



Recherches sur les lignines du duramen de *Q. robur* L. et *Q. petraea* Liebl. Identification dans les vins d'une fraction lignines solubilisées au cours de l'élevage en barriques

Nicolas VIVAS^{1*}, Guy BOURGEOIS², Isabelle PIANET DE BOISSEL²,
 Christelle ABSALON² et Christine VITRY²

¹Tonnellerie Demptos, détaché au Centre d'Étude Structurale et d'Analyse des Molécules
 Organiques, 351 cours de la Libération, 33405 Talence cedex (France) ;

²Centre d'Étude Structurale et d'Analyse des Molécules Organiques, CNRS (France)

(Accepté après révision le 15 novembre 1998)

Résumé : Dans ce travail, nous avons regroupé les études réalisées sur la caractérisation de lignines de bois de chêne et sur l'identification de fractions solubles dans des vins, après élevage en barriques neuves. Les deux types de lignines extraites du bois de cœur de *Q. robur* et *Q. petraea* présentent des différences appréciables. Il s'agit de LE, lignine extraite en milieu hydroalcoolique acide (PM 23 kDa) et de LD extraite à chaud par le dioxane acidifié (PM 45 kDa). L'analyse des spectres 2D de type TOCSY et HMQC confirme que les deux lignines contiennent principalement des noyaux phénoliques monométhoxylés (Gaiacyles) et diméthoxylés (Syringyles) reliés par des liaisons β -O-4 aryl-ether prépondérantes. LD se distingue de LE par une proportion plus importante de noyaux G. Au cours d'un passage prolongé en barriques neuves, issue de ces deux espèces de chênes, une fraction soluble de lignine est mise en évidence dont le rapport S/G est sensiblement égal à 0,5.

Mots clés : chêne, duramen, lignines, structure, vins, barriques

INTRODUCTION

Le bois de cœur de chêne est riche en lignines. Selon les auteurs et les méthodes d'extraction employées, elles représentent 25 à 30 % du poids sec du bois (BROWNING et ISENBERGE, 1952 ; LAI et SARKANEN, 1971 ; FENGEL et WEGENER, 1984 ; JOUIN *et al.*, 1988). Les lignines imprègnent la paroi cellulaire (ROWELL, 1984) et sont principalement localisées dans la paroi primaire (CATESSON, 1980). Depuis les travaux de KLAUDITZ (1952 et 1957), on attribue leur participation aux propriétés mécaniques du bois et à leur hydrophobicité. Le caractère hétérogène des lignines est un facteur important (MONTIES, 1980) qui est à l'origine de la grande variabilité de composition et de structure entre espèces (FAIX, 1991 ; ROLANDO *et al.*, 1992), au sein d'une même espèce (LAPIERRE, 1986 ; LAPIERRE *et al.*, 1986a et b) et même en fonction de leur position dans les tissus (HARDELL *et al.*, 1980). Ainsi, les quelques travaux consacrés à la structure des lignines de chêne (MONTIES, 1992) sont difficilement généralisables et restent dépendants de l'échantillonnage et des objectifs, souvent spécifiques, de l'étude.

*pour toute correspondance

Les *Q. robur* et *petraea* sont aujourd'hui très largement utilisés pour l'élevage des vins et des eaux-de-vie (TARANSAUD, 1976). Leur composition et leurs propriétés anatomiques et mécaniques les ont fait préférer aux autres essences (STEVENS et TUERNER, 1970 ; SACHSSE, 1984 ; SINGLETON, 1995). Les lignines du bois de chêne, comme chez tous les angiospermes, sont des polymères tridimensionnels constitués par la copolymérisation de deux alcools phénylpropénoïques : alcool hydroxy-4-méthoxy-3-cinnamique (structure gaïacyle ; alcool coniférylique), alcool hydroxy-4-diméthoxy-3,5-cinnamique (structure syringyle ; alcool sinapylique). Au cours de l'élevage des vins (SINGLETON, 1974 ; FEUILLAT, 1982 ; NAUDIN, 1986) et de la maturation des eaux-de-vie (BRICOUT, 1971 ; PUECH, 1984 ; PUECH, 1992) en barriques, de nombreux aldéhydes phénoliques, provenant de la dégradation des lignines, diffusent. Il s'agit principalement de la vanilline et de la syringaldéhyde et secondairement de la coniféraldéhyde et de la sinapaldéhyde (GUYMON et CROWELL, 1968 ; PUECH *et al.*, 1982 ; CAUMIEL, 1983). Les lignines peuvent également être partiellement solubilisées ; on rapporte leur présence, essentiellement dans les eaux-de-vie (PUECH, 1978 ; VIRIOT *et al.*, 1993). Au cours du travail et du traitement du bois à la tonnellerie, de nombreux facteurs sont susceptibles d'altérer la structure des lignines et de favoriser leur dégradation (VIVAS *et al.*, 1991a ; MONTIES, 1992 ; PUECH, 1992). Parmi ces opérations, on peut citer le séchage naturel ou artificiel en étuve et le cintrage suivi du brûlage des douelles. Des mécanismes d'ordre biochimique, chimique et physique sont envisageables.

La barrique en bois constitue un très ancien récipient destiné à la fois à la vinification, à l'élevage, au transport et à la conservation des vins (TARANSAUD, 1976). Mais le bois n'est pas un matériau inerte : il favorise d'abord les échanges gazeux entre le vin et l'atmosphère environnante et permet ensuite la dissolution de nombreux constituants sapides et odorants qui participent aux caractères organoleptiques des vins (VIVAS *et al.*, 1991b ; VIVAS, 1995). C'est essentiellement de la durée du séjour en barrique que dépend l'intensité de ces diverses réactions. Pour de longues périodes, le vin est à ce point modifié que sa composition et sa qualité sont radicalement différentes de celles du départ.

Dans ce travail, nous regroupons nos connaissances sur la structure des lignines de deux espèces françaises largement utilisées en tonnellerie, *Q. robur* et *Q. petraea*, et mettons en évidence une fraction lignine soluble, provenant de la barrique neuve.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

I- ORIGINE DES ÉCHANTILLONS DE BOIS

Les échantillons sont constitués par le bois de cœur d'arbre provenant des forêts de l'Allier (France) pour *Q. petraea* et du Limousin pour *Q. robur*. Leurs caractéristiques botaniques ont été vérifiées (JACQUIOT *et al.*, 1973 ; WALKER, 1978). Deux séries d'échantillons provenant des mêmes régions, mais de deux approvisionnements, sont constituées. Les arbres ont en moyenne 150 et 175 ans pour les deux séries d'échantillons de *Q. petraea* et 80 et 110 ans pour *Q. robur*. Les échantillons sont réduits en copeaux par rabotage, puis réduits en sciure par broyage dans l'azote

liquide. Les différentes zones du bois de cœur ne sont pas distinguées : proche de l'aubier, au centre de l'accroissement et à proximité du centre de l'arbre. Elles sont mélangées et constituent un échantillon moyen représentatif de l'ensemble du duramen.

II- ORIGINE DES ÉCHANTILLONS DE VINS

Pour notre étude, nous avons retenu des vins élevés en barriques neuves ou en cuve pour confirmer la spécificité de réponse de la méthode de caractérisation des lignines. Les études analytiques ont porté sur :

- 7 vins blancs secs des Graves (Sauvignon, 1996),
- 11 vins blancs secs de l'Entre-deux-Mers (Sauvignon, 1996),
- 8 vins rouges de Saint-Émilion (Merlot, 1995),
- 6 vins rouges du Médoc (Cabernet Sauvignon, 1995),
- 3 vins liquoreux de Sauternes (Sémillon, 1993),
- 1 vin rouge du Médoc (cépages inconnus, 1868).

III - EXTRACTION ET PURIFICATION DES LIGNINES DE BOIS

Deux fractions lignines ont été retenues. Elles ont été choisies pour leurs caractéristiques différentes. Il s'agit de la lignine native de Brauns ou lignine éthanol « LE » et de la lignine dioxane « LD ».

1) Extraction et purification de LE

100 g de sciure sont débarrassés de leur extractible par macération dans 3 x 1 l d'eau (40°C, 12 h), puis par 1 x 1 l de chloroforme (20°C, 12 h). La sciure est ensuite séchée à l'étuve (30°C, 24 h) et mise à macérer dans 5 l d'EtOH 95 % vol. ajusté à pH = 5 avec de l'acide acétique (24 mois à température ambiante et à l'obscurité). L'extrait est filtré, évaporé à l'évaporateur rotatif (40°C) et purifié par 5 précipitations successives à l'eau (précipitation : 5 x 1 l d'eau à 5°C, centrifugation : 3500 tpm, 15 min.). La poudre obtenue est lavée par 2 x 50 ml d'éther diéthylique, lyophilisée et conservée dans un dessiccateur. Son aspect est pulvérulent, de couleur beige clair.

2) Extraction et purification de LD

100 g de sciure sont débarrassés de leur extractible par macération dans 3 x 1 l d'eau (40°C, 12 h), puis par 1 x 1 l de chloroforme (20°C, 12 h) et enfin, par 2 x 1 l d'EtOH/H₂O (9:1) (20°C, 12 h). La sciure est séchée à l'étuve (30°C, 24 h) avant d'être extraite 6 H par 1 l de dioxane contenant 100 ml d'HCl 12N. Le mélange est maintenu sous reflux. La liqueur d'extraction est filtrée, évaporée à l'évaporateur rotatif (40°C), puis traitée de la même façon que LE. La poudre obtenue est chamois pâle.

IV- THIOACIDOYSE ET ANALYSE GC-MS DES PRODUITS FORMÉS SOUS FORME DE DÉRIVÉS TRIMÉTHYLSYLILES

La méthode appliquée est décrite dans le détail par ROLANDO *et al.* (1992). Elle a été mise au point par LAPIERRE (1986). Elle consiste en une thioacidolyse de la lignine

(BF₃ dans du dioxane/e ; 8,75:1). Les produits de dégradation, se présentant sous formes de dérivés thioéthylés, sont analysés par GC-MS après silylation (BSTFA/TMS). Seules les doses de réactifs préconisées par les auteurs ont été doublées. L'analyse GC-MS des produits de thioacidolyse est réalisée dans les conditions suivantes : colonne CPSil 5 (25 m, di 0,25 mm), température de l'injecteur 240°C, programme de température de 120°C à 260°C à raison de 4°C/min. Le spectromètre de masse est un Saturn 4D™ de Varian (Ions trap).

V- ANALYSES RMN DES LIGNINES EXTRACTIBLES LE ET LD

Les spectres RMN sont obtenus après acétylation. La peracétylation de chacune des fractions (LE et LD) est conduite dans la pyridine/anhydride acétique (1/1, v/v), suivie d'une précipitation dans l'eau. Le produit peracétylé est alors repris par le chloroforme, puis soigneusement séché par un courant d'azote (N₂, 50 ml/min).

Les spectres RMN sont enregistrés dans le chloroforme deutérié sur un Bruker DPX 400. Les spectres TOCSY sont enregistrés pour un temps de mélange de 100 ms. Les spectres HMQC sont réalisés avec un gradient de champ B₀. 64 scans sont accumulés avec des fenêtres spectrales de 17600 Hz et 3600 Hz respectivement pour ¹³C et ¹H. La résolution est de 68,8 Hz/point pour ¹³C et 3,6 Hz/point pour ¹H.

VI- DOSAGE DES LIGNINES DANS LES VINS JEUNES (VIVAS *et al.*, 1997)

Tant que les vins ne présentent pas de dépôts abondants de composés phénoliques, les lignines peuvent être directement dosées dans une prise d'essai de vin.

Une prise d'essai de 20 ml de vin est évaporée à sec sur un évaporateur rotatif (< 30°C). Puis la solution de thioacidolyse (BF₃ dans le dioxane/ethanéthiol, 8,75:1) est ajoutée en fonction de la nature du produit à analyser. Pour nos échantillons, nous avons retenu : pour les vins blancs (0,5 vol. de solution de thioacidolyse/ 1 vol. de vin), pour les vins rouges (1 vol. de solution/ 1 vol. de vin) et pour les liquoreux (2,5 vol. de solution/ 1 vol. de vin). Nous employons ensuite la méthode de thioacidolyse décrite par ailleurs (cf. IV).

VII- DOSAGE DES LIGNINES DANS LES VINS TRES VIEUX (VIVAS *et al.*, 1998b)

Dès que le vin présente un large dépôt, les lignines doivent être collectées dans le dépôt après centrifugation et dialyse.

Au cours du temps, il se produit une lente précipitation de la plus grande part des composés phénoliques. Nous récoltons alors la fraction phénolique insoluble au fond de la bouteille par centrifugation (10 000 tpm, 10 min.). Puis l'élimination des substances de faible poids moléculaire éventuellement présentes dans le précipité est réalisée par dialyse contre 40 l d'eau distillée désionisée. Le précipité est lyophilisé et 50 mg sont utilisés pour déterminer la présence de lignines. Nous employons la méthode de thioacidolyses décrites par ailleurs (cf. IV).

Tableau I
Principaux produits de thioacydolyse des fractions lignines de bois de cœur de chêne
 (Résultats exprimés en % du total des produits de thioacydolyse identifiés)

Pic chromatographique [†]	Produits identifiés (GC/MS) [‡]	<i>Q. robur</i>		<i>Q. petraea</i>	
		LE	LD	LE	LD
	Produits de thioacidolyse des xylanes	22,7	22,6	22	23,6
1	CHR2-CH2R	19,3	18,4	19,5	19,7
2	CHR2-CHR-CH2R	3,4	4,2	2,5	3,9
	Produits de thioacydolyse des lignines	77,3	77,4	78	76,4
	<i>Structures syringyles</i>	37,8	48,5	40,6	44,8
3	SCHR2	0,8	0,5	0,3	0,7
4	SCH2-CHR2	1	2,8	1,7	2,5
5 et 6	SCHR-CHR-CH2R (érythro/thréo)	29,5	33,1	30,7	26,9
7	SCH2-CHR-CHR2	6,5	12,1	7,9	14,7
	<i>Structures gaiacyles</i>	39,5	28,9	37,4	31,6
8	GCH2-CHR2	0	1,4	0	2,1
9	GCHR-CHR-CH2R (érythro/thréo)	32,1	6	29,2	5,8
10 et 11	GCH2-CHR-CHR2	7,4	21,5	8,2	23,7
	S/G	0,95	1,67	1,08	1,41

[†] cf. VIVAS *et al.*, 1998 ; [‡] cf. figure 1

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I- CARACTÉRISATION DES LIGNINES EXTRACTIBLES DU BOIS : LE ET LD

1- Étude par thioacydolyse et GC/MS

Le tableau 1 rassemble le pourcentage des produits de thioacidolyse identifiés (figure 1). On note que les résultats d'identification ainsi que l'allure générale des chromatogrammes sont identiques pour les deux espèces et les deux séries d'échantillons. Les pics 1 et 2 ont été attribués à des produits de thioacidolyse de xylanes. Ils ont essentiellement pour origine les unités xylose de ces polysaccharides. Elles sont considérées comme des impuretés. Dans les différentes fractions, nous retrouvons exclusivement des unités guaiacyle et syringyle en proportions variables selon la fraction considérée. Les lignines du bois de cœur de *Q. robur* et *Q. petraea* appartiennent au groupe des lignines guaiacyle-syringyle (lignines GS).

Sur les chromatogrammes des différentes fractions, les pics 10, 11 et 5, 6 sont les plus importants et correspondent aux principaux produits de thioacidolyse ; ils sont respectivement attribués aux formes érythro-thréo des monomères guaiacyles et syringyles des lignines. Le pic 3 (forme S) est issu des groupes benzaldéhyde terminaux, il disparaît par réduction au NaBH4. Le pic 4 (forme S), présent en faible proportion dans LE et LD, a pour origine une voie mineure de la réaction qui provoque une élimination des groupes γ -hydroxyméthyl (ROLANDO *et al.*, 1992) ; elle se produit aussi de façon secondaire lors des acidolyses (LUNDQUIST, 1976). LD se distingue des deux autres fractions par une augmentation du rapport S/G liée à une diminution des éthers alkyl aryl guaiacyle (pics 10, 11) et une augmentation de leur homologue syringyle (pics 5, 6 et surtout 7). L'augmentation du rapport G/S est

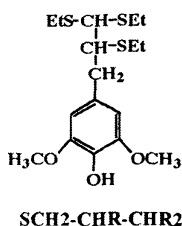
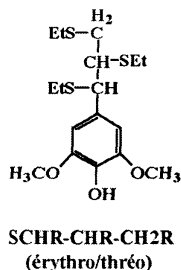
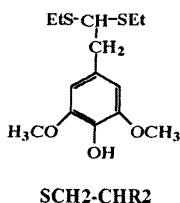
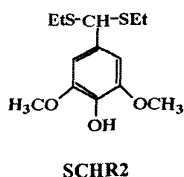
cependant limitée par l'augmentation d'une des formes guaiacyle (pic 9). Le pic 8 (forme G) est absent ou de trop faible intensité pour être identifié dans LE. Le rapport S/G est voisin de 1 pour LE.

Quantitativement, la comparaison des aires des différents pics sur des chromatogrammes à même échelle, en utilisant l'hexacosane (C26) comme étalon interne, montre que LD est la fraction la plus riche en produits de dégradation. On l'estime entre 15 et 20 % en plus par rapport à LE. Le fait de ne pas disposer de formes monomères pures ne nous a pas permis de quantifier les formes G et S dans les différentes fractions. L'étude par RMN permettra d'approfondir la connaissance structurale des fractions analysées.

2- Étude par RMN mono et bidimensionnelle

Structure des chaînes latérales. Sur les figures 2 et 3, on observe deux types de liaisons : β -O-4 et β - β (figure 4). Pour les liaisons β -O-4, on distingue les 2 taches dues respectivement au HC α , HC β et les 2 protons, notés H et H' du Cy. Les liaisons

Structures des dérivés syringyles



Structures des dérivés guaiacyles

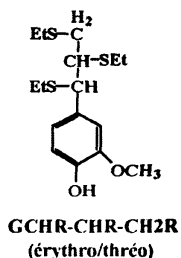
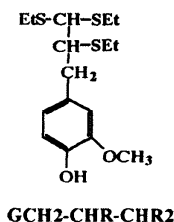
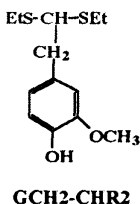


Figure 1 - Structure des produits de thioacydolyse identifiés dans des fractions de lignines analysées.

(EtS : éthanethiol ; S : motifs syringyles ; G : motifs guaiacyles ; R : Ets)

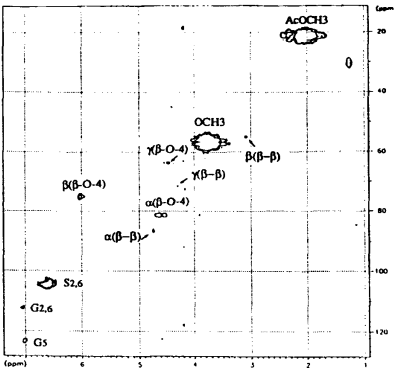


Figure 2 - Détail de la carte 2D HMQC de LD

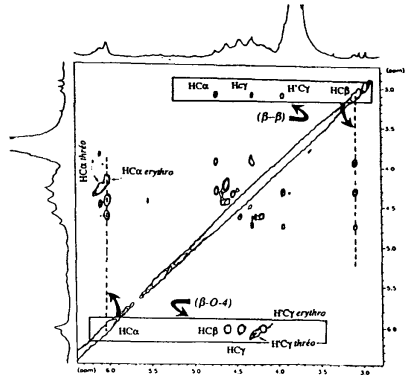


Figure 3 - Détail d'une expérience TOCSY sur LE

β -O-4 existent sous deux formes, érythro et thréo mises en évidence sur le spectre 1D ^1H ; le HC α a un δ proche de 6,0 ppm pour la forme érythro et de 6,1 ppm pour la forme thréo. Les structures β - β présentent 4 taches attribuées au HC α , HCB et aux deux protons HC γ et H'CY, indiquant une configuration axiale et équatoriale de la liaison en accord avec les données de la littérature (EDE *et al.*, 1990). La résonance des formes axiales et équatoriales est située dans une zone chargée du spectre, située autour de 4,5 ppm.

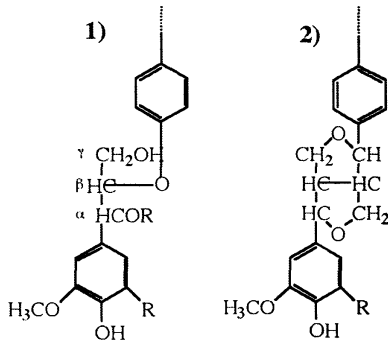


Figure 4 - Principales unités phénoliques et liaisons intermonomériques des lignines de bois de chêne

(1 : liaisons β -O-4 aryl-éther ; 2 : liaison éther β - β « pinorésinol » ; R = H motif gaïacyle ; R : OCH $_3$ motif syringyle)

Substitution des noyaux aromatiques. Nous avons attribué, à partir des données de la littérature (LAPIERRE *et al.*, 1986a ; EDE *et al.*, 1990), les signaux sur le spectre 1D des ^1H des noyaux syringyles (δ 6,6 ppm) et gaïacyles (δ 6,9-7,05 ppm) ; ainsi que les ^{13}C , dont les déplacements chimiques sont distincts (δ 104 ppm pour C2 et C6 et 153 ppm pour C3 et C5 des motifs syringyles et 112 ppm pour C2, 119 ppm pour C5 et 123 ppm pour C6 des motifs gaïacyles).

Analyse structurale quantitative. L'attribution de tous les protons et des carbones des deux fractions lignines étant réalisée (tableau 2), il est possible de quantifier certains aspects structuraux de la molécule. LE possède un rapport S/G plus faible que LD (1,1 et 2,7 respectivement pour LE et LD). Ce qui indique que LE est une lignine avec une proportion équilibrée de motifs S et G ; LD au contraire présente une prépondérance de motifs S. Le rapport β -O-4 érythro/thréo est égal à 1 pour LE et

Tableau II
Attribution RMN des ^1H et ^{13}C des fractions lignines LE et LD
 (les déplacements chimiques δ sont donnés en ppm avec le TMS comme référence)

N°	δ (ppm)		Attributions [†]
	^1H	^{13}C	
1	—	171	COOH des acétyles
2	—	153	S3,5
3	7,0	123	G6
4	6,9-7,0	119	G5
5	7,05	112	G2
6	6,6	104	S2,6
7	6,0	74	$\alpha(\beta\text{-O-4})^*$
8	4,75	86	$\alpha(\beta\text{-}\beta)$
9	4,6	81	$\beta(\beta\text{-O-4})^*$
10	3,9-4,3	72	$\gamma(\beta\text{-}\beta)^{\#}$
11	4,1-4,4	63	$\gamma, \gamma(\beta\text{-O-4})^*$
12	3,7	56	OCH3
13	3,1	54	$\beta(\beta\text{-}\beta)$
14	2,3	21	CH3 des acétyles phénoliques
15	2,0	21	CH3 des acétyles des chaînes aliphatiques

* avec deux formes érythro/thréo ; # axiale et équatoriale ; † cf. figures 2 et 3

Tableau III
Détermination de la proportion des différents éléments constituant les lignines LE et LD
 (S : unité syringyle ; G : unité gaïacyle ;
 $\beta\text{-O-4}$: liaisons aryl éther $\beta\text{-O-4}$ des chaînes latérales ; $\beta\text{-}\beta$: liaisons C-C des chaînes latérales)

		LE	LD
Chaînes latérales	$n\beta\text{-O-4}^*$	10	9
	$\beta\text{-O-4}$ érythro/thréo	1,0	1,0
	$n\beta\text{-}\beta^*$	0,3	1
Noyaux aromatiques	$n\text{S}^*$	8	16
	$n\text{G}^*$	7	6
	S/G [†]	1,1	2,7
	$\beta\text{-O-4}/\text{G}$	1,3	1,5
	$\beta\text{-}\beta/\text{G}$	0,05	0,2

* nombre de liaisons $\beta\text{-O-4}$, $\beta\text{-}\beta$ et de motifs aromatiques G et S calculé à partir de la Mw déterminée par LSIMS (Mw : LE = 2900, LD = 3900).

[†] rapport des motifs syringyls/gaïacyls.

LD. Les rapports $\beta\text{-O-4}/\text{G}$ et $\beta\text{-}\beta/\text{G}$ sont respectivement de 1,3 et 0,05 pour LE et 1,5 et 0,2 pour LD.

Connaissant d'une part la masse molaire de LE et LD déterminée par spectrométrie de masse en mode positif LSIMS (respectivement 23 kDa et 45 kDa pour LE et LD ; EDE *et al.*, 1990) et d'autre part les différents rapports obtenus à partir des données RMN et cités ci-dessus, il est possible de calculer le nombre approximatif de chaque élément structural identifié. À partir de cette démarche, nous proposons des caracté-

ristiques structurales pour les deux fractions lignines LE et LD regroupées dans le tableau 3. Le rapport $(G + 2.S)/OCH_3$ est proche de 0,8 pour LE et LD. Théoriquement, il devrait être de 1 (1 OCH_3 par unité G et 2 par unité S). L'estimation de la structure de la molécule est donc réalisée avec une erreur de 20 %, écart acceptable pour une macromolécule.

II- MISE EN ÉVIDENCE ET CARACTÉRISATION DES LIGNINES SOLUBLES DANS LES VINS

1- Mise en évidence de lignines dans les échantillons de vins

Il convient de noter que pour les vins qui n'ont pas subi de contact prolongé avec du bois, les chromatogrammes ne présentent pas les produits typiques des lignines.

Les analyses des thioacidolysats après dérivation (triméthylsilyllation) donnent relativement peu de pics identifiés en GC-MS (figure 5). À partir des spectres de masse enregistrés en impact électronique, nous retrouvons deux structures provenant des motifs monométhoxylés (gaïacyles G) et deux provenant des motifs diméthoxylés (syringyles S) des lignines. Les spectres enregistrés pour ces molécules sont

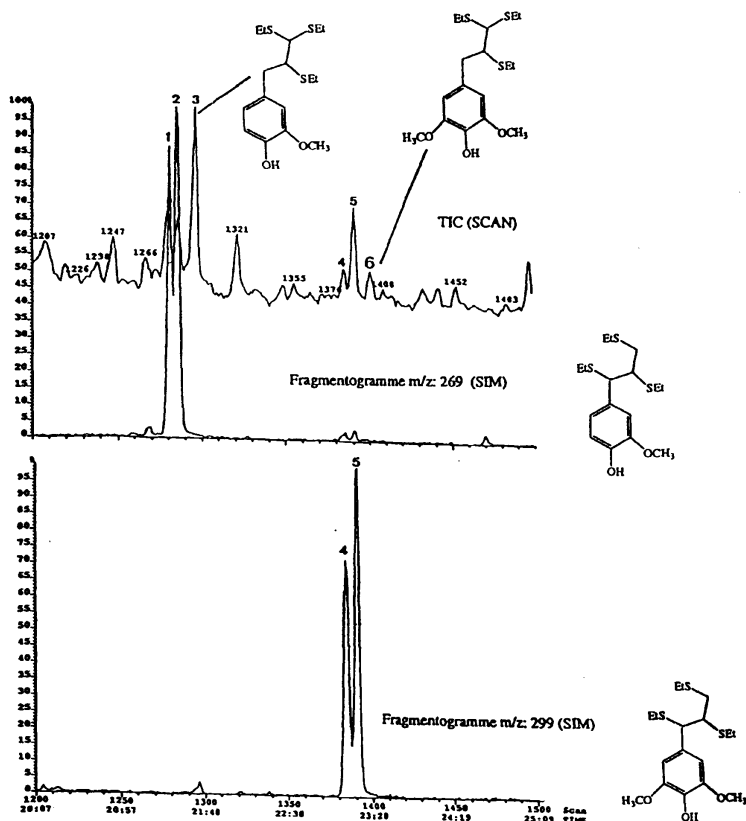


Fig. 5 - Chromatogrammes de formes triméthylsilyllées provenant de la thioacidolyse de fraction de lignines solubles dans un échantillon de vin rouge

Tableau IV
Application de la méthode de thioacidolyse à différents échantillons de vins.
Calcul du rapport S/G

Échantillons	Vins blancs secs (n = 18)	Vins rouges jeunes (n = 14)	Vin rouge vieux (1868)	Vins blancs liqueureux (n = 3)
S/G	0,5 ±0,12	0,45 ±0,17	0,42	0,47 ±0,08

conformes à ceux qui sont enregistrés pour les lignines pures et les données de la littérature (ROLANDO *et al.*, 1992). Les produits 1 et 2 se présentent chacun sous formes de deux pics correspondant à leurs formes érythro/thréo respective. Les seules molécules formellement identifiées comme produits de thioacidolyse des lignines sont typiques des liaisons β -O-4 des lignines.

La présence de lignines de type SG est caractéristique des bois d'angiospermes. Les identifications de ces différents produits de thioacidolyse mono- et diméthoxylés indiquent que le vin est resté en contact avec du bois pendant plusieurs mois. En effet, si les ellagitanins sont très rapidement solubilisés, en revanche, la dissolution de lignines nécessite un long séjour en barriques et constitue donc l'indication d'une phase d'élevage de quelques mois.

2- Comparaison des lignines solubles de différents vins

Sur l'échantillonnage de vins collectés, nous avons appliqué la méthode de thioacidolyse. Il s'avère que les vins élevés en barriques neuves présentent tous des teneurs appréciables en lignines. Le rapport entre les dérivés S et G a été calculé (tableau 4) ; il indique que tous les vins présentent une composition assez similaire en dérivés S et G de l'ordre de 0,5. Ainsi la fraction lignine, extraite par un milieu hydroalcoolique, est caractérisée par une forte proportion d'unités G monométhoxylées. Au contraire des travaux antérieurs, VIRIOT *et al.* (1993) ont montré que pour les eaux-de-vie, milieu principalement alcoolique, le rapport S/G est proche de 1, parfois légèrement supérieur (S/G max : 1,2). Ces résultats suggèrent des différences dans les conditions d'extraction en fonction de la proportion d'eau et d'éthanol.

CONCLUSION

Les lignines de haut poids moléculaire, issues du bois de cœur de chêne (LD dans notre étude), sont riches en unités syringyles. Ce qui est en accord avec les résultats obtenus par JOUIN *et al.* (1988) pour *Q. robur*, ceux de LAPIERRE (1986) pour *Populus sp.* et ceux plus généraux de ROLANDO *et al.* (1992) pour *Populus euramerica*, *Pinus pinaster*, *Picea abies*. La lignine de Klason correspondant à la forme la plus réticulée des lignines est plus riche en unités syringyles que LD (S/G : 2,10 d'après JOUIN *et al.* (1988), alors que S/G : 1,4 pour LD). Inversement, les lignines de masse plus faible et potentiellement extractibles durant l'élevage des vins et des eaux-de-vie en barriques, sont caractérisées par un équilibre entre unités syringyles et gaïacyles. Il apparaît que LD est la fraction lignine la plus pure, LE en considérant son protocole d'extraction, proche des conditions des vins et des eaux-de-vie, est probablement la fraction lignine qui sera extraite et se retrouvera dans les vins et les eaux-de-vie.

L'étude RMN ^1H et ^{13}C 1D et 2D homo et hétéronucléaire confirme les interprétations précédentes. Elle permet en outre de compléter l'étude structurale des fractions lignines. La masse moléculaire élevée ne permet pas de conduire à une structure exacte ; mais l'application de la RMN quantitative (ROBERT et GAGNAIRE, 1980 ; GAGNAIRE et ROBERT, 1982) permet d'accéder à la composition monomérique et aux types de liaisons majoritaires : LE est une lignine GS et LD est une lignine S avec une majorité de liaisons $\beta\text{-O-4}$ entre les unités phénoliques élémentaires. Pour l'avenir, la synthèse de lignines de chêne enrichies en ^{13}C est à envisager pour approfondir les informations structurales. L'intérêt d'une telle démarche est renforcé par les travaux fructueux obtenus sur la lignine de peuplier (MONTIES *et al.*, 1982 ; LAPIERRE *et al.*, 1984).

Remerciements : Ces travaux ont été réalisés avec l'aide du Conseil Régional d'Aquitaine.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BRICOUT J., 1971. Analyse de quelques constituants dérivés du chêne dans les vieilles eaux-de-vie d'Armagnac. *Ann. Technol. Agric.*, **20**, (3), 217-223.
- BROWNING B.L. and ISENBERG I.H., 1952. *In : Wood chemistry*. L.E. Wise and E.C. Jahn (Eds.), Academic press, New York, 1259.
- CATESSON A.M., 1980. Les tissus végétaux. Ultrastructure, biogénèse. *In : Les polymères végétaux : polymères pariétaux et alimentaire non azotés*. B. Monties (Ed.). Bordas, Paris, 1-29.
- CAUMIEL M., 1983. *Le Cognac*. Pour la science. 48-56.
- EDE R.M., BRUNOW G., SOMOLA L.K. et LEMMETYINEN J., 1990. Two-dimensional ^1H - ^1H chemical shift correlation and J resolved NMR studies on isolated and synthetic lignins. *Holzforschung*, **44**, 95-101.
- FAIX O., 1991. Classification of lignins from different botanical origins by FT-IR spectroscopy. *Holzforschung*, **45**, Suppl., 21-27.
- FENGEL D. et G. WEGENER, 1984. *Wood : Chemistry, ultrastructure, reaction*. De Gruyter, Berlin, 58 p.
- GUYMON J.F. et E.A. CROWELL, 1968. Separation of vanillin, syringaldehyde and other aromatic compounds in the extracts of French and American woods by brandy and aqueous solution. *Qual. Plant. Mat. Veget.*, **16**, 320-333.
- HARDELL W.E., G.J. LEARY, M. STOLL et U. WESTERMARK, 1980. Variation in lignin structure in defined morphological part of service. Variation in lignin structure in defined morphological parts of birch. *Svensk papperstid.*, **83**, 44-49 and 71-74.
- JACQUIOT C., Y. TENARD et D. DIROL, 1973. *Atlas d'anatomie des bois des angiospermes. Essences feuillues*. Tome I et II. CTB-CNRS, Paris.
- JOUIN D., M.-T. TOLLIER and B. MONTIES, 1988. Lignification of oak wood. I- Lignin determination in sapwood and heartwood. *Cellulose Chem. Technol.*, **22**, 231-243.
- KLAUDITZ W., 1952. Zur biologisch-mechanischen wirkung des lignins in stammholz der nadel und laubhör. *Holzforschung*, **6**, 70-82.
- KLAUDITZ W., 1957. Zur biologisch-mechanischen wirkung des lignins in stammholz der nadel und laubhözer. *Holzforschung*, **11**, 110-116.
- LAI Y.Z. et K.V. SARAKANEN, 1971. *In : Lignins : Occurence, formation, structure, reactions*, Chap. 5. Sarakanen K.V. and Ludwig C.H. (Eds.), p 150.
- LAPIERRE C., 1986. Hétérogénéité des lignines de peuplier : Mise en évidence

systematique. *Thèse doctorat d'état*. Université Paris-sud, 305 p.

LAPIERRE C., B. MONTIES et C. ROLANDO, 1986a. Thioacidolysis of poplar lignins : Identification of monomeric syringyl products and characterization of guaiacyl-syringyl lignin fraction. *Holzforschung*, **40**, 113-118.

LAPIERRE C., B. MONTIES et C. ROLANDO, 1986b. Preparative thioacidolysis of spruce lignin : Isolation and identification of main monomeric product. *Holzforschung*, **40**, 47-51.

LUNDQUIST K., 1976. Low-molecular weight lignin hydrolysis products. *Appl. Polymer. Symp.*, **28**, 1393-1407.

MONTIES B., 1980. Les lignines. In : *Les polymères végétaux. Polymères pariétaux et alimentaires non azotés*. Monties B. (Ed.), Bordas, Paris, 122-155.

MONTIES B., 1992. Composition chimique des bois de chêne : Composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux-de-vie. In : *Le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vie*. Guimberteau G., ed. Vigne et Vin Publications Internationales, Bordeaux, 59-72.

PUECH J.-L., 1978. Vieillissement des eaux-de-vie en fûts de chêne. Extraction de la lignine et de ses produits de dégradation. *Thèse*, Université Paul Sabatier, Toulouse.

PUECH J.-L., 1984. Characteristics of oak wood and biochemical aspects of armagnac ageing. *Am. J. Enol. Vitic.*, **35**, 77-81.

PUECH J.-L., 1992. Influence du bois de chêne sur les caractéristiques analytiques des eaux-de-vie. In : *Le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vie*. Guimberteau G. (Ed.), Vigne et Vin Publications Internationales, Bordeaux, 123-134.

PUECH J.-L., R. LEAUTE, G. GLOT, L. NONDEDEU et H. MONDIES, 1982. Étude de la lignine et de ses produits de dégradation dans les eaux-de-vie de Cognac. *Bull. Groupes Polyphénols*, **11**, 605-611.

ROLANDO C., B. MONTIES et C. LAPIERRE, 1992. Thioacidolysis. In : *Methods in lignins chemistry*. Lin S.Y. and Dence C.W. (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, 334-349.

ROWELL R., 1984. The chemistry of solid wood. *Adv. Chem. Ser. ACS* **207**, 1-614.

SACHSSE H., 1984. *Einheimische nutzhölzer und ihre bestimmung nach makroskopischen merkmalen*. Pareys Studentexte 44, Verlag Paul Parey, Berlin, 160 p.

SINGLETON V.L., 1974. Some aspects of wooden container as a factor in wine maturation. In : *Chemistry of wine making*. ACS serie 137, Webb A.D. (Ed.), 311 p.

SINGLETON V.L., 1995. Maturation of wines and spirits : Comparisons, facts, and hypotheses. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 98-115.

STEVENS W.C. et N. TURNER, 1970. *Wood bending handbook*. Her majesty's stationery office, London, 109 p.

TARANSAUD J., 1976. *Le livre de la tonnellerie*. La roue à livres diffusion, Paris.

VIRIOT C., A. SCALBERT, C. LAPIERRE et M. MOUTOUNET, 1993. Ellagitannins and lignins in ageing of spirits in oak barrels. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1872-1879.

VIVAS N., Y. GLORIES, B. DONECHE et E. GUEHO, 1991a. Observations sur la microflore du bois de chêne au cours de son séchage naturel. *Ann. Sci. Nat. Bot. (Paris)*, **11**, 149-153.

VIVAS N., GLORIES Y. et FRANÇOIS J., 1991b. Mise au point sur l'élevage des vins rouges en fût de chêne. *Rev. Enol.*, **17**, 62, 17-21.

VIVAS N., 1995. La qualité du bois de chêne et son utilisation pour la vinification et l'élevage des vins. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **1**, 1-16.

VIVAS N., BOURGEOIS G., VITRY C. et GLORIES Y. 1997. Characterisation by thioacidolysis of lignins from red wines aged in oak barrels. In « *In Vino Analytica Scientia* », 208-211.

VIVAS N., PIANET I., BOURGEOIS G., VITRY C., SERVENS C. et GLORIES Y., 1998a. Lignin fractions from *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl., the main oak species used for barrel making. *Am. J. Enol. Vitic.*, **49**, 49-55.

VIVAS N., BOURGEOIS G. et GLORIES Y., AUGUSTIN M. et VITRY C., 1998b. Détection CPG/SM des biomarqueurs

spécifiques de l'élevage des vins en barriques. *Analysis*, **26**, 88-92.

WALKER F.S., 1978. Pedunculate and sessile oaks : Species determination from differences in their wood. *In : Dendrochronology in Europe*. Fletcher J. (Ed.), British archeological reports, series **51**, 329-338.