LA BIBLIOTHEQUE R&D DEMPTOS
www.demptos.fr
Publications scientifiques et techniques

Ann. Fals. Exp. Chim. - Juillet 1993 - 86 - N° 919 - pp. 215-222

TECHNIQUES DE CONTROLE ET D'ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES TANINS ŒNOLOGIQUES (1)

Nicolas VIVAS*, Serge CHAUVET, Pierre SUDRAUD** et Yves GLORIES*****

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.

SUMMARY

CHECKING TECHNICS AND QUALITY EVALUATION OF THE ENOLOGICAL TANNINS

Recognition and identification of commercial preparations of enological tannins require the setting of rapid and reproductive measures. Aiming at that, we have modified the "OIV" measurement protocol of tannins purity and established a serie of factors. That allows us to distinguish rapidly, the botanical origin and extraction mode of preparations.

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

Finally, some indications insure distinction between extraction of water and organic solvents (ethanol, ether) ; others allow us to prejudge the care taken for manufactured products.

---

(1) Communication orale présentée le 27 mai 1993 aux Journées Régionales du Sud-Est - Grenoble.

** Chargé de recherches de la tonnellerie Demptos, détaché à l'Institut d'Œnologie, Université de Bordeaux II.*

*** Laboratoire de la Répression des Fraudes. DGCCRF. 351, cours de la Libération, 33405 Talence*

**** Institut d'œnologie, Université de Bordeaux II. 351, cours de la Libération. 33405 Talence.*

INTRODUCTION

Face à la diversité des tanins mis sur le marché (1), 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 (2). Ce sont ces résultats que nous présentons dans ce travail.

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. 1. - Tanins testés

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

- des produits fabriqués au laboratoire à partir de sciure de chêne et de châtaignier extraits à l'eau, à l'alcool ou à l'éther diéthylique.

- des produits commerciaux représentatifs (n = 23) de la gamme des préparations utilisées en œnologie.

I. 2. - Méthodes analytiques

a) Dosage des phénols totaux par la méthode au permanganate de potassium (codex œnologique, OIV), au réactif de FOLIN-CIOCALTEU (3) et par la mesure de la DO 280 nm (4). 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 (5). 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 recoivent 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 (ΔDO550 x 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 (10).

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 hydrolysables : les gallotanins sont dosés selon le principe de HASLAM (6). 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 d'acide trigallique. L'acide digallique est dosé par HPLC selon la méthode décrite par SALAGOITY et al. (7)

Les ellagitanins sont estimés par la méthode de BATE-SMITH (8). A 1 ml de solution de tanins on ajoute 1 ml de méthanol et 0,16 ml d'acide acétique à 6% ; on laisse barboter sous azote 10 mn, puis on verse 0,16 ml de nitrite de sodium à 6 %,

quelques secondes de barbotage on bouche hermétiquement. La coloration est maximale et stable en 60 mn ; la lecture se fait à 600 nm et les résultats sont donnés en mg/l d'équivalent vescalagine/castalagine ; 0,8/1,2 ; p/p (purifiées par CCM d'un extrait de châtaignier aqueux, les produits étant identifiés à partir de références (9).

f) dosage des coumarines par HPLC : la méthode utilisée s'inspire de celle de SALAGOITY et al (7). Les coumarines sont extraites de 20 ml de solution par 3 fois 20 ml d'éther diéthylique, la phase organique est rassemblée par décantation, évaporée à sec et reprise par 20 ml d'eau distillée. Nous employons une colonne de silice greffée C18 et un détecteur fluorimétre à double sensibilité (excitation à 340 nm ; émission a 425 nm). Le solvant A = eau milliQ acidifiée par 3 % d'acide acétique et le B = acétonitrile RP acidifié par 3 % d'acide acétique (2).

II. RÉSULTATS ET DISCUSSION

II. 1. - Critères de différenciation des tanins commerciaux :

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, I permanganate), mais renferme peu de tanins hydrolysables ; on y retouve beaucoup d'acide digallique aux caractères gustatifs astringents et amers. Sa capacité à floculer 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 d280 nm plus spécifique et reproductible ; les résultats étant exprimés en mg d'acide gallique par kg, le poucentage 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 d'avantage de composés et en particulier des tanins hydrolysables), à la richesse en tanins de bois (indices d'ellagitanins et de gallotanins) et à une faible acidité volatile, gage d'un bon conditionnement.

TABLEAU I

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)	1	1	2	2	2
bimodal (2)					
scopolétine µg/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 I et II). Des mesures complémentaires permettent de renseigner sur la qualité du produit et 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 pedonculata* 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.

TABLEAU II

critères retenus pour la différenciation des modes d'extraction des préparations industrielles de tanins œnologiques

	extraction a l'eau	extraction par des solvants organiques
Indice d'extractibilité (IEx)	> 0,05	< 0,05
Indice de solubilité(IS)	< 5 %	> 5%

IEx : (DO 370 x 2) - (DO 350 + DO 420)
IS : % de solubilité de 5 g de tanins dans 100 ml d'un mélange éther éthylique/éthanol ; 9/1 ; v/v.

II. 2. - Application des résultats à la différenciation de quelques tanins commerciaux

Nous nous proposons 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.

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 III.

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), les échantillons 4 et 6 peuvent être confondus avec des tanins de bois exotiques. 5 analyses semblent donc suffisantes pour différencier les tanins fréquement 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 IV. Il semble, d'après les limites que nous nous sommes fixées, que pour deux produits l'étiquetage est incorrect (échantilon n° 4 et 5). Pour l'un (n° 4) le mode d'extraction

est inexact (mélange H_2O/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 H_2O).

CONCLUSION

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.

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 gallotanins) 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 ; leur étude, plus spécifique, peut alors être envisagée.

TABLEAU III

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

Echantillons	Tanins proanthocyaniques mg/g	Catéchines mg/g	Spectre U.V (1)	Acide digallique µg/g	Scopolétine µg/l	IEx	IS %	Identification (origine botanique/mode d'extraction)
1	0,2	2,16	U	abs	6,2	0,17	2	Chêne/H_2O
2	5,4	175,6	B	abs	abs	0,26	3,6	Tanin de raisin/H_2O
3	1,2	1,08	U	abs	8,4	0,14	0,8	Chêne/H_2O
4	0,1	2,04	B	1,84	0,74	0,01	87	Noix de galle/EtOEt
5	abs	0,51	U	abs	1,26	0,24	1,5	Chataignier/H_2O
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_2O
8	0,01	2,67	U	abs	7,5	2,8	1,2	Chêne/H_2O
9	abs	0,27	U	abs	0,08	1,5	0,3	Chataignier /H_2O
10	8,02	56,86	B	abs	abs	0,31	1,6	Tanin de raisin/H_2O

(1) U : unimodal ; B : bimodal

TABLEAU IV

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
	origine botanique	mode d'extraction	Catéchines mg/g	Spectres U.V (1)	Scopolétine µg/g	Acide digallique ug/g	IEx	IS %	origine botanique	mode d'extraction	(-)incorrect
1	Chêne	H_2O	0,68	U	6,5	-	1,5	2,6	Chêne	H2O	+
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	H2O/EtOEt	-
5	chêne	H_2O	1,08	U	1,3	traces	1,2	abs	Chataignier	H20	-

(1) U : unimodal ; B : bimodal

RÉFÉRENCES BIBLIOCRAPHIQUES

(1) Anonyme, Traitement des vins : additifs et auxiliaires d'élaboration, Journal international des sciences de la vigne et du vin, Bordeaux, 1990, 79-81.

(2) CHAUVET S. ; VIVAS N. ; SUDRAUD P. et GLORIES Y., Les tanins œnologiques : caractérisation de la nature des produits commerciaux, *Rev. Œnol.*, 1992, **64**, 8-10.

(3) SINGLETON V.L. and ROSSI J.A., Colorimetry of phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acid reagent, *Am. J. Enol. Vitic.* 1965, **16**, 144-159.

(4) RIBEREAU-GAYON P., Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges, *Chim. Analyt.*, 1970, **52**, 627-631.

(5) Mc MURROUGH I. and Mc DOWELL J., Chromatographic separation and automated analysis of flavanols. *Analyst. Biochem.*, 1978,91, 92-100.

(6) HASLAM E., Acer species. *Phytochem.*, 1965, **22**, 1123-1132.

(7) SALAGOITY M.H ; TRICARD C. et SUDRAUD P., Dosage simultané des aldéhydes aromatiques et des coumarines par HPLC. Application aux vins et eaux-de-vie vieillis en fûts de chêne, *J. Chromatogr.*, 1987, **392**, 379-387.

(8) BATE-SMITH E.C, Determination of ellagitannins in wood, *Phytochem.*, 1973, **12**, 907-912.

(9) SCALBERT A. ; DUVAL L. ; PENG S. ; MONTIES B. and DU PENHOAT L., Polyphenols of *Quercus robur.L* II : preparative isolation by low pressure and high pressre liquid chromatography of heartwood ellagitannins. *J. Chromatogr,* 1990, **502**, 107-119.

(10) RIBEREAU-GAYON J. ; PEYNAUD E. ; RIBEREAU-GAYON P. et SUDRAUD P., Traité d'œnologie, **tome IV**, DUNOD ed, Paris, 1977.