

Propriétés et intérêts des tanins œnologiques extraits du raisin

N. VIVAS

Centre d'Étude Structurale et d'Analyse des Molécules Organiques (CESAMO)
Université Bordeaux 1, 351, Cours de la Libération, 33405 Talence.

Les tissus végétaux contiennent des quantités variables de composés phénoliques, dont une partie au moins est soluble. Il s'agit d'une voie de défense passive des plantes, limitant assez efficacement le développement de champignons, de bactéries et les attaques par divers insectes. L'emploi de ces extraits végétaux riches en tanins est en relation avec leur propriété d'association avec les protéines ; c'est essentiellement dans le tannage des peaux que l'emploi de tanins s'est généralisé en quantité industrielle. On les retrouve aussi dans l'agro-alimentaire, pour modifier le goût.

En œnologie, on les utilise pour faciliter les opérations de collage et traiter, dans une certaine mesure, le surcollage. Mais les nombreuses propriétés des tanins laissent entrevoir un vaste champ d'applications, ne se limitant plus seulement aux problèmes de collage (1). Dans un but de contrôle des informations fournies sur l'étiquetage, nous avons développé un certain nombre d'indices permettant à la fois de déterminer la teneur en tanins des produits commerciaux, donc en substances actives et leurs origines : bois exotique, chêne, châtaignier, galles, ... (2, 3).

Sur le marché on retrouve deux grandes classes de tanins :

- Les tanins hydrolysables qui donnent par acidolyse soit de l'acide gallique (gallotannins), soit de l'acide ellagique (ellagitannins).
- Les tanins condensés qui donnent par butanololyse un anthocyanidol généralement le cyanidol (procyanidols) et le delphinidol (prodelphinidols).

Dans la pratique, on accorde souvent aux tanins un rôle de structuration. Si le mécanisme est incontestable, il a en revanche deux origines (4) :

- Les tanins condensés participent directement, en formant des combinaisons avec les proanthocyanidols et les anthocyanes du vin.
- Les tanins hydrolysables participent indirectement aux phénomènes en favorisant lors des réactions d'oxydation, la production d'éthanal.

Dans les vins, l'intérêt est de pouvoir disposer de préparations de tanins de même nature que ceux du raisin. Ces derniers pouvant alors participer à la structure tannique globale des vins, modifier l'équilibre tanins/anthocyanes, en assurant l'amélioration de la stabilisation de la matière colorante ; charpenter un vin pour permettre une évolution correcte au cours de l'élevage, en limitant les risques d'amaigrissement et de sécheresse ; modifier le rapport tanins pellicules / tanins pépins en travaillant soit avec des préparations à base de pellicules de raisins blancs ou de pépins frais, on agit alors sur le profil des vins et sur leur réponse à l'oxygène ; conduire efficacement l'élimination des protéines excédentaires car il s'avère que seuls les tanins condensés sont actifs pour flocculer avec les protéines (1).

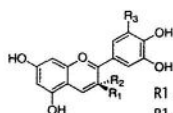
On peut s'étonner du manque de produits de cette catégorie sur le marché des adjuvants œnologiques. Aujourd'hui une nouvelle gamme de préparations a fait son apparition : préparées à partir de raisins blancs frais, elles permettent de conserver l'essentiel des matières actives sous une forme native et non transformée comme cela peut l'être dans le cas des marcs de rouges issus de la vinification et de la macération. Ensuite le principe de préparation du produit

lui assure une complète dissolution dans les vins à l'inverse des autres produits existants. C'est donc une nouvelle génération de produits qui répond aux contraintes qualitatives et permet des actions ciblées, spécifiques.

1 Nature et diversité des tanins de pépins et de pellicules

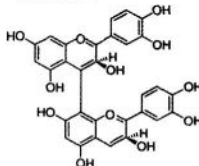
Dans le raisin et le vin, l'essentiel de l'extrait phénolique est représenté par les tanins condensés (syn. proanthocyanidols) et les anthocyanes monoglucosides. Les proanthocyanidols résultent de la polymérisation d'unités élémentaires de flavanols liées soit en C₄-C₆ soit en C₄-C₈. Une partie est partiellement galloylée. Dans le vin, à la faveur de réactions d'oxydation, on assiste à la production d'éthanal permettant la formation de combinaisons par l'intermédiaire de ponts éthyls (figure 1).

MONOMÈRES

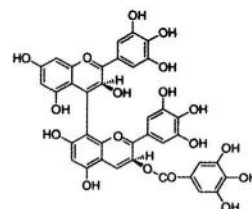


R1 = OH, R2 = H, R3 = H : Catéchine ; R3 = OH : Gallocatéchine
R1 = H, R2 = OH, R3 = H : Epicatéchine ; R3 = OH : Epigallocatéchine

DIMÈRES

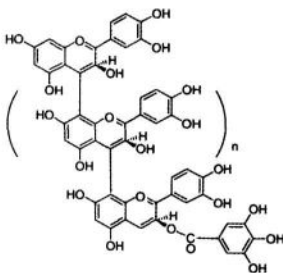


Exemple de procyanidine dimère (C₄, C₆)



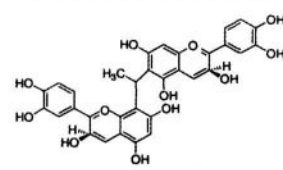
Exemple de prodelphinidine dimère (C₄, C₆) monogalloylée

OLIGO & POLYMÈRES



Exemple d'un polymère de procyanidine galloylée

ADDUITS ETHYL-FLAVANOLS



Exemple d'une catéchine-éthyl-catéchine

Figure 1- Structure des flavanols et des proanthocyanidines du raisin et du vin.

Suivant la nature de la solution et son mode de conservation, des polymérisations, des condensations ainsi que des réactions avec les macromolécules peuvent intervenir.

Pour déterminer la composition en proanthocyanidols, différentes techniques peuvent être utilisées. Pour les formes monomériques (flavanols), dimériques et certains trimères, l'analyse directe des extraits par H.P.L.C. en phase inverse constitue une voie d'investigation satisfaisante.

Cependant l'essentiel des extraits renferment des formes oligomères et polymères dont l'analyse nécessite des étapes préalables de dépolymérisation (4). La facilité de clivage de la liaison

Interflavane C₄-C₆ et C₄-C₈ est utilisée pour dépolymériser à chaud en milieu acide les formes condensées, puis les monomères formés sous forme de carbocations sont stabilisés par addition d'un nucléophile ; dans ce cas un thiol. Cette méthode, dite de thioacidolyse, donne d'une part des thioéthers correspondant aux unités intermédiaires et d'autre part des flavanols natifs terminaux (figure 2).

Liaisons interflavanoliques :

— C₄-C₆

— C₄-C₈

Flavanols :

C (+)-catéchine

E (-)-épicatéchine

g galloyl

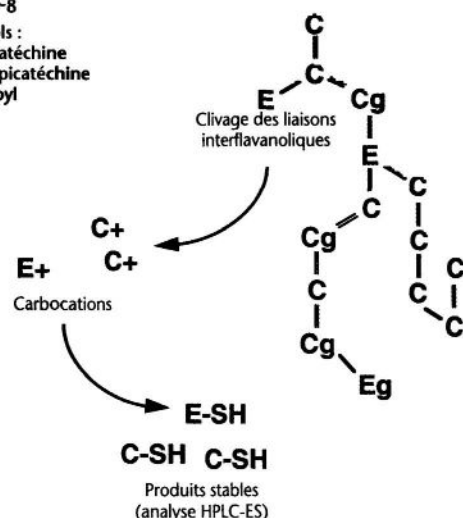


Figure 2- La thioacidolyse : une aide précieuse à la caractérisation des polymères de proanthocyanidols.

Mais on ne peut pas employer la méthode pour évaluer le poids moléculaire des tanins ; certaines formes présentent des branchements latéraux plus ou moins importants. Il ne s'agit donc pas de simples chaînes linéaires. On utilise la chromatographie de perméation de gel ou chromatographie d'exclusion, dont un exemple est donné figure 3.

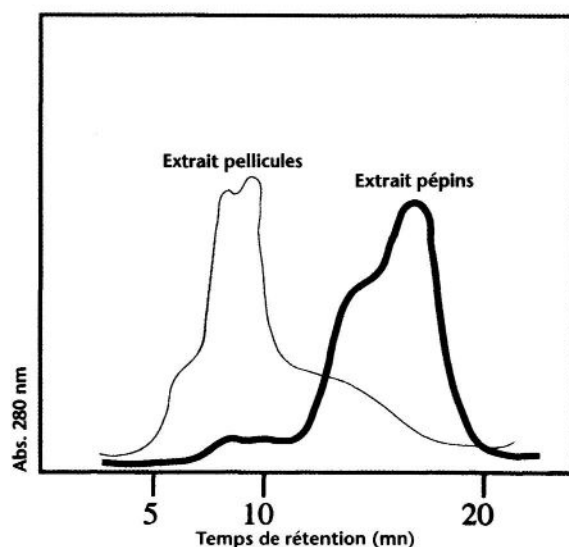


Figure 3- Chromatogramme de perméation de gel d'extraits acétone-eau (7:3) de pellicules et de pépins de Sauvignon blanc à maturité. Les extraits de pellicules sont débarrassés de la fraction polysaccharides par précipitation à l'éthanol (9:1 v:v). Les extraits sont pécacétylés, puis fractionnés sur deux colonnes d'Ultrasayragel 500 et 1000 Å (300 x 7,8 di mm), l'éluant est du THF.

À titre d'exemple nous reportons sur la figure 4 un chromatogramme d'extraits de pellicules et de pépins frais de Sauvignon blanc. La méthodologie appliquée à plusieurs échantillons nous conduit aux observations suivantes, en accord avec les travaux antérieurs de Prier et al. 1994 et Souquet et al. 1996 (5, 6) :

- les pépins : caractérisés par la présence exclusive de procyanidols, d'un degré de galloylation important, présence abondante d'épicatéchine-gallate et d'un degré de polymérisation, estimé par GCP, deux à trois fois plus faible que pour les tanins de pellicules.

- les pellicules : caractérisées par la présence de procyanidols et de prodelphinidols (épigallocatechine et traces de gallocatechine et d'épigallocatechine-gallate). Le rapport procyanidols/prodelphinidols est de l'ordre de 3/1.

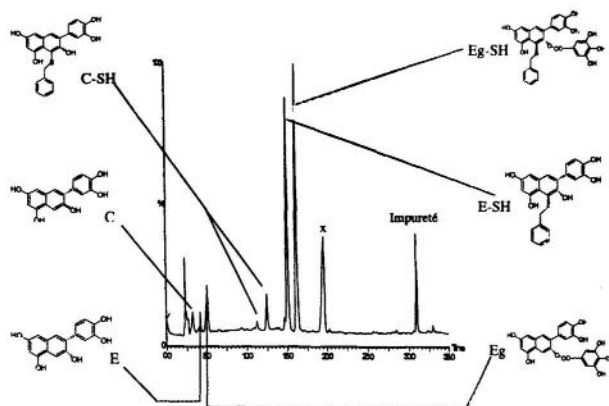


Figure 4- Application de la thioacidolyse à un extrait de pépin. C-SH : thioéther de catéchine (unité intermédiaire) ; C : catéchine (unité terminale) ; E : épicatéchine (unité terminale) ; Eg-SH : thioéther d'épicatéchine-gallate (unité intermédiaire) ; E-SH : thioéther d'épicatéchine (unité terminale) ; Eg : épicatéchine-gallate (unité terminale).

2 Chimie des composés phénoliques majeurs du vin

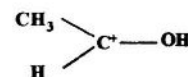
2.1- Réactions de polymérisation

2.1.1-La polymérisation directe

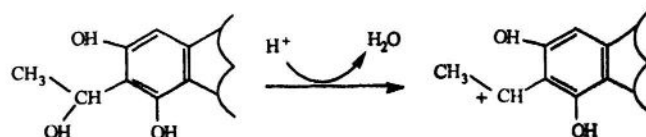
La fonction alcool en position 4, est protonée en milieu acide et éliminée sous forme d'une molécule d'eau. Il se forme un carbocation très réactif susceptible de s'additionner par réactions nucléophiles, avec des procyanidols et des flavanols. Dans le cas de procyanidols dimères et polymères, le carbocation peut également se former en milieu acide par dépolymérisation de la molécule (7).

2.1.2-La polymérisation oxydative

En présence d'oxygène, le cycle B des tanins peut former des quinones ou des semi-quinones (8) qui sont à l'origine de peroxydes susceptibles d'oxyder l'éthanol en éthanal, selon la réaction classique décrite par Chapon. L'éthanal réagit sur les sommets négatifs. En effet, en milieu acide, l'éthanal, molécule polarisée, tend à fixer un substrat électrophile, dans ce cas un proton. On obtient :

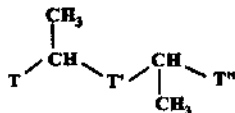


Ce cation, pour se stabiliser, réagit avec les sommets négatifs des procyanidols pour donner :



L'alcool benzylique, instable en milieu acide, perd un OH par déshydratation ; il en résulte un nouveau cation qui réagit à son tour sur un autre sommet négatif.

D'où une autre forme de polymérisation par l'intermédiaire de ponts éthyls :



2.2. Réaction avec les protéines

La principale propriété de ce groupe de molécules reste leur aptitude à réagir avec les protéines pour former des combinaisons stables. Elle dépend de la structure des tanins, c'est à dire du mode et du degré de leur polymérisation. La sensation d'astringence, due à la perte des propriétés lubrifiantes de la salive par blocage des mucoprotéines, en est une illustration. Les associations tanins-protéines peuvent être réversibles par exemple avec augmentation du pH.

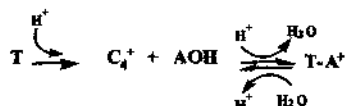
L'affinité tanins-protéines est fortement affectée par le nombre d'hydroxyles phénoliques des molécules, correspondant au nombre de sites d'interactions possibles. Si le nombre de noyaux O-diphénols augmente, on augmente alors les possibilités de formation de ponts entre protéines et tanins. La présence de trois hydroxyles adjacents améliore encore les performances de ce type de réactions. La galloylation des tanins permet aussi de rendre plus aisées les associations avec les protéines. Ainsi, à cet égard, les prodelphinidols sont plus efficaces que les procyanidols. Mais au delà de l'aspect structural, la masse moléculaire des tanins influence leur réactivité.

2.3. Combinaisons proanthocyanidols/anthocyanes

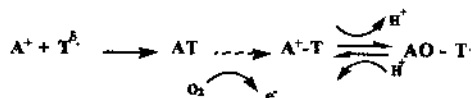
Ces combinaisons sont de couleur rouge plus foncée (nuance mauve) que celle des anthocyanes libres et également beaucoup plus stables vis-à-vis du pH et de l'anhydride sulfureux.

2.3.1. Condensation directe

Les tanins forment un carbocation (C_4^+) pouvant réagir avec les sommets négatifs des anthocyanes sous forme carbinol AOH ou chalcone C, selon le schéma réactionnel suivant :

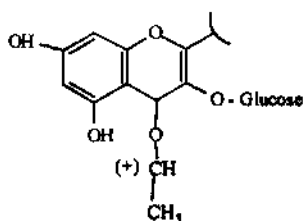


Les composés formés vont alors obéir à un nouvel équilibre et se déplacer partiellement, après perte d'une molécule d'eau, vers la forme $\text{T}-\text{A}^+$ (rouge). Dans une autre possibilité, ce sont les anthocyanes sous la forme cationique qui réagissent sur les sommets négatifs (6 ou 8) des procyanidols. On a alors formation d'une flavène incolore selon le schéma ci-dessous ; pour que le complexe devienne coloré la présence d'oxygène est nécessaire. Selon l'équilibre des différentes formes d'anthocyanes (9), on obtient :

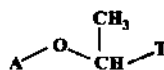


2.3.2. Combinaisons par l'intermédiaire de l'éthanal

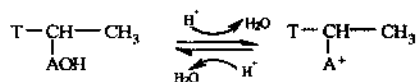
Si l'éthanal est présent dans le milieu, sa liaison $\text{C}=\text{O}$ est polarisée ; il peut donc réagir sur un élément électrophile. Selon la composition du milieu, plusieurs réactions sont possibles : si le milieu contient suffisamment d'anthocyanes sous la forme A^+ par rapport à la concentration en protons, l'éthanal se fixe préférentiellement sur celles-ci selon la réaction :



À son tour, le nouveau carbocation se stabilise en se fixant sur un sommet négatif (6 ou 8) par exemple d'une procyanidol ou d'une catéchine, d'où :



Si le milieu est relativement pauvre en anthocyanes par rapport à la concentration en ions H^+ la réaction suit le schéma de la polymérisation hétérogène des tanins ; cependant, au lieu de se fixer sur une autre procyanidol, le complexe intermédiaire se fixe sur un des sommets négatifs d'une anthocyanine sous forme incolore (AOH). D'où une forme incolore susceptible de se colorer selon un nouvel équilibre, avec élimination d'une molécule d'eau :



Timberlake et Bridle (1976) (10) privilégient l'hypothèse de la fixation du complexe intermédiaire sur les sommets négatifs des anthocyanes sous la forme A^- .

3 Possibilités d'applications des tanins œnologiques à base de raisins

En œnologie, l'emploi de tanins commerciaux produits à partir de raisins constitue un réel progrès attendu depuis nombreuses années. Cependant, tous les produits ne sont pas qualitatifs. Pour des raisons évidentes, en relation avec la structure des molécules sous formes actives (non oxydées et non polymérisées), la matière première doit être constituée par des marcs frais de raisins blancs, traités le plus rapidement possible. On note sur la figure 5, que la macération et la fermentation du marc altèrent la composition des extraits, avec formation de polymères dont la majorité sont fortement oxydés et colorés en brun marron.

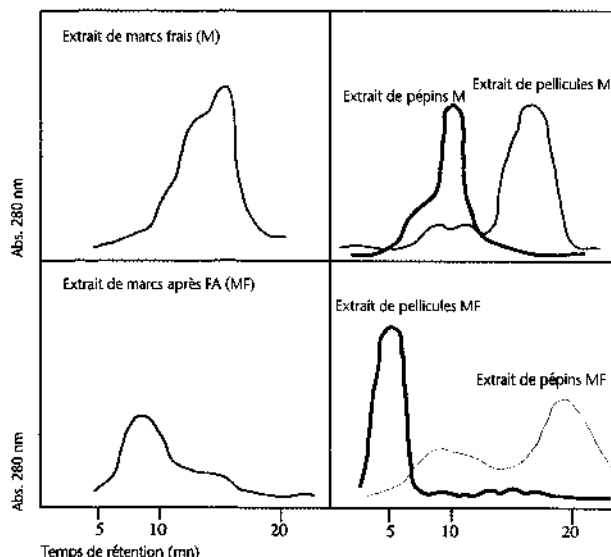


Figure 5- Chromatogramme de perméation de gel d'extraits acétone-eau (7:3, v:v) de marcs entiers frais (M), fermentés (MF) et des pellicules et pépins correspondants (M, MF). Marcs de Sémillon. Les extraits de pellicules sont débarrassés de la fraction polysaccharides par précipitation à l'éthanol (9:1 v:v). Les extraits sont peracétylés, puis fractionnés sur deux colonnes d'Ultrastaygel 500 et 1000 Å (300 x 7.8 di mm), l'éluant est du THF.

À cause des phénomènes de coloration, les marcs de raisins rouges ne peuvent pas être employés ; de plus il s'agit dans la plupart des cas de marcs après fermentation (à l'exclusion de marcs champenois de Pinot noir). Cette nouvelle génération de tanins présente des structures comparables à ceux rencontrés

dans le raisin et le vin. Leur intégration à la structure phénolique des vins est donc aisée. D'autre part, pour conserver le maximum de tanins sous formes natives, il convient de traiter rapidement les marcs frais avant toutes altérations chimiques et microbiennes.

Le choix d'utilisation entre des tanins à base de pellicules ou ceux à base de pépins, représente une possibilité de profilage des vins avant élevage. En particulier, il sera possible de rectifier un déséquilibre structural en relation avec un raisin insuffisamment mûr ou une vinification mal conduite. Nos travaux déjà anciens ont montré que :

- Les tanins de pépins, sont plutôt des oligomères, dont la réponse à l'oxygène est rapide. Les vins naturellement riches en tanins de pépins évoluent plus rapidement, même pour de faibles quantités d'oxygène.
- Les tanins de pellicules ont un degré de polymérisation supérieur ; leur réponse à l'oxygène est plus lente. Des vins naturellement riches en tanins de pellicules nécessitent, pour évoluer correctement, des quantités plus importantes d'oxygène.

En outre les tanins de raisins sont particulièrement efficaces pour l'élimination des protéines instables des vins.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) N. VIVAS. 1997. Composition et propriétés des préparations commerciales de tanins à usage œnologique. *Rev. Œnol.*, 84, 15-21.

(2) N. VIVAS, S. CHAUVET, Y. GLORIES, P. SUDRAUD, 1993. Caractérisation et définition des préparations commerciales de tanins œnologiques, *Ind. Agric. Alim.*, 110, 10, 705-713

(3) N. VIVAS, S. CHAUVET, P. SUDRAUD, Y. GLORIES, 1993. Techniques de contrôle et d'évaluation de la qualité des tanins œnologiques, *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 86, 919, 215-222

(4) N. VIVAS. 1999. Les oxydations et les réductions dans les moûts et les vins. *Feret (Ed.)*, Bordeaux, 170 p.

(5) C. PRIEUR, J. RIGAUD, V. CHEYNIER, M. MOUTOUNET, 1994. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochem.*, 36, 781-784.

(6) J.M. SOUQUET, V. CHEYNIER, F. BROSSAUD, M. MOUTOUNET, 1996. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochem.*, 43, 509-512.

(7) E. HASLAM, 1975. Natural proanthocyanidins, In "the flavonoids", J.B. HARBORN, T.J. MABRY, H. MABRY (eds.). 505-534.

(8) D.E. HATHAWAY, J.W.T. SEAKINS, 1957. Enzymatic oxidation of catechin to a polymer structurally related to some phlobatannins. *Biochem. J.*, 67, 239-242.

(9) R. BROUILLARD, B. DELAPORTE, 1977. Chemistry of anthocyanin pigments. 2. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration and tautomeric reactions of malvidin-3-glucoside. *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 8461-8467.

(10) C.F. TIMBERLAKE, P. BRIDLE, 1976. Interaction between anthocyanins phenolic compounds and acetaldehyde, and their significance in red wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 27, 97-105.

ENZYMES

...Et si, ensemble, nous parlions d'Enzymes !



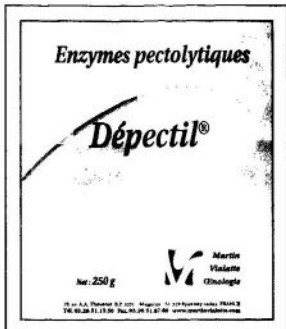
Préparation purifiée de lysozyme

Bactolyse®

Produit par **POUR**

Net 50 g

Martin Vialatte Œnologie



Enzymes pectolytiques

Dépectil®

Net 250 g

Martin Vialatte Œnologie

La gestion de la flore bactérienne

Accédez sans souci.

Bloquez la piqûre lactique.

Implantez mieux votre bactérie sélectionnée.

Stabilisez la population lactique durant l'élevage.

Une gamme complète d'enzymes

Dépectil® Clarification

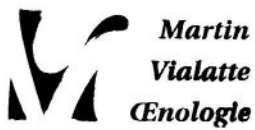
Dépectil® Clarification FCE

Dépectil® Extraction

Dépectil® Pressurage

Dépectil® Elevage

Dépectil® Ar



Martin Vialatte Œnologie

79, avenue A.A. Thévenet - B.P. 1031 - Magenta - 51319 Epervain cedex - FRANCE

Tél. 03.26.51.13.50 - Fax. 03.26.51.87.60 - www.martinvialatte.com

© 1999 Martin Vialatte Œnologie