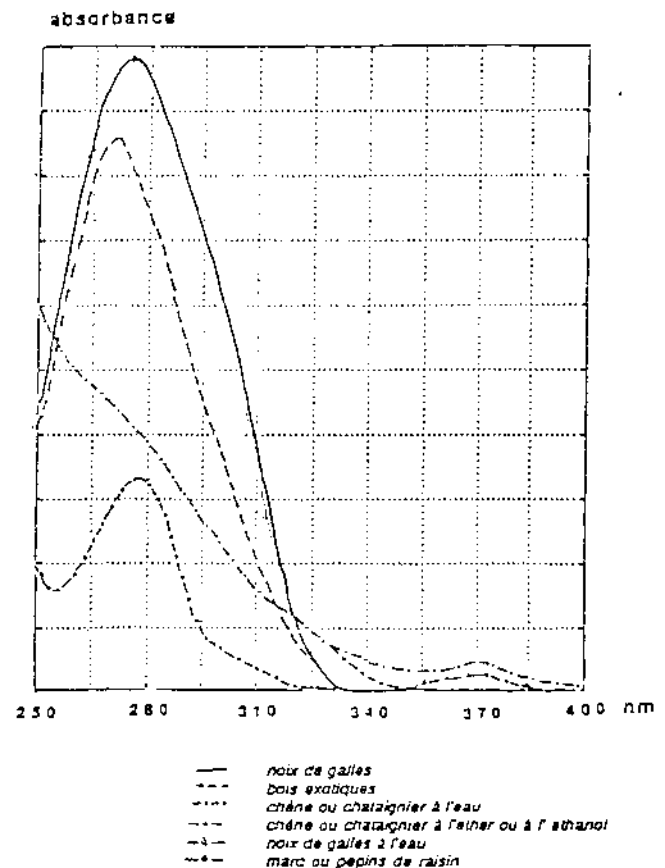


Figure 6 : Spectre UV/visible des tanins œnologiques influence : de l'origine botanique et du solvant d'extraction

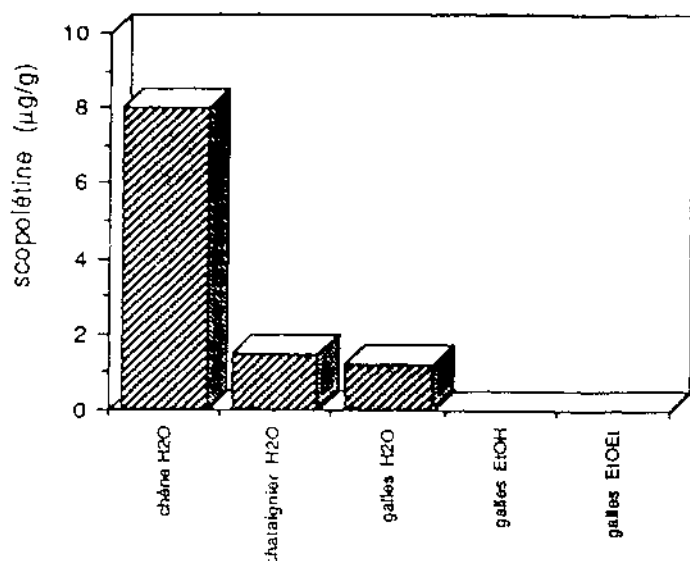


Figure 7 : Dosage de la scopolétine dans des préparations de différentes origines botaniques

D'autre part, les extractions à l'eau confèrent à tous les tanins un maximum à 370 nm. Ce critère sera utilisé pour différencier les modes d'extraction dans le chapitre suivant.

Dans le cadre d'analyses de routine, la mesure à 5 longueurs d'ondes, convenablement choisies (250, 260, 270, 280, 370 nm), donne les mêmes conclusions que le spectre complet.

L'allure des spectres UV/visible permet de séparer facilement des tanins de chêne ou de châtaignier (spectre sans maximum dans l'UV) des tanins de galles ou de bois exotiques (maximum dans l'UV).

2 - Dosage des coumarines

Les coumarines ont fait l'objet de nombreuses études du fait de leur présence dans les vins et les eaux-de-vie élevés en fûts de chêne (MARCHE et JOSEPH, 1972; TRICARD et SALAGOTY, 1986). SALAGOTY (1988) considère la scopolétine comme marqueur de l'élevage sous bois des vins.

Dans les tanins commerciaux elles sont présentes soit sous formes hétérosidiques (aesculine, scopoline) soit sous formes aglycones (aesculetine, scopolétine); seules les formes aglycones sont quantifiables par HPLC au moyen d'un détecteur fluorimétrique.

A la suite des travaux de SALAGOTY et al. (1986), nous avons pensé que le profil en coumarines pouvait être caractéristique et constituer

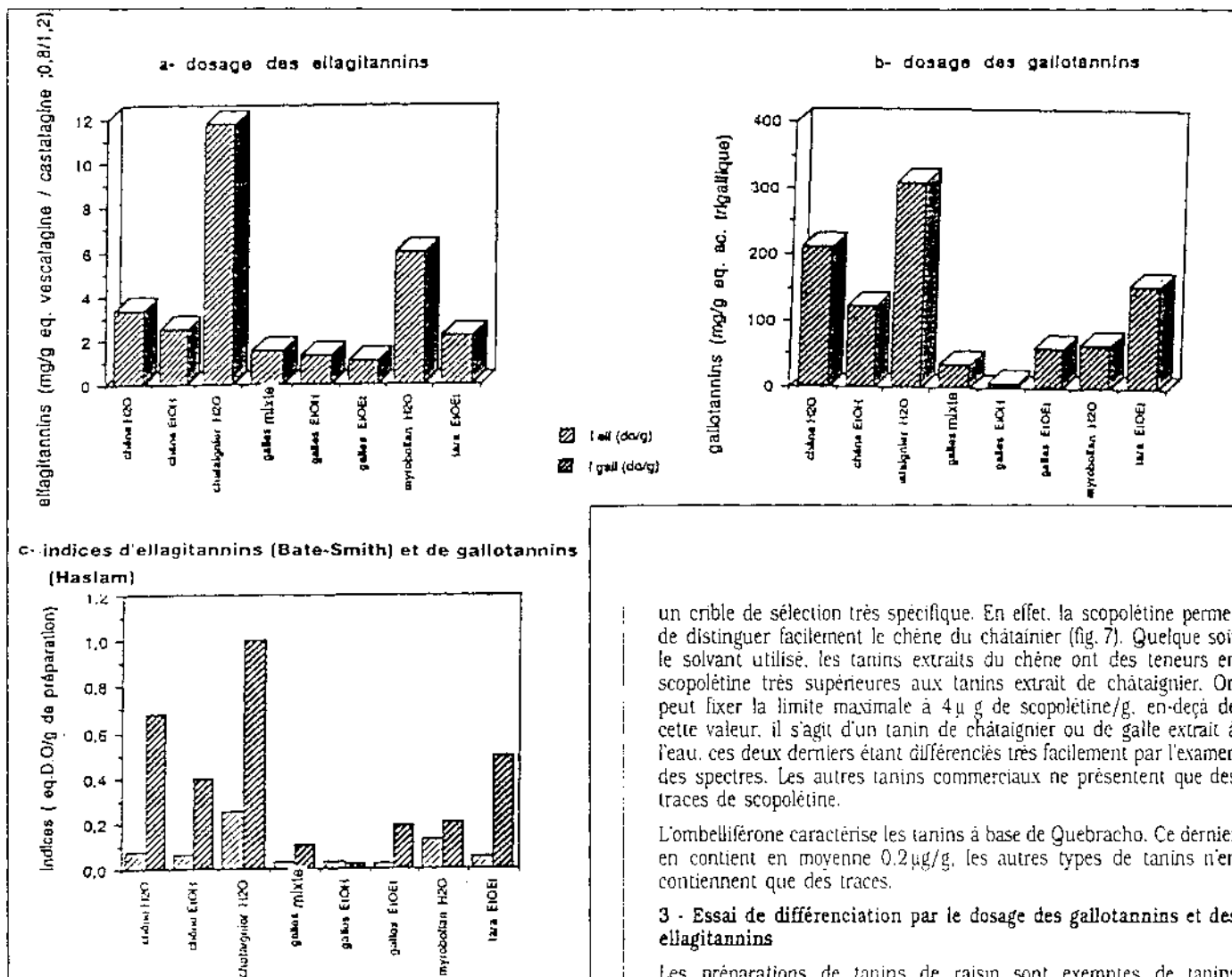


Figure 8 : Dosage des tanins hydrolysables : Influence de l'origine botanique et du solvant d'extraction
galles mixtes : galles extraites par l'eau et des solvants organiques EtOEt : éther; EtOH : éthanol

un crible de sélection très spécifique. En effet, la scopolétine permet de distinguer facilement le chêne du châtaignier (fig. 7). Quelque soit le solvant utilisé, les tanins extraits du chêne ont des teneurs en scopolétine très supérieures aux tanins extraits de châtaignier. On peut fixer la limite maximale à 4 µg de scopolétine/g. en-deçà de cette valeur, il s'agit d'un tanin de châtaignier ou de galle extrait à l'eau, ces deux derniers étant différenciés très facilement par l'examen des spectres. Les autres tanins commerciaux ne présentent que des traces de scopolétine.

L'ombelliférone caractérise les tanins à base de Quebracho. Ce dernier en contient en moyenne 0,2 µg/g, les autres types de tanins n'en contiennent que des traces.

3 - Essai de différenciation par le dosage des gallotannins et des ellagitannins

Les préparations de tanins de raisin sont exemptes de tanins hydrolysables; leur présence constituerait alors la preuve d'un coupage par des produits commerciaux. De façon générale, les extraits de chêne et de châtaignier sont riches en ellagitannins, alors que certains bois exotiques et les extraits de galles renferment de grandes quantités

de gallotannins, en particulier l'acide digallique et les polymères glucidiques de la série galloyl-glucose (HASLAM, 1965).

L'utilisation de l'eau permet souvent d'obtenir des préparations riches à la fois en gallotannins et en ellagitannins (fig. 8 a et b).

Les tanins de galle commerciaux renferment peu de tanins hydrolysables (fig. 8 a et b) : ce paramètre ne suffit cependant pas à les distinguer des autres groupes. En revanche, l'acide digallique est un marqueur très spécifique (tableau III) : les tanins de galle en renferment 2 à 10 mg/g.

Tableau III : Teneurs en acides gallique et digallique de tanins commerciaux d'origines botaniques différents.

Origine botanique	ac. digallique mg/g	ac. gallique mg/g
chêne	traces	4.0
châtaignier	0.10	6.8
quebracho	0	0
nois de galle	4.0	16.0
tara	traces	2.4
myrobolan	0.08	12.6

III - Incidence du solvant d'extraction sur la qualité des préparations

1 - Définition d'un indice de solvant et d'un indice de solubilité

Les industriels utilisent deux types de solvant : l'eau et les solvants organiques, essentiellement l'éthanol et l'éther. Ces solvants n'extraient pas les mêmes constituants et ils n'ont pas la même efficacité. L'eau permet de donner le maximum d'extractibles renfermant des ellagitannins et des gallotannins ; l'alcool extrait davantage d'acides phénols, de coumarines, de catéchines et de tanins proanthocyaniques ; enfin, l'éther fournit peu d'extrait, dont une très grande partie est représentée par des acides phénols (acide gallique, acide ellagique...) et les depsides (ac. digallique).

Les extraits à l'eau renferment donc la fraction utile des tanins du bois (tanins hydrolysables). Au cours de l'étude des spectres UV/visible, nous avons observé la présence d'un maximum à 370 nm, entouré de deux minimums à 350 et 420 nm dans les tanins extraits à l'eau (fig. 6). Cette remarque a permis la mise au point d'un indice de solvant. Exemple :

$$IEx = (d370 \cdot 2) - (d350 + d420)$$

Il est calculé à partir de l'aspect gaussienne des portions de spectre entre 340 nm et 440 nm. Lorsque cet indice est supérieur à 0.05 les tanins commerciaux sont issus d'extraits à l'eau.

La très faible solubilité des tanins à l'eau dans un mélange EtOEt/EtOH (9/1 : v/v) nous a permis de définir un indice de solubilité (IS ; fig. 9). Il exprime le % de solubilité de 5 g de tanins dans 100 ml de ce mélange. Les tanins à l'eau ont un indice de solubilité inférieur à 5 %.

L'un des deux indices (fig. 9) suffit généralement à mettre en évidence le mode d'extraction ; néanmoins, pour des tanins extraits par un mélange de solvants (eau + solvant organique), comme les tanins de galle mixte, la mesure des deux indices est nécessaire pour montrer qu'ils appartiennent aux deux catégories d'extraction. Cependant, ces mesures ne permettent pas d'évaluer le % de chaque solvant employé.

2 - Essai de mesure de la qualité technologique

Les conditions de préparation et de conservation des tanins œnologiques modifient fortement leur qualité et donc leur efficacité. La mise au point d'un indice, illustrant cela, s'avère utile.

Au cours de l'obtention des tanins, les températures trop élevées ou une macération trop longue du matériel de base, provoquent une dégradation des tanins hydrolysables, en particulier des ellagitannins sensibles aux oxydations (MOULTONNET, communication personnelle). La mesure de l'indice d'ellagitannins (fig. 5c) est donc un bon indice de la qualité et de la rapidité de l'extraction des tanins. Plus l'indice d'ellagitannins est bas (abstraction faite des différences variétales) et moins les préparations commerciales seront riches en principe actif. La mauvaise lyophilisation des tanins avant leur conditionnement et leur expédition, provoque une augmentation importante de l'acidité volatile (tableau IV) ; surtout pour les extraits aux solvants organiques (alcool, éther). Or un travail soigné de déshydratation rapide et complète permet de limiter le taux d'acide acétique (Acide acétique < 1 mg/g pour les extraits à l'alcool, éther et < 0.5 mg/g pour les extraits à l'eau) de certains produits.

IV - Application des résultats à la différenciation de quelques tanins commerciaux

Cette dernière partie, se propose de vérifier les possibilités de classement correct des tanins commerciaux, en fonction de leur origine botanique et de leur mode d'extraction. Il s'agit également de contrôler la validité des informations portées sur l'étiquetage.

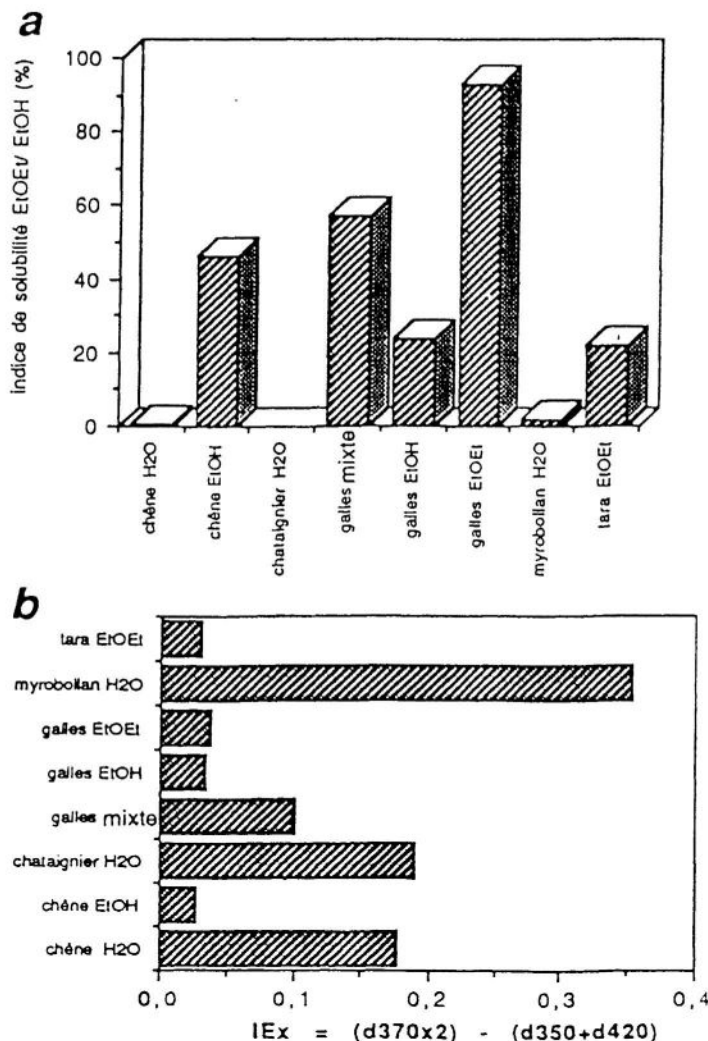


Figure 9a : Baque d'interprétation des indices de solubilité (a) et de solvant (b), utilisés pour la recherche du solvant d'extraction

galle mixte : galle extraites par l'eau et des solvants organiques

Tableau IV : Incidence du type de tanin et du mode d'extraction sur le résultat du dosage de l'acidité volatile

	Acidité volatile mg d'acide acétique/g de tanins
chêne eau	2,4
chêne éthanol	7,5
châtaignier eau	3,2
châtaignier éthanol	0,3
galles eau	0,9
galles éthanol	5,4
galles éther	5,7
marc raisin eau sulfitée	0,0
pépins raisin eau	6,3
tara éther	6,0

5g de tanins / 50ml d'eau
acidité volatile méthode Jaulmes

A partir d'un échantillonnage différent de celui utilisé pour fixer les valeurs limites des différents critères de classification, nous avons pratiqué la série d'analyses permettant de connaître l'origine botanique et le mode d'extraction. Les résultats sont rassemblés dans le tableau V. Les 10 échantillons choisis sont tous correctement identifiés, avec 7 variables (tanins proanthocyaniques, catéchines, spectres UV, scopolétine, acide digallique, IEx et IS); si on en retient 5 (catéchines, spectres UV, scopolétine, acide digallique et IEx), les identifications restent toutes correctes; pour seulement 4 (catéchines, spectres UV, scopolétine et IEx).

Tableau V : Identification de quelques échantillons de tanins commerciaux
Conditions : — le manipulateur ne possède aucune information sur les échantillons
— l'identification est effectuée à partir des valeurs limites définies précédemment.

Échantillons	Tanins proanthocyaniques mg/g	Catéchines mg/g	Spectre U.V (I)	Acide digallique ug/g	Scopolétine ug/l	IEx	Is %	Identification (origine botanique/mode d'extraction)
1	0,2	2,16	U	abs	6,2	0,17	2	Chêne/H ₂ O
2	5,4	175,6	B	abs	abs	0,26	3,6	Tanin de raisin/H ₂ O
3	1,2	1,08	U	abs	8,4	0,14	0,8	Chêne H ₂ O
4	0,1	2,04	B	1,84	0,74	0,01	57	Noix de galle/EtOEt
5	abs	0,51	U	abs	1,26	0,24	1,5	Châtaignier/H ₂ O
6	0,06	1,13	B	2,63	abs	0,03	72	Noix de galle/EtOEt
7	0,08	1,24	U	abs	4,9	1,4	0	Chêne/H ₂ O
8	0,01	2,67	U	abs	7,5	2,8	1,2	Chêne/H ₂ O
9	abs	0,27	U	abs	0,08	1,5	0,3	Châtaignier/H ₂ O
10	8,02	56,86	B	abs	abs	0,31	1,6	Tanin de raisin/H ₂ O

Tableau VI : Vérification des renseignements fournis par le fabricant sur le produit

N°	Informations sur l'étiquette		Critères analytiques						Identification à partir des résultats de l'analyse		Étiquetage (+) correct (-) incorrect
	origine botanique	mode d'extraction	Catéchines mg/g	Spectres U.V (I)	Scopolétine ug/l	Acide digallique ug/g	IEx	Is %	Origine botanique	Mode d'extraction	
1	Chêne	H ₂ O	0,68	U	6,5	—	1,5	2,6	Chêne	H ₂ O	+
2	Chêne	EtOH	1,54	U	8,1	—	0,02	47	Chêne	EtOH	+
3	Noix de galle	EtOH	2,56	B	abs	1,26	0,008	4,5	Noix de galle	EtOH	+
4	Noix de galle	EtOEt	0,74	B	traces	0,97	0,7	58	Noix de galle	H ₂ O/EtOEt	—
5	Chêne	H ₂ O	1,08	U	1,3	traces	1,2	abs	Châtaignier	H ₂ O	—

(I) : U : Unimodale ; B : bimodale

Les échantillons 4 et 6 peuvent être confondus avec des tanins de bois exotiques. 5 analyses semblent donc suffisantes pour différencier les tanins fréquemment rencontrés. Dans le cas de résultats douteux il convient alors de pratiquer les analyses complémentaires (tanins proanthocyaniques et IS).

Pour vérifier l'étiquetage nous pratiquons le même type d'analyse sur des tanins commerciaux dont on ne connaît que les indications fournies par le fabricant et apposées sur le produit vendu. Les résultats sont regroupés dans le tableau VI. Il semble, d'après les limites que nous nous sommes fixées, que pour deux produits l'étiquetage est incorrect (échantillon n° 4 et 5). Pour l'un (n° 4) le mode d'extraction est inexact (mélange H₂O/EtOEt au lieu de EtOEt), pour l'autre (n° 5) c'est l'origine botanique qui est inexacte (châtaignier au lieu de chêne). Ce type de fraude permet de vendre à prix plus élevés des produits sous le prétexte de grande pureté (galle EtOEt) ou de qualité susceptible d'apporter du boisé aux vins (chêne H₂O).

Conclusion

La qualité et la pureté des tanins étaient jusqu'alors mesurées par rapport à un tanin de référence, en l'occurrence le tanin extrait de noix de galle par l'éther. Cette préparation est en effet riche en phénols totaux (d280, IFC, 1 permanganate), mais renferme peu de tanins hydrolysables; on y retrouve beaucoup d'acide digallique aux caractères gustatifs astringents et amers. Sa capacité à flocculer les protéines n'est pas meilleure que pour les autres catégories de produits testés. Enfin, établir un protocole d'appréciation de la fraction tanique des préparations commerciales avec le tanin de galle, comme référence, est peu satisfaisant, dans la mesure où les résultats du dosage varient en fonction du tanin de galle choisi. Nous préférons donc mesurer la

pureté d'un tanin par la mesure de la $d_{280\text{nm}}$ plus spécifique et reproductible : les résultats étant exprimés en mg d'acide gallique par kg, le pourcentage de « tanin pur » peut alors être calculé par rapport à une solution d'acide gallique de même concentration. La qualité des tanins commerciaux n'est pas seulement liée à la richesse en polyphénols totaux, mais aussi aux modes d'extraction (l'eau permettant de donner davantage de composés et en particulier des tanins hydrolysables), à la richesse en tanins de bois (indices d'ellagitanins et de gallotannins) et à une faible acidité volatile, gage d'un bon conditionnement.

Tableau VII : Critères retenus pour la différenciation des origines botaniques des préparations industrielles de tanins œnologiques

	Tanins extraits de				
	Chêne	Châtaignier	Galles	Bois exotiques	raisins
Catéchines mg/g	< 10	< 10	< 10	< 10	> 10
Tan. proanth. mg/g	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	> 0.5
Spectre unimodal [1] bimodal [2]	1	1	2	2	2
Scopolétine mg/g	> 4	< 4	traces	traces	abs
Ac. digallique mg/g	traces	traces	2 à 10	traces	abs

La détermination de l'origine botanique et du mode d'extraction est désormais possible (tableau VII et VIII). Des mesures complémentaires permettent de renseigner sur la qualité du produit et de son mode de conservation. Les méthodes utilisées sont rapides et nécessitent le plus souvent un équipement simple.

Des travaux en cours tentent de révéler des marqueurs variétaux plus spécifiques, permettant une classification des tanins exotiques ainsi que des chênes et des châtaigniers autres que *Quercus pedunculata* ou *sessilis* et *Castanea sativa*. Les premiers résultats ont permis de distinguer le chêne et le châtaignier par la scopolétine, le quebracho par l'ombelliférone et les noix de galle par l'acide digallique. Cependant, les bois exotiques restent peu utilisés dans le domaine des tanins œnologiques et donc la recherche de marqueurs pour ces produits n'est pas prioritaire.

L'application de mesures spectrophotométriques, chimiques et chromatographiques, permet de vérifier l'origine botanique et le mode d'extraction des préparations commerciales. Le contrôle de l'étiquetage est alors possible.

Tableau VIII : Critères retenus pour la différenciation des modes d'extractions des préparations industrielles de tanins œnologiques

	Extraction à l'eau	Extraction par des solvants organiques
Indice d'extractibilité (IE _x)	> 0.05	< 0.05
Indice de solubilité (IS)	< 5%	> 5%

En plus du dosage des métaux lourds, de l'arsenic, du fer et du cuivre, le dosage de l'acide acétique et l'évaluation du taux de tanins hydrolysables (ellagitanins et gallotannins) garantissent un suivi de la qualité des produits. Exception faite des contraintes réglementaires, cette étude apporte une meilleure connaissance de ce type de produits. Leur rôle dans les phénomènes oxydatifs et peroxydatifs du contenu phénolique des vins est important [GLORIES, 1988] ; leur étude, plus spécifique, peut alors être envisagée.

Remerciements : Nous remercions vivement M.H. SALAGOITY et C. TRICARD pour leurs conseils amicaux et leur aide.

Bibliographie

- BATE-SMITH E.C. (1972). Determination of ellagitanins in wood extract. *Phytochem.* 58, 238-241.
- FERRE L. (1958). *Traité d'œnologie bourguignonne*. INAO ed., Paris.
- GLORIES Y. (1988). Les phénomènes oxydatifs liés à la conservation sous bois. *Connaissance Vigne Vin*, n° spécial « le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vie », 81-93.
- HASLAM E. (1965). *Acer* species. *Phytochem.* 68, 560-562.
- MARCHE M., JOSEPH E. (1972). Contribution à l'étude du vieillissement du cognac. *com. vigne vin* (6), 3, 273-330.
- MAYER W., SEITZ M. and SCHILLING G. (1969). Structure des Castalagins. *Liebig's Annalen*, 721, 186-193.
- MAYER W., SEITZ M., JOCHIMS J.C., SCHWERTER K. and SCHILLING G. (1971). Structure des Vescalagins. *Liebig's Annalen*, 751, 60-68.
- METCHE M., GIRARDIN M. (1980). Les tanins des végétaux. in « Les polymères végétaux : polymères parietaux et alimentaires non azotés ». B. MONTIES, coll. biochimie appliquée. Gauthier-Villars ed., Paris, 252-288.
- Mc MURROUGH L., Mc DOWELL J. (1978). Chromatographic separation and automated analysis of flavanols. *Analy. Biochem.* 91, 92-100.
- MOUTOUNET M., RABIER Ph., PUECH J.-L., VERETTE E. and BARILLERE J.M. (1989). Analysis by HPLC of extractable substances in wood. Application to a chardonnay wine. *Sciences Alim.*, 9, 35-51.
- Codex Œnologiques (1978). *Tanicum acidum* 113-115. ed OIV.
- RIBERAU-GAYON J., PEYNAUD E., RIBERAU-GAYON P. et SUDRAUD P. (1977). *Traité d'œnologie*. Tome IV. Dunod ed., Paris.
- RIBERAU-GAYON P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod ed. Paris.
- RIBERAU-GAYON P. (1970). Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chim. Anal.* 52, 627-631.
- SALAGOITY Marie-Hélène, TRICARD C., MARSAL F., SUDRAUD P. (1986). Preliminary investigation for the differentiation of enological tannins according to botanical origin : determination of gallic acid and its derivatives. *Am.J. Enol. Vitic.* 37, 301-303.
- SALAGOITY Marie-Hélène, TRICARD C., SUDRAUD P. (1987). Dosage simultané des aldéhydes aromatiques et des coumarines par HPLC. Application aux vins et eaux-de-vie vieillis en fûts de chêne. *J. Chromatogr.* 392, 379-387.
- SALAGOITY Marie-Hélène (1988). La scopolétine : un marqueur de la conservation en fûts de chêne. *Connaissance vigne vin n° spécial « le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vie »*, 101-112.
- SCALBERT A., DUVAL L., PENG S., MONTIES B. et DU PENHOAT L. (1990). Polyphenols of *Quercus robur* L. II : preparative isolation by low pressure and high pressure liquid chromatography of heartwood ellagitanins. *J. Chromatogr.* 502, 107-119.
- SINGLETON V.L. and ROSSI J.A. (1965). Colorimetry of phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-159.
- TRICARD C. et SALAGOITY M.H. (1986). La scopolétine : un marqueur de la conservation en fûts de chêne. *Connaissance Vigne Vin*, 21, 1, 33-42.