

ÉVOLUTION DES COMPOSÉS POLYPHÉNOLIQUES DU BOIS DE CHÊNE AU COURS DE SON SÉCHAGE PREMIERS RÉSULTATS

P. CHATONNET*, J.-N. BOIDRON, D. DUBOURDIEU et Monique PONS

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

Résumé : *Pendant le séchage naturel à l'air libre du bois de chêne, on assiste à une diminution régulière de la teneur du bois en composés extractibles et notamment en composés phénoliques du type ellagitanins. La diminution de la teneur en ellagitanins provient essentiellement de la disparition des formes oligomères solubles dans l'eau ; les tanins polymérisés non extractibles car liés aux parois, évoluent peu au cours du séchage naturel à l'air libre. Les bois séchés rapidement à l'étuve possèdent toujours des quantités plus importantes de polyphénols. Dans le même temps et quel que soit le mode de séchage, on observe une diminution des coumarines glucosilées et une augmentation non proportionnelle des formes aglycones. D'un point de vue organoleptique, la diminution de l'ensemble des polyphénols pendant le séchage peut être interprétée comme favorable à l'évolution de la qualité du merrain. En effet, les fractions amères et astringentes du bois de chêne correspondent respectivement à certains tanins ellagiques et catéchiques. L'intervention des micro-organismes isolés de bois de chêne en cours de séchage naturel dans la disparition des composés phénoliques du bois est discutée. La grande majorité des moisissures étudiées est capable de dégrader enzymatiquement les tanins hydrolysables du chêne. Cependant, ces mêmes composés s'hydrolysent et s'oxydent spontanément en présence d'eau et d'oxygène. En conséquence, considérant le profil de colonisation du bois par les micro-organismes et celui des composés phénoliques extractibles, on peut supposer que l'on assiste vraisemblablement pendant le séchage naturel du bois à une dégradation biochimique et chimique des polyphénols dans les couches superficielles du merrain (0 à 4 mm de profondeur) et à une dégradation presque exclusivement chimique au coeur du merrain. La présence d'eau et d'oxygène apparaît par conséquent comme un facteur important dans l'évolution de la composition du bois pendant son séchage.*

INTRODUCTION

La conservation des vins et des eaux-de-vie dans des récipients de diverses tailles en bois est une étape indispensable à leur affinement et à leur bonification. La futaille fabriquée en chêne (*Quercus sp.*) utilise des bois spécialement sélectionnés pour cet usage qui sont d'abord fendus en merrains, afin de respecter leur intégrité et de limiter les fuites, puis lentement séchés.

*chercheur pour la tonnellerie SEGUIN-MOREAU 16103 Cognac (France)
à l'Institut d'Œnologie de Bordeaux

En effet, le merrain issu de la fente n'est pas directement utilisable en tonnellerie. A ce stade, le bois peut être fortement hydraté (35 à 60 p. cent d'humidité relative) et des variations dimensionnelles sont à craindre tant que le bois possède une humidité supérieure à 16-18 p. cent. L'humidité du bois reste un paramètre important garantissant la stabilité de l'assemblage des douelles. Cependant, il n'est pas le seul et unique facteur contrôlant l'aptitude du bois à être transformé en douelle. En effet, au cours du processus de séchage qui s'effectue traditionnellement en pile stockée à l'air libre, le bois subit également des modifications de sa composition physico-chimique. Ces modifications sont susceptibles d'influer ultérieurement sur la qualité des produits qui seront conservés sous bois ; elles sont donc assimilables à un phénomène d'affinage ou de maturation.

Différentes méthodes de séchage sont utilisées mais toutes n'assurent pas une maturation correcte. Dans la majorité des cas, le séchage est effectué en abandonnant le bois pendant plusieurs années sur un parc à l'air libre. Ce parc occupe une grande surface plane et dégagée pour permettre une circulation des vents et une exposition à l'humidité pluviale ; les piles sont surélevées afin d'éviter le pourrissement du bois et les projections terreuses ; l'empilage est conçu de manière à faciliter le plus possible la circulation de l'air (CORDIER, 1987). Malgré cela, le séchage naturel n'est pas strictement identique selon la position des merrains. Les pièces du sommet sont largement exposées à la pluie et au soleil : le séchage y sera plus rapide et des fentes ou des retraits importants sont à craindre. A l'inverse, les merrains en bas de pile sont soumis à un séchage plus lent et reçoivent le ruissellement des pièces supérieures. Pour limiter les fentes en bouts, les piles sont rapprochées les unes des autres et orientées nord-sud. De même, afin d'homogénéiser le séchage, les piles étaient traditionnellement abattues et formées de nouveau pour inverser la position des merrains chaque année.

Depuis la fin du XVIII^e siècle, le tonnelier admet que le séchage du bois progresse de 1 cm par an et nécessite donc 2 à 3 ans selon l'épaisseur des douelles (PAULIN-DESORMEAUX et OTT, 1875). Ce concept est encore largement accepté de nos jours bien que l'on sache parfaitement que l'humidité s'élimine en fait beaucoup plus rapidement. Au XIX^e siècle, le flottage du bois était souvent employé mais sans donner de résultats positifs sur la qualité des vins. De nos jours, les merrains sont en principe simplement stockés à l'air libre et exposés à tous les aléas climatiques. On admet que c'est dans ces conditions et pas dans d'autres que la qualité des bois s'améliore, quelles que soient leurs origines et leurs caractéristiques au départ.

Connaissant les fluctuations climatiques annuelles et leurs conséquences prévisibles sur l'évolution du bois, il est difficile de penser que le simple fait de conserver le bois à l'air libre sans autre disposition puisse systématiquement garantir le meilleur résultat (CHATONNET, 1993). En fait, dès la fin du XVII^e siècle, en l'absence de toute connaissance de la chimie du bois, le tonnelier avait déjà remarqué que l'abandon pur et simple des piles n'était pas forcément la meilleure solution ; plusieurs techniques de séchage combinées (à l'extérieur et sous abri) étaient employées dans les années 1790-1810 (PAULIN-DESORMEAUX et OTT, 1875).

Cet état de fait résulte essentiellement de l'absence de connaissances précises sur les transformations subies par le bois de chêne pendant sa conservation. En effet, très peu de données sont disponibles sur l'évolution de la composition physico-chimique du merrain et son incidence sur la qualité des produits qui seront conservés sous bois. Les premières observations sur ce sujet sont assez imprécises (HANKERSON, 1947 ; SINGLETON, 1972 ; MARCHE et JOSEPH, 1975). Des travaux plus récents ont tentés d'apprécier les modifications du bois au cours d'un séchage lent traditionnel ou bien accéléré par étuvage ainsi que leur incidence sur la qualité des vins ou des spiritueux (SINGLETON, 1981 ; PONTALLIER et *al.*, 1982 ; WILKER et GALLANDER, 1989 ; CHATONNET, 1992 ; SWAN et *al.*, 1993 ; SEFTON et *al.*, 1993a). Il ressort globalement, mais pas systématiquement, que le séchage naturel permet d'obtenir des résultats qualitativement supérieurs au séchage artificiel. Cependant, il n'est pas toujours évident de relier ce résultat à la composition du bois en tel ou tel élément particulier.

Dans ce travail, nous nous intéressons à l'évolution de la composition du bois au cours de son séchage prolongé sur parc à l'air libre afin de préciser d'une part, quelles sont les principales transformations du bois et d'autre part, quels sont les mécanismes qui les commandent. Ces résultats acquis, il sera alors possible de mettre en place les conditions de maturation les plus adaptées à une bonne évolution du bois destiné à l'élevage des vins et des eaux-de-vie. La première partie de ce travail s'intéresse plus particulièrement à l'évolution des composés fixes extractibles du bois de chêne *Quercus petrae* (*sessilis*), notamment aux composés phénoliques et à leur influence organoleptique.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I — PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS DE BOIS

Nous nous sommes volontairement limités à une provenance de chêne (forêt de Châteauroux) régulièrement exploitée par la tonnellerie. Le bois étudié correspond à du chêne sessile (*Quercus petrae*) à grain fin et régulier. Les merrains (3) sont prélevés à différentes hauteurs sur les piles (haut, milieu et bas) après 0, 3, 5 et 10 ans de séchage naturel sans aucun autre traitement. On recueille de la sciure de bois à différents niveaux dans les merrains à l'aide d'un foret pénétrant à la profondeur désirée (de 0 à 22 mm par pas de 1 mm en surface et de 5 mm en profondeur), en repérant la face supérieure (face au ciel) et inférieure (face au sol) de la pièce de bois. Les points de prélèvement sont multipliés (100) afin de couvrir l'intégralité de la surface. Les merrains issus d'une origine similaire mais prélevés à différents stades de vieillissement ne sont pas exactement identiques car ils ne sont pas issus de la même pièce de bois. Seuls les variations et les profils d'évolution doivent donc être comparés.

II — EXTRACTION DES ÉCHANTILLONS DE BOIS

Les échantillons de sciure de bois (20 g) sont extraits par macération dans un litre d'une solution hydro-alcoolique (éthanol 10 p. cent vol., acide tartrique 5 g/l, NaOH N qsp pH 3,5) pendant 8 jours à 20 °C avec agitation quotidienne. Les macérations sont filtrées sur coton de verre avant d'être analysées.

III — ANALYSE DES MACÉRATIONS

1) Déterminations spectrophotométriques directes

Les composés phénoliques totaux sont appréciés globalement par mesure de la densité optique à 280 nm après dilution au 1/100^e dans l'eau distillée sous 10 mm de parcours optique ($DO_{280} \pm 0,2$).

La coloration brune des solutions est mesurée d'après l'absorption à 440 nm sous 1 mm de parcours optique ($DO_{440} \pm 0,002$).

Les tanins ellagiques sont dosés ($\pm 0,5$ mg/g) par oxydation à l'acide nitreux selon la méthode proposée par BATE-SMITH (1972) et les tanins catéchiques ($\pm 0,05$ mg/g) par réaction avec la vanilline sulfurique (RIBÉREAU-GAYON, 1964).

2) Détermination des extractibles non volatils totaux

20 ml d'extrait sont évaporés à sec pendant 2 h sur un bain-marie à 100°C dans une capsule en nickel tarée. La quantité d'extrait sec est déterminée par pesée au 1/10^e mg par rapport à la même quantité de solution d'extraction n'ayant pas reçu de bois ($\pm 0,25$ mg/g).

3) Séparation et dosage des ellagitanins par chromatographie liquide haute pression

Les ellagitanins sont séparés sur une colonne de silice greffée C₁₈ (Interchrom 250 x 4,6 mm, 5 μ) à l'aide d'un gradient eau-méthanol contenant 2 p. cent d'acide formique (CHATONNET, 1991). L'identification et la quantification des différentes molécules est réalisée grâce à l'injection des composés de référence purifiés lorsqu'ils sont disponibles, d'après les données de référence de SCALBERT *et al.* (1990) et de HERVÉ DU PENHOAT *et al.* (1991) et grâce aux spectres U.V. enregistrés de 230 à 325 nm par un détecteur à barette de diodes VARIAN 9065 Polychrom.

4) Dosage des coumarines et de leurs glucosides

Pour le dosage des coumarines totales (libres + glucosidés), 10 ml d'extrait de bois sont évaporés à sec sous vide à 30°C dans un tube à bouchage SVL. On ajoute 10 ml de tampon acétate de sodium 0,05 M à pH 5,0, 100 μ l d'une préparation commerciale de β -glucosidase (NOVO 12 L, Novoferment Ltd.) et on incube 12 h à 20°C. Pour le dosage des coumarines libres, on opère de la même façon mais sans enzyme.

Après filtration sur membrane 0,45 μ , on injecte directement 20 μ l de solution sur un chromatographe HP 1090-II équipé d'une colonne de silice greffée C18 (INTERCHROM, 150 x 4,6 mm, 5 μ) thermostatée à 35°C. On programme à débit constant (0,8 ml/min) un gradient acétonitrile-méthanol, de 0 à 100 p. cent de méthanol en 30 minutes. La détection des coumarines libres (aesculétine et scopolétine) est effectuée par fluorimétrie (λ : excitation : 340 nm, λ : émission : 425 nm) à l'aide d'un détecteur HP 1046-A. La quantification des coumarines glucosilées est effectuée d'après la différence existant entre l'échantillon témoin préparé dans les mêmes conditions sans ajout de β -glucosidase et le même échantillon enzymé.

5) Estimation des ellagitanins oligomères et polymères

Les ellagitanins oligomères sont extraits de sciure de bois (1 g/50 ml) par l'eau distillée durant 24 h avec une agitation lente et continue. La macération aqueuse est filtrée sur coton de verre et les extraits ajustés à 50 ml. Le bois ressuyé est ensuite mis en contact avec 50 ml de diméthyl sulfoxyde (DMSO) pendant 24 h sous agitation pour extraire les ellagitanins polymérisés. Les extraits au DMSO sont filtrés et ajustés de la même façon que plus haut. La concentration en polyphénols extractibles est appréciée par mesure de l'absorption à 280 nm sous 10 mm de parcours optique après dilution au 1/100^e dans l'eau.

6) Fractionnement par chromatographie liquide basse pression des polyphénols du bois et recherche des fractions à goût amer

De la sciure de bois vert (50 g/l) est extraite par macération pendant 24 h par différents types de solvant. L'extrait obtenu est filtré et évaporé à sec sous vide et repris dans l'éthanol (20 ml). Une dilution au 1/20^e dans l'eau distillée est dégustée afin de rechercher l'extrait organoleptiquement le plus riche et le plus amer par un jury de 12 personnes entraînées.

L'extrait le plus concentré et le plus caractéristique est fractionné par chromatographie sur une colonne (30 x 1 cm) de silice normale (80-100 mesh, activité V) par une série éluotrope de solvant de polarité croissante. Les différentes fractions (150 ml) soigneusement évaporées à sec sous vide (35°C) sont reprises et dégustées dans les mêmes conditions que plus haut en notant l'intensité des caractères « amers » et « astringents » sur une échelle de 0 à 5. La dégustation de chaque fraction est espacée de 5 minutes au moins. On effectue simultanément sur chaque fraction une détermination des polyphénols totaux (DO 280 nm), de la coloration brune (DO 440 nm), des ellagitanins (DO 600 nm) et des tanins catéchiques (DO 500 nm) à l'aide des méthodes décrites précédemment.

7) Expérience de dégradation des ellagitanins en milieux modèles

a) Expérience de dégradation chimique

Une solution dans l'eau de 500 mg de Quertanin™ (LAFFORT, Bordeaux) par litre (représentant 100 mg d'ellagitanins en équivalent hexahydroxy-diphényl-2,6-glucose) contenant 100 mg de fluorure de sodium est conservée soit en présence soit en absence d'oxygène (creux de 15 p. cent). L'analyse des ellagitanins est effectuée par HPLC après 8 semaines de conservation par rapport à la solution témoin analysée au début de l'expérience

b) Expérience de dégradation biochimique

Un milieu Czapek-Dox contenant 10 g par litre de sciure de chêne estensemencé massivement par des spores de *Penicillium roqueforti* ou de *Trichoderma harzianum* isolés de bois de chêne en cours de séchage. Après deux semaines de culture, le milieu est filtré sur coton de verre et les ellagitanins sont dosés par HPLC. Un milieu témoin est préparé dans les mêmes conditions sans ensemencement, avec ajout de 100 mg de fluorure de sodium par litre.

RÉSULTATS

I — EXTRACTION ET FRACTIONNEMENT DES POLYPHÉNOLS DU BOIS DE CHÊNE. RÔLE ORGANOLEPTIQUE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

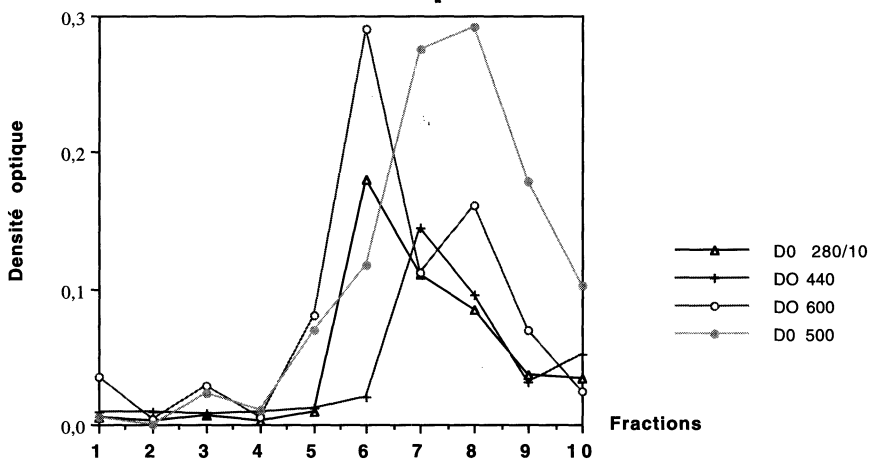
Le tableau I regroupe les résultats de dégustation d'un même échantillon de bois vert extrait par différents solvants. Les extraits de bois sont toujours jugés beaucoup plus amers qu'astringents. L'extrait à 55 p. cent vol. d'éthanol dans l'eau (pH 5) est jugé à la fois le plus amer et le plus astringent et a fait l'objet d'un fractionnement sur silice en phase normale à l'aide d'une série éluotrope (figure 1).

TABLEAU I

Astringence et amertume de bois de chêne vert extrait par différents solvants

Solvant d'extraction	Intensité sensorielle (0-5)	
	Amertume	Astringence
Eau	2	1
Ethanol 10 % vol.	2	2
Ethanol 55 % vol.	4	3,5
Acétone-eau (7:3)	3	2,5
Méthanol-chloroforme (6:4)	2	1
Hexane	0	0

Concentration en bois : 20 g/l ; Dégustation dans éthanol 10 p. cent vol. (pH 5) ;
Moyenne des notes de 10 dégustateurs



1: hexane, 2: hexane-éther (9:1), 3: éther-dichlorométhane (1:9), 4: éther, 5: éther-éthanol (9:1), 6: éthanol, 7: éthanol-eau (4:1), 8: éthanol-eau (1:1), 9: éthanol-eau (75:25), 10: eau, 11: eau-acide formique (99,5:0,5)

Fig. 1 — Fractionnement par chromatographie d'adsorption sur gel de silice d'un extrait de bois de chêne vert extrait par le mélange éthanol/eau 1 : 1

La collection et l'analyse des différentes fractions séparées sur silice montre qu'il est possible de distinguer assez nettement les fractions jugées amères des fractions jugées astringentes (figure 2). Une fraction (3), présentant simultanément une réaction positive aux ellagitanins et aux catéchines, est élué par le mélange éther diéthylique-dichlorométhane (1:9) et possède un goût amer sans astringence. Les tanins ellagiques réagissant de manière spécifique avec l'acide nitreux (DO 600) sont élués sous forme de deux pics. Les fractions jugées les plus fortement amères correspondent en grande partie avec l'élué du premier pic d'ellagitanins. Cependant, une partie de l'amertume est détectée dans des fractions (fractions 4-5) ne possédant qu'une faible réaction avec l'acide nitreux ou la vanilline-sulfurique (DO 500). La recherche des coumarines libres ou liées (fluorimétrie) dans ces fractions s'est toujours révélée négative. Les tanins catéchiques sont élués en même temps que le second pic de tanins ellagiques sous la forme d'un massif assez large. A la dégustation des différentes fractions, le second pic d'ellagitanins et les tanins catéchiques sont jugés nettement plus astringents qu'amers ; l'astringence la plus élevée est nettement décalée vers les fractions éluées tardivement, c'est-à-dire les plus polaires.

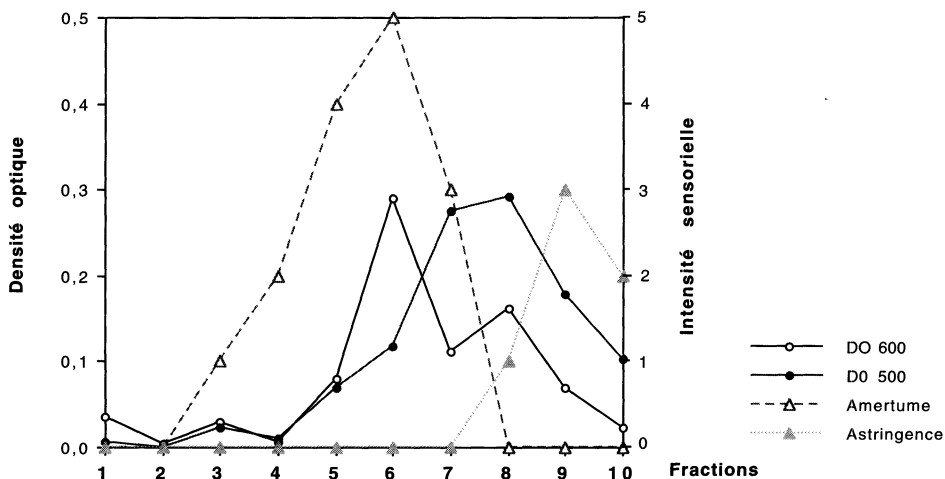


Fig. 2 — Caractéristiques organoleptiques d'un extrait de bois fractionné sur gel de silice

II — ÉVOLUTION DES EXTRACTIBLES TOTAUX

Le bois de chêne libère de moins en moins de composés extractibles non volatils au fur et à mesure de son séchage sur le parc (figure 3a). La diminution des extractibles est importante jusqu'à trois ans de stockage ; elle ralentit fortement à partir de la cinquième année de séchage. Les parties externes du merrains (premier millimètre sur les faces supérieure et inférieure) libèrent moins d'extractibles que la partie interne qui, entre 1 et 20 mm d'épaisseur, se révèle relativement homogène pour tous les échantillons.

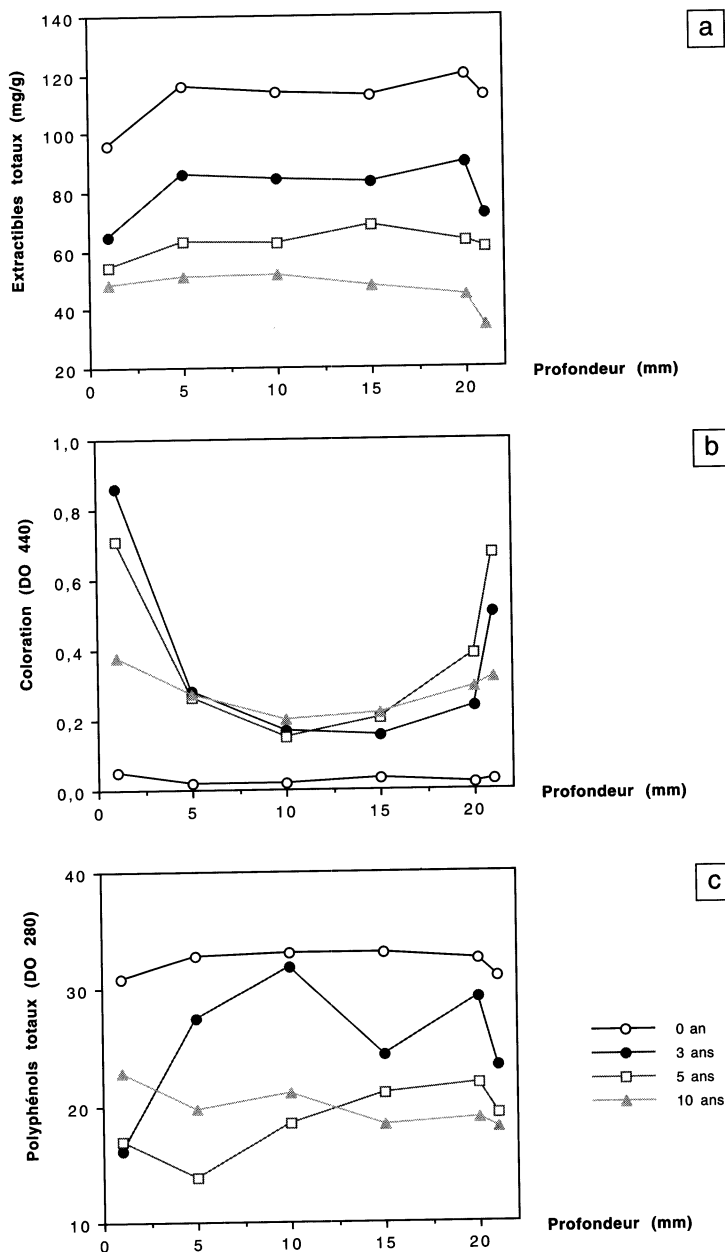


Fig. 3 — Evolution de la composition du bois de chêne au cours de son séchage à l'air libre
 a : Evolution des extractibles totaux non volatils
 b : Evolution de la coloration brune des composés extractibles
 c : Evolution des polyphénols totaux extractibles

III — ÉVOLUTION DE LA COLORATION BRUNE DU BOIS

La coloration brune des extraits de chêne est mesurée d'après leur absorption à 440 nm. Cette coloration permet indirectement d'apprécier le degré d'oxydation des polyphénols du bois qui forment des polymères fortement colorés.

Le bois vert possède une coloration relativement faible, mais après 3 et 5 ans de vieillissement à l'air libre, la coloration du merrain, plus particulièrement celle de sa surface (couches 0-1 mm et 20-21 mm), augmente très fortement (figure 3b). Les couches plus profondes, quel que soit le temps de séchage du bois, possèdent une coloration variant très peu. A partir de 10 années de séchage naturel, la coloration des extraits de surface diminue fortement.

V — ÉVOLUTION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES TOTAUX

Les composés phénoliques du bois sont appréciés de manière globale d'après leur absorption caractéristique à 280 nm (figure 3c). On constate une diminution rapide de la teneur en polyphénols extractibles entre 0 et 3 ans de séchage naturel ; au-delà, les variations mesurées ne sont plus significatives et sont vraisemblablement plus liées à l'effet échantillon. De 0 à 3 ans, la diminution à la surface du merrain, plus particulièrement sur la face supérieure, est plus importante que dans la masse du bois. Après 3 ans de vieillissement, les différences de teneur en polyphénols à la surface et dans le cœur du merrain deviennent très faibles.

V — ÉVOLUTION DES DIFFÉRENTS TANINS AU COURS DU SÉCHAGE ET DU VIEILLISSEMENT DU BOIS

L'analyse des différentes classes de polyphénols extractibles (figure 4a) dans la couche superficielle du merrain, qui subit les transformations les plus importantes (0-5 mm), montre que les ellagitannins (figure 4b) sont toujours présents en concentration plus élevée comparativement aux tanins catéchiques (figure 4c) et accusent une diminution beaucoup plus importante que ces derniers. Cette diminution est régulière pour tous les composés phénoliques sur l'intégralité de l'épaisseur du merrain mais néanmoins plus marquée dans la couche superficielle de 0 à 2 mm.

L'estimation des polyphénols oligomères et polymères (figure 5) du bois montre que la diminution de la quantité de polyphénols extractibles au cours du séchage naturel du bois affecte principalement les tanins monomères et oligomères solubles dans l'eau ; la diminution est particulièrement marquée dans les couches superficielles du merrain. Le dosage individuel des principaux ellagitannins monomères et dimères par HPLC (figure 6) montre que toutes les molécules subissent une diminution importante et régulière (figure 7). En revanche, les formes polymérisées, insolubles dans l'eau, ne diminuent significativement que pour des temps de séchage dépassant 3 ans (figure 5).

VI — INCIDENCE D'UN SÉCHAGE RAPIDE PAR ÉTUVAGE SUR LES ELLAGITANNINS ET LES COUMARINES DU CHÊNE

En comparaison avec des bois d'origines similaires séchés naturellement pendant 18 mois,

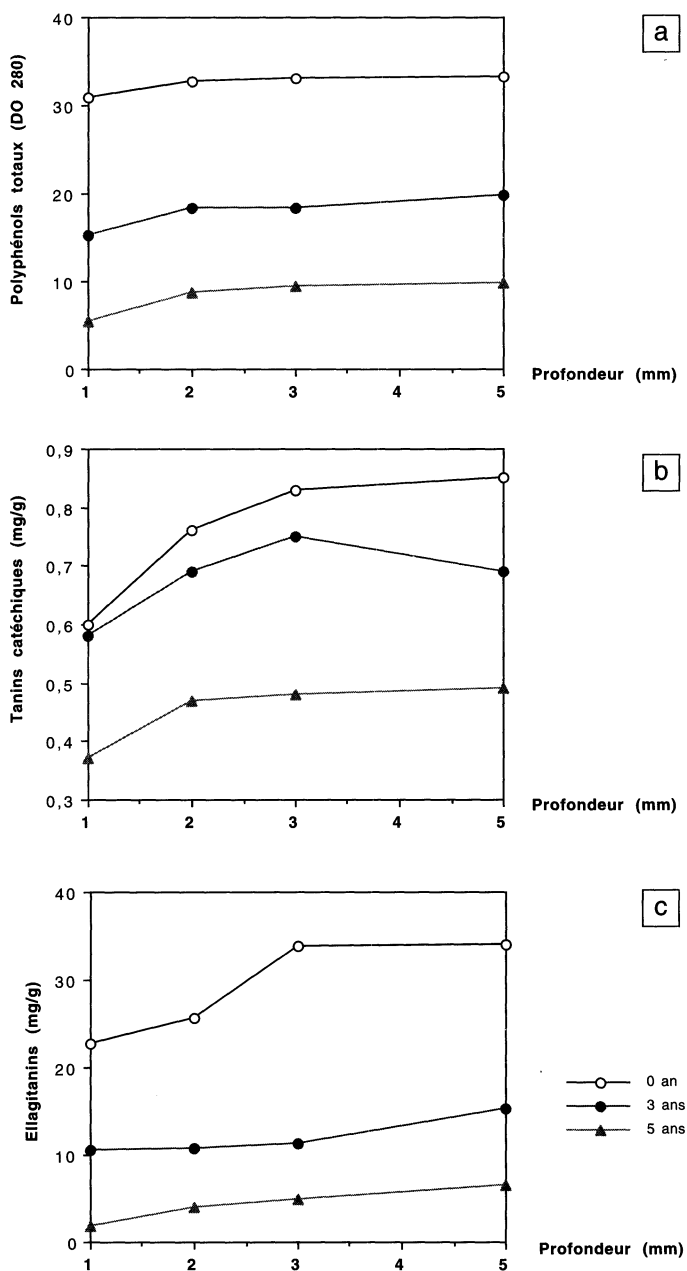


Fig. 4 — Evolution des tanins ellagiques et catéchiques dans les couches superficielles du bois de chêne au cours de son séchage à l'air libre
 a : Polyphénols totaux
 b : Tanins catéchiques
 c : Tanins ellagiques

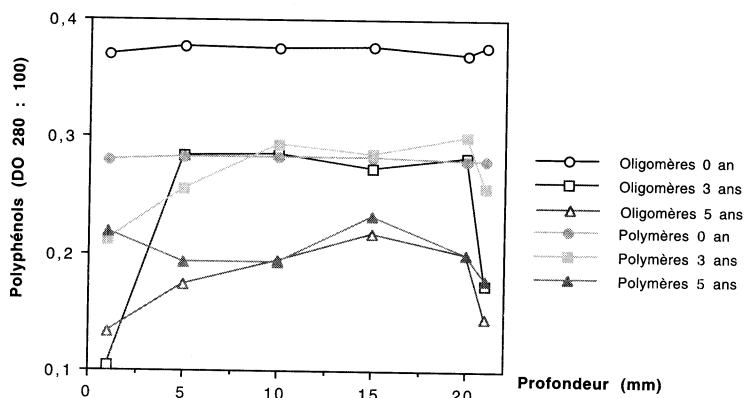


Fig. 5 — Evolution des tanins oligomères (solubles) et polymères (insolubles) du bois de chêne au cours de son séchage à l'air libre

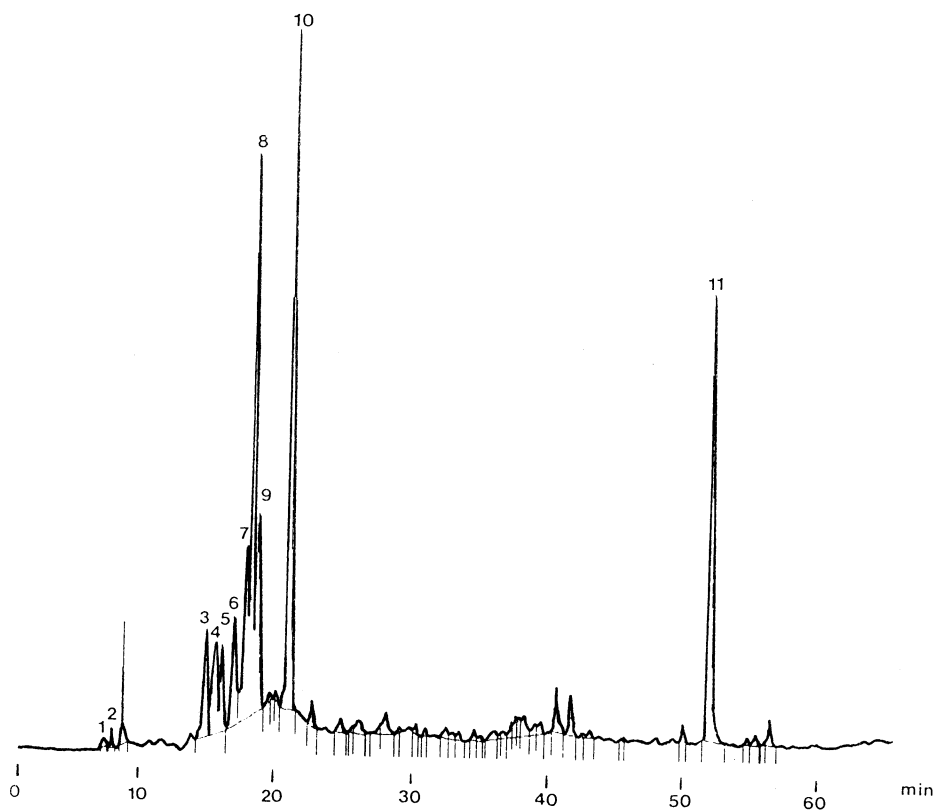


Fig. 6 — Séparation des principaux ellagitanins oligomères du bois de chêne par HPLC
 1 : vescaline, 2 : castaline, 3 : roburine A (V-V), 4 : roburine B (V-V-lyxose), 5 : roburine C (V-V-xylose),
 6 : grandinine (V-lyxose), 7 : roburine D (V-C), 8 : vescalagine (V), 9 : roburine E (V-xylose),
 10 : castalagine (C), 11 : acide ellagique

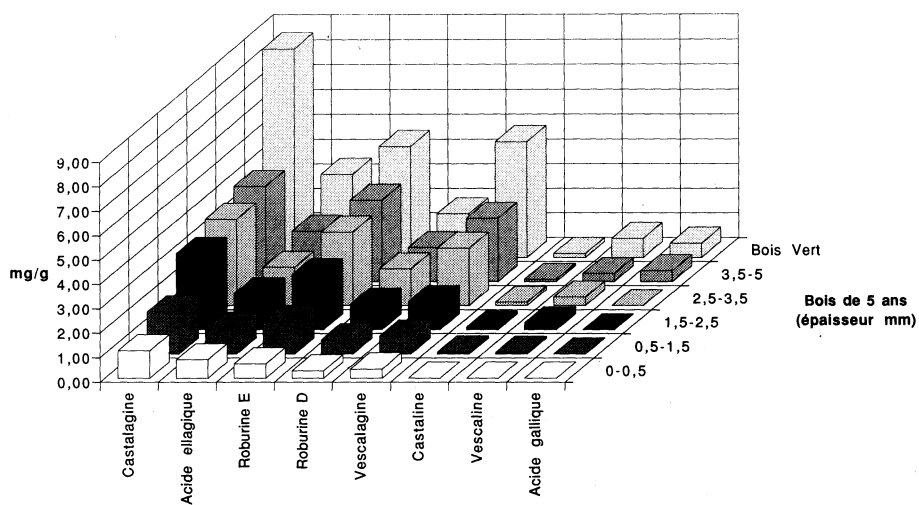


Fig. 7 — Evolution des ellagitanins oligomères au cours du séchage naturel du bois

TABLEAU II

Composition en polyphénols extractibles du bois de chêne séché naturellement ou artificiellement (bois de chêne sessile, moyenne de 5 résultats)

Analyses	Séchage naturel	Séchage artificiel
Extractibles fixes totaux (mg/g)	90	113
Polyphénols totaux (DO 280)	22	27
Tanins catéchiques (mg catéchine/g)	0,3	0,6
Tanins ellagiques (mg HHDP*/g)	7,8	11,9
Ratios molaires =		
Vescalagine/Castalagine	1,32	1,74
Vescalagine/Acide ellagique	1,95	7,79
Castalagine/Acide ellagique	1,48	4,49
Vescalagine+Castalagine/ Acide ellagique	3,43	12,28
Vescalagine+Castalagine/ Vescaline+Castaline	66,23	254,66

*HHDP = équivalent hexahydroxy-diphényl-2,6-glucose

les échantillons séchés artificiellement en étuve pendant 3 semaines possèdent une quantité de polyphénols extractibles plus élevée (tableau II). L'analyse des différents ellagitannins, de l'acide ellagique libre, et la considération de leurs rapports molaires, montre (figure 8) que les produits d'hydrolyse des ellagitannins (vescaline, castaline et acide ellagique en particulier) ne s'accumulent pas en proportion.

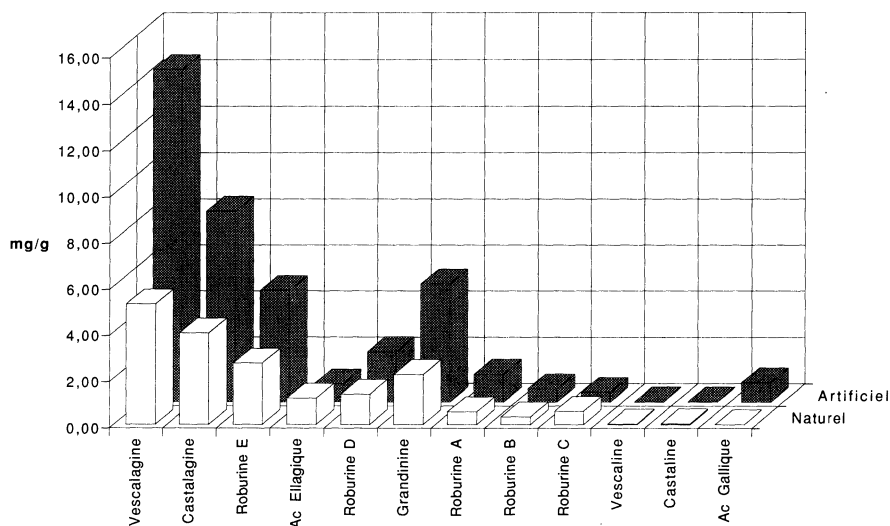


Fig. 8 — Teneurs en ellagitannins oligomères du bois de chêne séché naturellement ou artificiellement (moyenne de 3 résultats)

Les coumarines sont présentes dans le bois vert sous forme de glucosides (aesculine, scopoline). Au cours de la phase de séchage du bois, ces glucosides s'hydrolysent pour libérer leurs aglycones (aesculéline, scopoléline) (tableau III). Quelle que soit la technique de séchage employée, les glucosides sont dégradés en aglycones correspondants. Cependant, avec le séchage naturel, on note une diminution plus importante des glucosides qui n'est pas complètement compensée par une augmentation proportionnelle des coumarines libres.

VII — MÉCANISMES DE DÉGRADATION DES ELLAGITANINS DANS LE BOIS

1) Dégradation chimique des ellagitannins en présence d'eau et d'air

L'expérience de conservation de différents ellagitannins extraits de chêne, dans une solution aqueuse plus ou moins exposée à l'oxygène de l'air et en présence d'un antiseptique puissant, permet d'étudier la réactivité chimique de ces composés. On constate que la majorité des molécules est sensible d'une part, à l'hydrolyse et d'autre part, à l'oxydation (figure 9). La vescalagine et la castalagine s'hydrolysent spontanément en vescaline et castaline par perte d'un groupement hexahydroxy-diphényle. Exceptée la roburine E (vescalagine-xylose) qui se dégrade aussi très rapidement, les dimères du type vescalagine-vescalagine (roburine A, B, C) et vescalagine-castalagine (roburine D) évoluent plus lentement. Compte tenu de la structure de ces dimères (figure 10), leur dégradation doit nécessiter plusieurs étapes.

Les produits d'hydrolyse des ellagitanins (vescaline, castaline, acide ellagique) n'augmentent pas directement en proportion. Comme l'acide gallique, ces composés sont également soumis à une dégradation oxydative. Après quatre mois de conservation, seules des traces d'acide ellagique et de vescalagine subsistent dans la solution.

TABLEAU III

Evolution des coumarines libres et glucosilées de bois de chêne séchés naturellement ou artificiellement (moyenne de résultats)

Coumarines (µg/g)	Bois vert (n = 3)	Séchage artificiel (n = 5)	Séchage naturel (n = 5)
Glucosides*			
Aesculine	0,500	0,250	0,000
Scopoline	2,300	1,800	0,750
Σ glucosides	2,800	2,050	0,750
Aglycones			
Aesculéine	0,050	0,070	0,250
Scopoléine	0,125	0,750	1,750
Σ aglycones	0,175	0,825	1,950
Σ Coumarines	2,975	2,875	2,700

* : en équivalent aglycone à produire

n : nombre d'échantillons

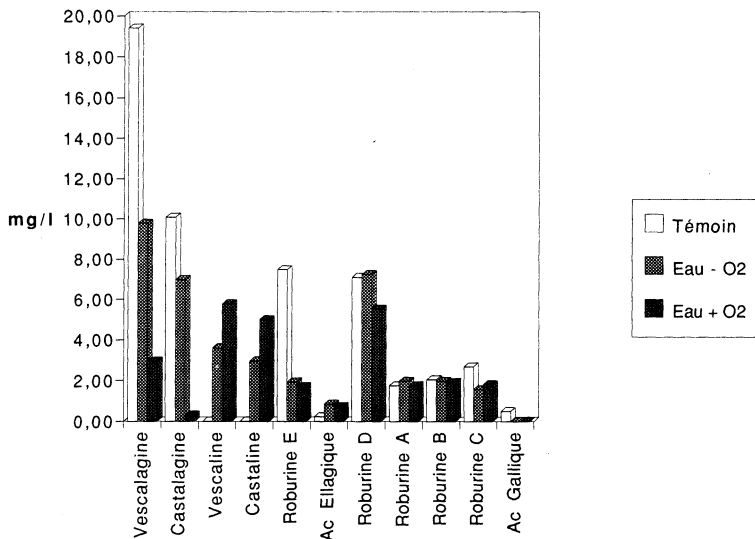


Fig. 9 — Evolution des ellagitanins oligomères conservés en présence d'eau et d'air en milieu modèle (8 semaines de conservation à 20°C)

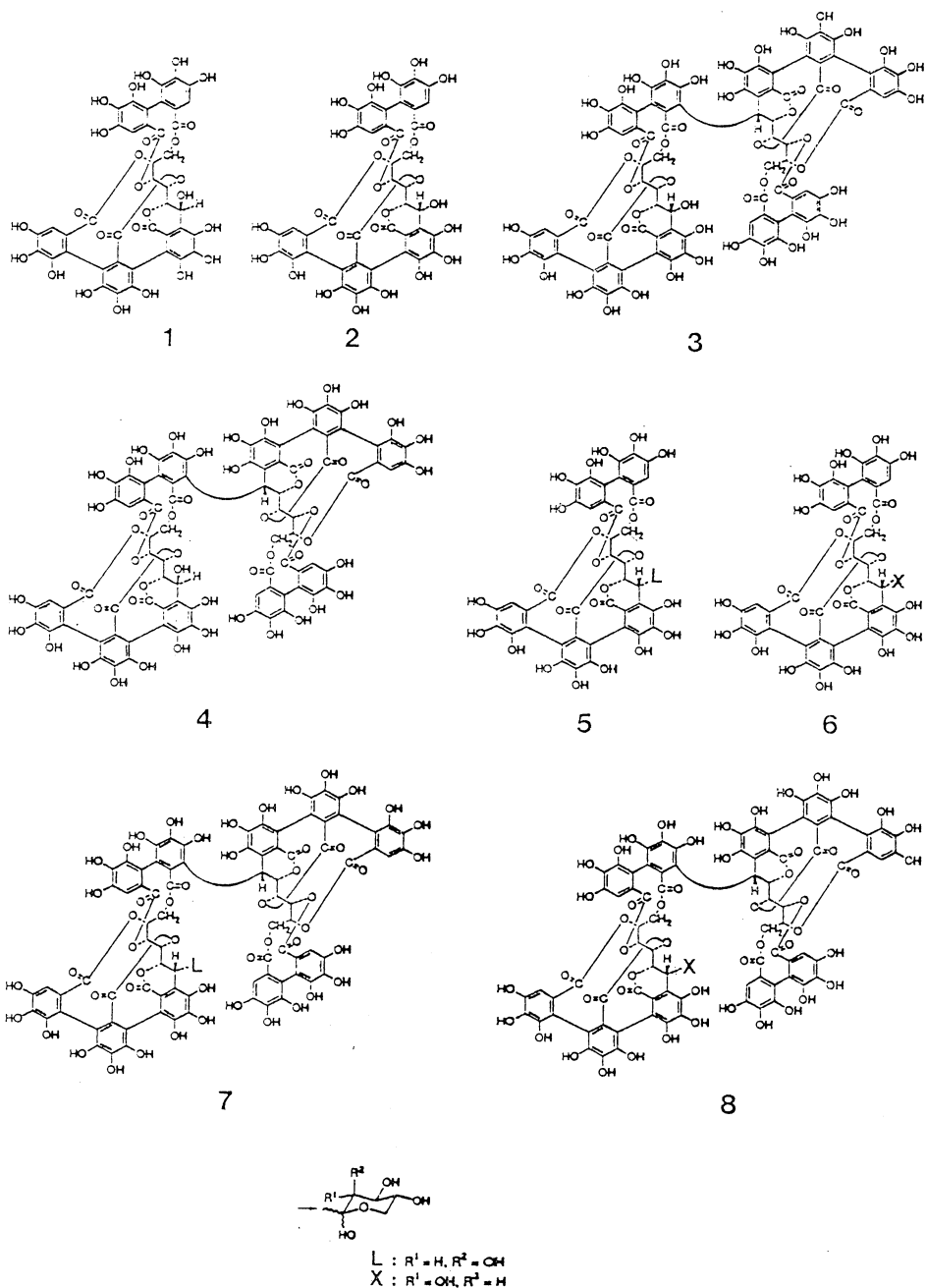


Fig. 10 — Structure des principaux ellagitanins oligomères du bois de chêne
(d'après HERVÉ DU PENHOAT et al., 1981)

1 : castalagine (C), 2 : vescalagine (V), 3 : roburine A (V-V), 4 : roburine D (V-C), 5 : grandinine (V-L),
6 : roburine E (V-X), 7 : roburine C (V-V-X), 8 : roburine B (V-V-L), X : xylose, L : lyxose

2) Dégradation biochimique des ellagitanins

La culture de moisissures isolées de merrains, en cours de séchage naturel en présence de tanins ellagiques, montre que ces micro-organismes sont capables de dégrader rapidement tous les ellagitanins oligomères du chêne (figure 11). Comme pour la dégradation chimique, l'hydrolyse enzymatique est rapide pour les tanins monomères et plus lente pour les dimères. L'acide ellagique ne s'accumule pas proportionnellement à la quantité d'ellagitanins dégradée. Après quatre semaines de culture, l'analyse ne permet plus de mettre en évidence ni ellagitanins ni produits d'hydrolyse car tous les produits semblent avoir été oxydés ou précipités.

L'examen des rapports molaires entre les ellagitanins et leurs produits d'hydrolyse ne permet pas de différencier significativement la dégradation chimique de l'enzymatique car les deux voies aboutissent aux mêmes produits dans des proportions à peu près équivalentes (tableau IV).

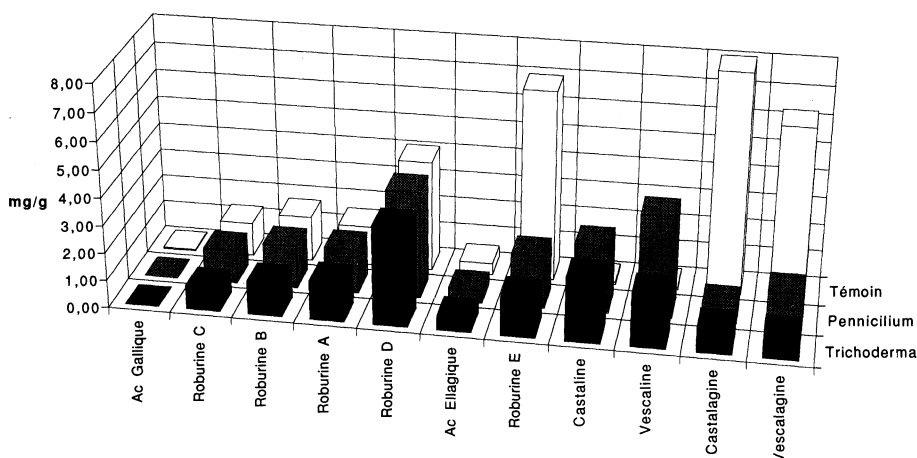


Fig. 11 — Dégradation des ellagitanins oligomères de chêne par des moisissures isolées de bois en cours de séchage (2 semaines de culture à 20°C)

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le fractionnement sommaire des polyphénols extractibles du bois de chêne a permis de montrer qu'une grande partie du goût amer du bois vert est imputable à des ellagitanins moyennement polaires. Cependant, une part de l'amertume apparaît clairement liée à d'autres types de composés, très vraisemblablement de nature phénolique mais ne correspondant ni aux ellagitanins, ni aux flavonoïdes, ni à des coumarines glucosylées. Ces derniers composés, réputés posséder une forte amertume à l'état de glycosides (MARCHE et JOSEPH 1975 ; VIVAS et al., 1991), sont élués avant les fractions notées amères.

TABLEAU IV

Etude du mécanisme de dégradation des ellagitanins du bois de chêne en milieux modèles

Conditions de conservation	Ratios molaires				
	Vescalagine/ Castalagine	Vescalagine/ Ac. ellagique	Castalagine/ Ac. ellagique	Vescalagine + Castalagine/ Ac. ellagique	Vescalagine + Castalagine/ Vescaline + Castaline
Dégradation chimique					
Témoin	1,9	35,9	18,6	54,5	—
Eau - O ₂	1,4	4,9	3,5	8,5	1,4
Eau + O ₂	9,8	1,7	0,2	1,9	0,2
Dégradation biochimique					
Témoin	0,8	6,4	8,2	14,7	44,2
+ <i>Penicillium sp.</i>	1,9	1,2	0,6	1,8	0,2
+ <i>Trichoderma sp.</i>	0,9	0,7	0,7	1,4	0,2

Par ailleurs, l'expérience a permis de vérifier qu'elles ne communiquent absolument aucun goût de ce type, même à forte concentration. Les fractions astringentes contiennent des ellagitanins polaires et surtout des tanins catéchiques dont la structure est encore mal connue.

SEFTON et *al.* (1993b) signale une nette augmentation du seuil de perception gustative des extraits de bois au cours du séchage naturel de chêne européen, en relation avec une nette diminution des sensations amères et astringentes. HERVÉ du PENHOAT et *al.* (1991) ont tenté d'apprécier individuellement les goûts des principaux ellagitanins monomères et dimères du chêne ; ils confirment que la majorité de ces tanins communique plus un goût amer qu'astringent. La part des sensations amères et astringentes due aux gallotanins n'a pas été étudiée car nous ne disposons pas de mesure fiable de ces composés. Leur étude serait intéressante car le penta-galloyl-glucose est signalé comme possédant une très forte astringence (HERVÉ du PENHOAT et *al.*, 1991).

La perte d'amertume et d'astringence généralement constatée pendant le séchage et le vieillissement du chêne (MARCHE et JOSEPH, 1975 ; TARANSAUD, 1976) pourrait donc directement être liée à la diminution de sa teneur en polyphénols extractibles et en ellagitanins en particulier. En effet, tout au long du temps de séchage, on assiste à une diminution régulière de la teneur en extractibles totaux et en composés phénoliques. La diminution de la teneur du bois en tanins est très importante à sa surface mais le cœur du merrain subit une évolution identique sur toute son épaisseur. Les ellagitanins extractibles, incolores et abondants dans le bois vert, accusent une diminution de leur concentration plus importante (60 à 70 p. cent après 3 ans de vieillissement) que celle des tanins catéchiques (40 à 50 p. cent). Le dosage de différents ellagitanins oligomères de bois séché naturellement pendant plu-

sièurs années ou de manière très rapide (séchage artificiel) met en évidence l'existence du processus de dégradation hydrolytique des tanins. Ces réactions sont plus importantes dans le cas du séchage naturel lent. Elles sont plus limitées dans le cœur qu'à la surface du merrain où l'oxydation, qui s'accompagne de la formation de polymères bruns, est également très intense.

A l'opposé des tanins oligomères, les formes polymérisées sont assez fortement colorées et peu, voire pas, solubles dans l'eau car souvent liées aux polysaccharides pariétaux (PENG *et al.*, 1991 ; KLUMPERS *et al.*, 1994). Les ellagitanins, condensés par substitution nucléophile (VIRIOT *et al.*, 1994) ou après oxydation (OKUDA *et al.*, 1993), ne subissent une diminution significative qu'au-delà de 3 ans de séchage à l'air libre. A partir de 5 ans de séchage, il n'existe presque plus de tanins libres à la surface du bois. Les tanins polymères non extractibles deviennent alors beaucoup plus abondants que les oligomères sur toute l'épaisseur du merrain.

La diminution de la teneur du bois en tanins au cours du séchage naturel classique (18 à 3 mois environ) est donc essentiellement due à la disparition des ellagitanins oligomères et non à leur insolubilisation après polymérisation comme on a pu le suggérer (KLUMPERS *et al.*, 1994).

La disparition des ellagitanins oligomères du bois peut avoir plusieurs origines. Ces composés sont tout d'abord très solubles dans l'eau et donc facilement extraits du bois exposé aux aléas climatiques. Les ellagitanins monomères du chêne sont ensuite des molécules qui s'hydrolysent spontanément en perdant un résidu hexahydroxy-diphényle pour aboutir *in fine* à l'acide ellagique. Dans le bois séché naturellement, on constate effectivement une diminution du ratio castalagine/castaline ou vescalagine + castalagine/acide ellagique, mais les produits d'hydrolyse ne s'accumulent pas proportionnellement. En effet, les expériences en milieu modèle montrent que les ellagitanins et leurs produits d'hydrolyse sont des composés se dégradant facilement par oxydation lorsqu'ils sont conservés en présence d'eau et d'air, c'est le cas du bois de chêne séchant à l'air libre.

L'intervention de micro-organismes a également été évoquée pour expliquer ce phénomène (MARCHE et JOSEPH, 1975 ; VIVAS *et al.*, 1991). Les moisissures majoritairement implantées sur le merrain possèdent, pour la plupart, une activité depsidase (diphényl carboxy ester hydrolase) et une activité phényl-estérase (phényl carboxy ester hydrolase) (BEVERINI et METCHE, 1990) capables d'agir sur les ellagitanins, mais pas d'activité laccase (polyphénol oxydase). Cependant, la colonisation des merrains ayant moins de 5 ans n'est importante que dans les premiers millimètres du bois (CHATONNET, 1993 ; CHATONNET *et al.*, 1994). En effet, la pénétration et le développement des moisissures se développant dans le chêne sont ralentis plus en profondeur en raison d'un taux d'humidité devenant rapidement trop faible (< 20 p. cent) si le bois n'est pas régulièrement arrosé (BAUER, 1987 ; LARIGNON *et al.*, 1994). La voie enzymatique de dégradation des tanins ne semble pouvoir concerner que les parties externes du merrain (0-4 mm). Ces fractions de bois sont en partie éliminées lors du rabotage et de l'évidage des douelles, mais nous avons montré que la diminution des polyphénols extractibles continue au-delà des couches externes du merrain.

De la même façon, la diminution de la teneur du bois en glucosides de coumarines n'est pas obligatoirement due à l'action d'une β -glucosidase libérée par les micro-organismes implantés sur le bois (VIVAS et al., 1991). En effet, même si elle est effectivement plus limitée, on constate également une réduction significative de la teneur en coumarines glucosylées avec un séchage artificiel rapide. Nous confirmons ici les résultats déjà obtenus par SWAN et al. (1993). Une hydrolyse chimique des glucosides doit être responsable de ce phénomène. Dans le cas du bois séché naturellement, une perte de composés extractibles par lessivage s'ajoute aux réactions d'hydrolyse. A l'inverse, le séchage artificiel, en provoquant une déshydratation rapide du bois, réduit l'évolution de sa composition.

En conséquence, la diminution de la teneur en polyphénols extractibles du bois de chêne au cours de son séchage et de son vieillissement sur parc à l'air libre doit résulter de la combinaison de pertes par lessivage et par dégradation hydrolytique et oxydative des ellagitanins oligomères. La dégradation de ces tanins peut s'effectuer à la fois biochimiquement et chimiquement à la surface du merrain (0 à 4 mm) et plutôt chimiquement dans la masse du bois. La présence d'eau et d'oxygène semble un facteur important permettant de contrôler l'évolution des polyphénols du bois ; un séchage trop rapide ne permet pas une élimination suffisante de ces derniers.

Une prochaine publication présentera l'évolution des composés volatils et odorants, ainsi que de certains précurseurs d'arômes, au cours du séchage naturel dans les mêmes échantillons bois de chêne étudiés dans ce travail. Les recherches en cours permettront de préciser les facteurs influençant réellement l'évolution de la composition et de la qualité du bois au cours du processus de séchage afin d'optimiser sa conduite.

Remerciements :

Nous remercions Ch. VINGHES pour sa collaboration technique.

Manuscrit reçu le 3 octobre 1994 ; accepté pour publication le 2 décembre 1994

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BATE-SMITH E.C., 1972. Detection and determination of ellagitanins. *Phytochem.*, **11**, 1153-1156.
- BAUER C., 1987. Etude des relations entre l'humidité du bois et l'attaque fongique. In « *Actes du colloque Sciences et Industries du bois* », 22-24 avril 1987, 205-212.
- BEVERINI M. et METCHE M., 1990. Identification, purification and physicochemical properties of Tannase of *Aspergillus oryzae*. *Sci. Alim.*, **10**, 807-816.
- CHATONNET P., 1991. Incidences du bois de chêne sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins. Applications technologiques. *Thèse de D.E.R.*, Université de Bordeaux II, n°2, 224 p.

- CHATONNET P., 1992. Origines et traitements des bois en tonnellerie. Incidence de l'origine et du mode de séchage sur la composition et la qualité des bois de chênes en tonnellerie. In « *Le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vie* », numéro spécial de *J. Int. Sci. Vigne et Vin*, 39-49.
- CHATONNET P., 1993. Le séchage et la maturation des bois en tonnellerie. In « *La barrique et le vin : Maîtrise scientifique d'un savoir-faire traditionnel* », SEGUIN-MOREAU & Cie Ed., Cognac, 28-41.
- CHATONNET P. BOIDRON J.-N. et DUBOURDIEU D., 1994. Nature et évolution de la microflore du bois de chêne au cours de son séchage et de son vieillissement à l'air libre, *J. Int. Sc. Vigne et Vin*, **28**, n°3, 185-201
- CORDIER B., 1987. Fabrication des barriques. In « *Le bois et la qualité des vins et des eaux-de-vie* », Numéro spécial, *Conn. Vigne et Vin*, 61-81.
- HANKERSON F.P., 1947. *The cooperage handbook*. Chemical Publishing Company, New-York.
- HERVE DU PENHOAT C.L.M, MICHON V.M.F., PENG S., VIRIOT C., SCALBERT A. et GAGE D., 1991. The structural elucidation of new dimeric ellagitanins from *Quercus robur* L., Roburin A-E. *J. Chem. Soc. Perkin trans.*, **1**, 1653-1660.
- KLUMPERS J., SCALBERT A. et JANIN G., 1994. Ellagitanins in european oak wood : polymerization during wood ageing. *Phytochem.*, **36**, n°5, 1492-1252.
- LARIGNON Ph., ROULLAND C., VIDAL J.-P. et CANTAGREL R., 1994. Etude de la maturation en Charentes des bois de tonnellerie. *Rapport d'étude de la Station Viticole du Bureau National Interprofessionnel du Cognac*, 21 p.
- MARCHE M. et JOSEPH E., 1975. Etude théorique sur le Cognac et son vieillissement. *Rev. Fr. Œnol.*, **57**, 1-106.
- OKUDA T., YOSHIDA T. AND HATANO T., 1993. Classification of oligomeric hydrolysable tanins and specificity of their occurrence in plants. *Phytochem.*, **32**, 507-521.
- PAULIN-DESORMEAUX M.M. et OTT H., 1875. Dessèchement du bois. In « *Nouveau manuel complet du Tonnelier et du jaugeage* », MAIGNE W. Ed., Librairie DIFAGE Pub., 17-26.
- PENG S., SCALBERT A. et MONTIES B., 1991. Insoluble ellagitanins in *Castanea sativa* and *Quercus petraea* woods. *Phytochem.*, **30**, n°3, 775-778.
- PONTALLIER P., SALAGOÏTY-AUGUSTE Marie-Hélène et RIBÉREAU-GAYON P., 1982. Intervention du bois de chêne dans l'élevage des vins rouges en barriques. *Conn. Vigne Vin*, **16**, 45-61.
- RIBÉREAU-GAYON P., 1964. *Les composés phénoliques des végétaux*. Dunod Ed., Paris.

- SCALBERT A., PENG S., MONTIES B., HERVÉ DU PENHOAT C. et GAGES D., 1990. Isolation and structural characterisation of polyphenols from *Quercus robur* L. and *Quercus petrae* Liebl. woods. In « *Int. Meet. Groupe Polyphénols* », Strasbourg, July 9-11, 15, 203-206.
- SEFTON M.A, FRANCIS I.L., POCOCK K.F. et WILLIAMS P.J., 1993a. The influence of natural seasoning on the concentration of eugenol, vanillin and *cis* and *trans* β -methyl- γ -octalactone extracted from french and american oakwood. *Sci. Alim.*, **13**, n°4, 629-644.
- SEFTON M.A., FRANCIS I.L., POCOK K.F. et WILLIAMS P.J., 1993b. Influence of seasoning on the sensory characteristics and composition of oak extracts. In « *Proceedings of the International Oak Symposium* », NEEL D. and YOUNG A. Ed., 1-2 June, San Fransisco State University.
- SINGLETON V.L., 1972. Some aspects of the wooden containers in wine maturation. In « *Third Enological Symposium* », Cape Town, South-Africa, 6-10 March 1972.
- SINGLETON V.L., 1981. Using wooden cooperage in the winery today. In « *Proceedings of the 13th Pennsylvania Wine Conference* », Pennsylvania State University Pa., 9-18.
- SWAN J.S., REID K.J.G., HOWIE D. et HOWLET S.P., 1993. A study of the effects of air and kiln drying of cooperage oakwood. In « *Elaboration et connaissance des spiritueux* », CANTAGREL R. Ed., LAVOISIER Pub., Paris, 557-561.
- TARANSAUD J., 1976. *Le livre de la tonnellerie*. La roue à livres diffusion Pub., Paris.
- VIRIOT C., SCALBERT A., HERVE du PENHOAT C.L.M. et MOUTOUNET M., 1994. Ellagitannins in woods of sessile oak and sweet chestnut. Dimerization and hydrolysis during wood ageing. *Phytochem.*, **36**, n°5, 1253-1260.
- VIVAS N., GLORIES Y., DONECHE B. et GUEHO E., 1991, Observations sur la microflore du bois de chêne *Quercus sp.* au cours de son séchage naturel. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **11**, 149-153.
- WILKER K.L. et GALLANDER J.F., 1989. Comparison of Seyval Blanc wines aged with air and kiln dried american oak. *Am. J. Enol. Vitic.*, **40**, n°3, 224-226.