

TENEURS EN ACIDES PHÉNOLS, CATÉCHINE ET ÉPICATÉCHINE POUR LES VINS DE DIFFÉRENTES VARIÉTÉS ET MILLÉSIMES DU PORTUGAL CONTINENTAL ET DES ÎLES DES AÇORES

LEVELS OF PHENOLIC ACIDS, CATECHIN AND EPICATECHIN IN WINES OF PORTUGAL AND THE AZORES PRODUCED FROM DIFFERENT VARIETIES AND VINTAGES

Maria Teresa RIBEIRO DE LIMA¹, Mary T. KELLY²,
Marie T. CABANIS² et A. BLAISE²

1 : Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias, Terra Chã,
9700 Angra do Heroísmo, Portugal

2 : Université de Montpellier I, Faculté de Pharmacie,
Centre de formation et de Recherche en œnologie, 15, avenue Charles Flahault,
B.P.14.491, 34093 Montpellier cedex 5, France

Résumé : Dans ces dernières décennies, des études épidémiologiques ont montré que les maladies cardiovasculaires sont moins fréquentes dans les pays où la consommation de vins est régulière et modérée ; il est maintenant établi que ce sont les polyphénols qui sont à l'origine de ces effets cardioprotecteurs.

Nous avons dosé par la CLHP avec détection UV à 280 nm, des acides phénols (acides gallique, protocatéchique, caféique, vanillique p-coumarique et caftarique) ainsi que la (+)catéchine et la (-)épicatéchine dans des vins blancs et rouges de différents millésimes et régions du Portugal continental et des îles des Açores. Les quantités totales de monomères pour les vins blancs sont en général inférieures à 30 mg/l. Pour les vins rouges, les teneurs varient de 49,9 mg/l à 323,8 mg/l selon la région. D'après les statistiques de l'OIV, la consommation de vin au Portugal est de 58 litres par habitant et par an, soit 160 ml par jour, en deux prises. À partir des résultats obtenues dans cette étude, il ressort que pour une consommation quotidienne modérée de 160 ml de vin, les apports en (catéchine et épicatéchine) sont en moyenne de 1,8 mg pour les vins blancs et de 23,7 mg pour les vins rouges.

Abstract: In recent decades, epidemiological studies have shown that the incidence of cardiovascular disease is less frequent in countries where wine is regularly consumed in moderate amounts. The cardioprotective effect of red wine in particular is thought to be due to the action of flavonoid monomers (catechin and epicatechin) on the inhibition of the oxidation of low density lipoproteins (LDL) a process that is considered as one of the initial phases in the development of coronary artery disease. We determined by HPLC with UV detection the concentrations of catechin, epicatechin and various phenolic acids in red and white wines of different vintages from various regions of the Azores and mainland Portugal. The combined concentration of catechin and epicatechin in white wines are in general less than 30 mg/l. For red wines, the levels vary from 49.9 mg/l for a varietal wine from the Palmela region of Portugal to 328.8 mg/l for a varietal wine of the Pico region of the Azores. Based on these results, it may be estimated that for a moderate daily consumption of 160 ml of wine, the daily flavanoid intake is on average 1.8 mg for white wines and 23.7 mg for red wines.

Mots clés : acides phénols, catéchine, épicatéchine, vin, apport journalier, HPLC, maladies cardiovasculaires

Key words: catechin, epicatechin, phenolic acids, wine, HPLC, cardiovascular disease, LDL, lipoxygenation

INTRODUCTION

Les composés phénoliques des végétaux représentent une des classes les plus étudiées parmi les composés naturels à cause de leur importance phytochimique, organoleptique, taxonomique, nutritionnelle et pharmacologique.

Au niveau de la vigne, les raisins du genre *Vitis* sont relativement riches en composés phénoliques par rapport à d'autres fruits comestibles. De là, le grand intérêt de leur étude dans le raisin et le vin où leur abondance peut être modulée par la nature des processus de vinification : macération, fermentation, conservation et vieillissement.

De nombreuses études publiées dans la littérature ont démontré les effets bénéfiques d'une consommation modérée de vin rouge sur l'organisme au niveau cardiovasculaire par exemple CLEOPHAS, 1999, LEGER *et al.*, 2000 ; SUN *et al.*, 2002 ; FU *et al.* 2003; GRONBAECK, 2004 ; MANN ET FOLTS, 2004 ; SATO *et al.*, 2004 ; AL-AWWADI *et al.*, 2004) et les effets cardiovasculaires des polyphénols des vins rouges ont été décrits dans des articles (TOMERA, 1999 ; DELL'AGLI, 2004). Des études ont démontré que ces effets bénéfiques sont dus à une diminution de la peroxydation des LDL (lipoprotéines de basse densité) (FRANKEL *et al.*, 1995 ; FUHRMAN *et al.*, 1995 ; TEISSEDRE *et al.*, 1996; MIYAGI et INOUE, 1997 ; AVIRAM *et al.*, 1998 ; DUTHIE *et al.*, 1998 ; NIGDIKAR *et al.*, 1998 ; AUGER *et al.*; 2002). Cette oxydation apparaît jouer une étape clé dans la phase initiale de l'athérosclérose (ESTERBAUER *et al.*, 1990). Les composés phénoliques, antioxydants des raisins et des vins, ont été considérés comme les molécules qui pourraient expliquer les effets cardio-protecteurs constatés, à l'origine du paradoxe français (RENAUD et DE LORGERIL, 1992).

Ce sujet intéresse à la fois le milieu viti-vinicole et de la santé publique, dans la mesure où les maladies cardiovasculaires sont un facteur de mortalité majeur dans beaucoup de pays industrialisés.

La concentration de ces composés dans différents types de vin est essentielle pour comprendre les effets potentiels sur la santé. Dans ce but ont été identifiées et dosées la catéchine et l'épicatéchine de 64 échantillons issus de variétés de vins blancs et rouges de différents millésimes et régions du Portugal continental et des îles des Açores, en utilisant une méthode CLHP-UV (LAMUELA-RAVENTOS *et al.*, 1994).

Une estimation de l'apport/jour/habitant en monomères des flavanoïdes issus des vins rouges et blancs pour la population portugaise est proposée sur la base de nos résultats.

Tableau I - Nombre d'échantillons pour les différents types de vins
Number of samples of the different types of wines

Vins	Vin blanc	Vin rouge
Monocépage	29	20
Assemblage	5	3
Fortifiés*	7	

*Les vins blancs fortifiés des Açores sont des vins blancs vinifiés traditionnellement avec un élevage en bois de chêne. Lors du premier soutirage, on ajoute l'eau-de-vie d'origine vinique, de façon à avoir un titre alcoométrique d'au moins 16 % (v/v).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I - ÉCHANTILLONS DE VINS

Les 64 échantillons de plusieurs millésimes proviennent de différentes variétés de vins blancs et de vins rouges des Açores et du Portugal continental. Les vins analysés sont originaires de neuf régions viticoles, pour les Açores : Pico, Biscoitos-Terceira et Graciosa, et pour le Portugal continental : Vinhos Verdes, Douro, Bairrada, Bucelas, Palmela et Évora. Le nombre d'échantillons pour les différents types de vins se trouve dans le tableau I.

Les noms des cépages, des millésimes, de processus de vinification, des régions et des organismes sont donnés dans les tableaux II, III et IV.

II - ÉTALONS

Les acides phénols (acides gallique, protocatéchine, caféique, vanillique, p-coumarique et les deux monomères (+)catéchine et (-)épicatéchine proviennent des sociétés Aldrich® (Saint-Quentin Fallavier, France) et Extrasynthèse® (Genay, France). L'acide t-caftarique a été obtenu de Urška VRHOVSEK de l'Université de Californie, Davis.

III - MATÉRIEL CHROMATOGRAPHIQUE

Un appareil HPLC (Agilent® Modèle 1090 Liquid Chromatograph) équipé d'une pompe à haute pression, d'un dégazage des solvants à l'hélium, d'un détecteur à barrette de diodes et d'un passeur automatique d'échantillons a été utilisé. Ce système est relié à une station informatique permettant la programmation des conditions d'analyse, le stockage des données et l'exploitation des résultats.

IV - CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

Les conditions d'analyse chromatographique sont celles rapportées par LAMUELA-RAVENTOS *et al.* (1994). Une colonne Nucleosil 100 C18, (250 mm x

4,0 mm, 5 µm) est maintenue à 40 °C. La phase mobile est composée des solutions suivantes : A, dihydrogéno-phosphate d'ammonium 50 mM, ajusté à pH 2,6 avec de l'acide orthophosphorique ; B : 20 % de phase A et 80 % d'acétonitrile ; C: acide orthophosphorique 0,2 M ajusté à pH 1,5 avec de l'ammoniaque. Le débit est de 1 ml/min

et toutes les solutions sont filtrées (0,45 µm) avant leur utilisation. Le tableau V montre les conditions de gradient utilisées. Le détecteur ultraviolet à barrettes de diodes est programmé sur les longueurs d'ondes 280 nm pour les acides benzoïques et les flavane-3-ols et à 313 nm pour les acides caftarique, caféique et p-coumarique.

Tableau II - Échantillons des vins blancs et rouges monocépages des Açores et du Portugal continental
Samples of red and white varietal wines of the Azores and mainland Portugal

Cépages (1)	Millésime	Région
Loureiro (b), Pedernã (b), Trajadura (b), Borraçal (r), Espadeiro (r), Vinhão MV	1996	Vinhos Verdes DOC*
Touriga Francesa (r) MV	1995, 1996	Douro DOC
Arinto (b), Bical (b), Cercial (b), Baga (r), Castelão (r), Touriga Nacional (r) MV	1996	Bairrada DOC
Arinto (b)- 3 échantillons, Esgana Cão (b), Rabo de Ovelha (b) VGV	1996	Bucelas DOC
Fernão Pires (b), Moscatel de Setúbal (b), Periquita (r)VGV	1994, 1996	Palmela IPR**
Manteúdo (b), Rabo de Ovelha (b), Tamarez (b), Cabernet Sauvignon (r), Moreto (r), Grand Noir (r) MV	1995	Évora IPR
Seara Nova (b)	1994	
Agronómica (r), Periquita(r)	1995, 1996	
Arinto (b), Generosa (b), Rio Grande (b), Seara Nova (b), Verdelho(b), Cabernet Sauvignon (r), Rufete (r), Saborinho (r) MV	1996	Pico
Periquita (r)	1995	Biscoitos-Terceira IPR
Arinto (b), Verdelho (b), Terrantês (b) MV	1996	
Verdelho (b) VGV	1973, 1985, 1995	Biscoitos-Terceira IPR
Verdelho (b) VGV	1996	Biscoitos-Terceira IPR

(1) un échantillon par cépage et par millésime, excepté quand le nombre est indiqué ; b : blanc ; r : rouge ; MV : vins obtenus par microvinification ; VGV : vins obtenus en grand volume ; * DENOMINAÇÃO DE ORIGEM CONTROLADA ; ** INDICAÇÃO DE PROVENIÊNCIA REGULAMENTADA

Tableau III - Échantillons des vins blancs et rouges d'assemblage des Açores et du Portugal continental obtenus par vinification en grand volume (VGV)

Samples of red and white blended wines of the Azores and mainland Portugal obtained by very large volume fermentation (VGV)

Cépages (1)	Millésime	Région
Periquita (r) + Trincadeira (r)	1996	Palmela IPR*
Agronómica (r) + Periquita (r)	1995, 1996	Pico
+ Arinto (b) + Generosa (b)		
+ Seara Nova (b)	1996	Pico
Arinto (b) + Boal (b) + Verdelho (b)		
+ Terrantês(b) (2 échantillons)	1996	Graciosa IPR
Boal (b) + Tália (b)	1996	Graciosa

(1) un échantillon par cépage et par millésime, excepté quand le nombre est indiqué ; b : blanc ; r : rouge ; * DENOMINAÇÃO DE ORIGEM CONTROLADA

Tableau IV - Échantillons de vins blancs fortifiés des Açores obtenus par vinification en grand volume (MGV)

Samples of fortified white wines of the Azores obtained by large volume fermentation (MGV)

Cépages (1)	Millésime	Région
Verdelho - « Licoroso seco » *	1993	Biscoitos-Terceira IPR***
Arinto + Verdelho + Terrantês « Licoroso meio-seco »*	1993	Pico IPR
Arinto+Verdelho + Terrantês « Licoroso seco »*	1993, 1994 1995, 1996	Pico IPR
Arinto+Verdelho + Terrantês « Licoroso seco »*	1996	Pico IPR
Arinto+Verdelho + Terrantês « Licoroso seco »**	1996	Pico IPR

(1) un échantillon par monocépage, assemblage et millésime, * vin élevé en bois de chêne et fortifié (16 % VV) ; ** vin élevé en cuve inox et fortifié volume ; *** INDICAÇÃO DE PROVENIÊNCIA REGULAMENTADA

V - IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION

Les échantillons de vins sont filtrés (0,45 µm) avant injection (25 µl). Les pics, détectés en sortie du système chromatographique, ont été identifiés par leur temps de rétention et leur spectre d'absorption UV-visible par comparaison avec ces mêmes caractéristiques pour les produits étalons.

Le dosage de ces composés phénoliques est réalisé par étalonnage externe. Chaque composé pur en dilution à 100 mg/l dans du méthanol constitue une solution mère. Celles-ci sont diluées pour obtenir les solutions de travail de la gamme étalon comprises entre 2 mg/l et 50 mg/l. Chaque étalon est injecté individuellement, ce qui permet de caractériser le temps de rétention pour chacun d'entre eux et leurs spectres ultraviolet respectifs. Ces éléments ont permis d'identifier la présence des acides phénols (acide gallique, protocatéchique, caféique, vanillique, caftarique et p-coumarique) et des monomères (+) catéchine et (-) épicatechine dans les vins.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les caractéristiques analytiques pour la détermination de ces composés dans les vins sont présentées dans le tableau VI et dans la figure 1.

Les chromatogrammes d'un vin rouge obtenus en CLHP avec détection UV à 280 nm et 313 nm démontrent l'absence des quatre pics correspondant aux acides protocatéchique et vanillique, et à la (+) catéchine et la (-) épicatechine.

I - TENEURS EN ACIDES PHÉNOLS

Les teneurs des vins rouges sont plus importantes en acides phénols totaux (164 mg/l : somme des concentrations moyennes des acides étudiés) que celles des vins blancs (valeurs moyennes autour de 40 mg/l). Parmi les six acides phénols étudiés, il faut souligner que dans l'en-

semble, l'acide caftarique domine sauf exception. L'acide vanillique est très peu présent dans les vins blancs : 22 % des échantillons indiquent des valeurs ne dépassant pas 3,5 mg/l et sa teneur ne dépasse pas 20 mg/l dans les vins rouges.

À titre d'exemple, les figures 2 a et b montrent les teneurs en acides phénols de cinq cépages blancs (« Seara Nova » à « Verdelho ») et cinq cépages rouges dans des vins élaborés à partir de raisins récoltés dans la région de Pico. La figure 2a donne les valeurs absolues (mg/l) en acides phénols montrant que l'acide caftarique est l'acide le plus important dans les cépages blancs, et que dans les cépages rouges, la teneur en acide gallique est plus élevée, supérieure à 10 mg/l pour atteindre des valeurs dépassant souvent 20 mg/l jusqu'à 53 mg/l, dans l'un des cas. Étant donné que les teneurs absolues peuvent varier considérablement d'un vin à l'autre, il est intéressant de considérer la concentration de chaque acide phénol par rapport à la concentration totale des acides phénols dans l'échantillon (figure 2b). Sur cette dernière, on constate que quelle que soit la concentration absolue, l'acide caftarique est prédominant dans tous les vins étudiés (sauf dans deux vins rouges qui contiennent plus d'acide gallique que d'acide caftarique) et que les proportions des autres acides phénols varient selon le cépage. Pour étudier l'effet millésime, quatre vins blancs (1993 à 1997) élaborés à partir des mêmes cépages ont été analysés. Pour comparer ces vins, il convient de montrer la concentration de chaque acide phénol en termes de pourcentage de la teneur totale en acides phénols dans chaque vin.

Comme le montre la figure 3, pour le vin blanc d'assemblage, noté « B2 » les teneurs relatives, par rapport au total, restent relativement constantes pour les acides gallique et caftarique ; il y a une légère augmentation de

Tableau V - Conditions de gradient des solvants

Mobile phase gradient conditions			
Temps final	A%	B%	C%
0	100	0	0
5	100	0	0
15	96	4	0
25	92	8	0
25,1	0	8	92
45	0	20	80
50	0	30	70
55	0	40	60
60	0	80	20
65	100	0	0

Tableau VI - Caractéristiques analytiques pour la détermination des monomères flavanoides dans les échantillons de vins par HPLC-UV

HPLC analytical parameters for the target analytes in the samples			
Composés phénoliques	Temps de rétention	Intervalle de calibration (mg/l)	Coefficient de corrélation
Acide gallique	18,7	2-25	0,9999
Acide protocatéchique	26,9	2-25	0,9999
Acide caftarique	35,3	2-25	0,9999
Acide vanillique	42,5	2-50	0,9974
(+)-catéchine	43,9	2-50	0,9999
Acide caféique	45,9	2-25	0,9999
(-)-épicatechine	49,7	2-50	0,9991
Acide p-coumarique	53,6	0-70	0,9999

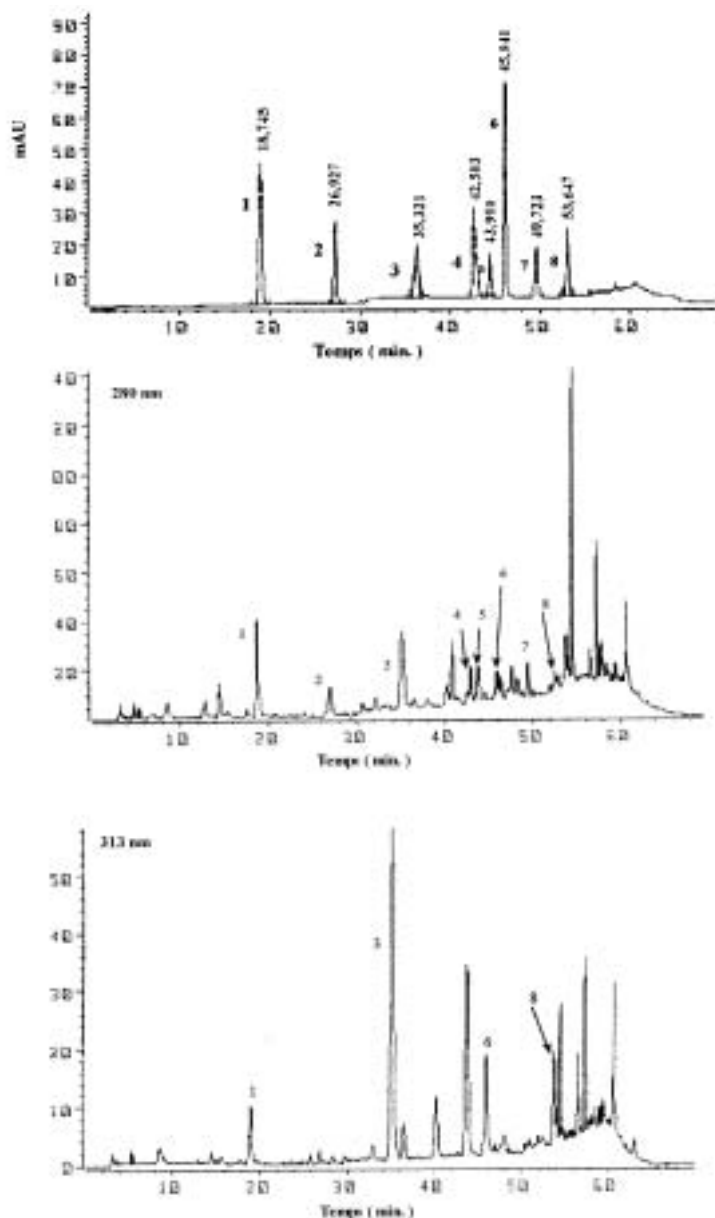


Figure 1 - Chromatogramme des monomères des flavonoïdes et acides phénols

1 : acide gallique, 2 : acide protocatéchique, 3 : acide caftarique, 4 : acide vanillique, 5 : (+) catéchine, 6 : acide caféïque, 7 : (-) épicatechine, 8 : acide p-coumarique
 (a) solution étalon des acides phénols, détection à 280 nm ;
 (b) un vin rouge à 280 nm ; (c) le même vin à 313 nm ;
 (conditions chromatographiques, voir texte)

Chromatogram of the flavanoid monomers and phenolic acids

1: gallic acid; 2: protocatechic acid; 3: caftaric acid; 4: vanillic acid; 5: (+) catechin; 6: (-) epicatechin; 8: p-coumaric acid
 (a) standard solution of phenolic acids
 (b) an example of a red wine; detection 280 nm
 (c) the same wine with detection at 313 nm
 For chromatographic conditions, see text.

7 % en acide protocatéchique entre 1993 et 1996 et le rapport acide caféïque/acide p-coumarique demeure lui aussi constant. En 1996, il y a une nette augmentation 29 % de la concentration en acide caftarique et si on compare ce vin avec une autre assemblage (B3) de la même année, on constate une teneur similaire en acide caftarique et une concentration plus basse (par rapport à 1996) en acide gallique pour les deux vins. Pour les vins rouges assemblés (R1_1995 et R1_1996) on voit que l'acide gallique est l'acide prédominant et que l'acide vanillique est présent dans l'échantillon de 1995 uniquement. Le tableau VII rapporte les valeurs minimales, maximales et moyennes pour chacun des acides phénols étudiés.

En faisant la comparaison entre les teneurs de chaque composé individuel dans les différents types de vins (vins blancs monocépages, vins blancs assemblés...), avec un interval de confiance de 95 %, il a été trouvé que des différences statistiquement ($p < 0,05$) existent uniquement entre les vins blancs et les vins rouges.

II - TENEURS EN CATÉCHINE ET ÉPICATÉCHINE

Les quantités totales de ces deux monomères pour les cépages blancs sont en général inférieures à 30 mg/l, sauf pour deux échantillons qui ont des teneurs très élevées : 51,2 et 74,8 mg/l, respectivement. Dans ce dernier cas, cela est dû à une macération pelliculaire. Pour les vins rouges, les variations dans les concentrations peuvent présenter une grande amplitude : de 49,9 à 328,8 mg/l pour le cépage Agronomica de la région de Pico. Il est à noter que ce cépage présente les teneurs les plus élevées en acides phénols.

La distribution des teneurs en épicatechine (figure 4) et en catéchine (figure 5) pour les vins blancs et rouges est montrée ci-dessous. Plus de 90 % des vins blancs contiennent moins de 14 mg/l d'épicatechine, et 85 % de ces vins ont moins de 14 mg/l de catéchine.

Pour l'épicatechine, dans l'ensemble des vins blancs, l'écart-type des valeurs est de 3,7 et 4,25, les intervalles 0-14 mg/l et 14,1-64 mg/l, respectivement. Les valeurs correspondantes pour les vins rouges sont de 9,52, 3,61 et 17,32 pour les intervalles 14,1-42, 42,1-70 et > 70, respectivement. Le SEM de la teneur en épicatechine pour les vins blancs est de 0,98, et de 6,44 pour les vins rouges.

Pour la catéchine dans l'ensemble des vins blancs, l'écart-type des valeurs est de 4,0 et 13,39 pour les intervalles 0-14 mg/l et 14,1-64, respectivement. Les valeurs correspondantes pour les vins rouges sont de 13,25, 12,54 et 34,03 pour les intervalles 14,1-64, 64 -1-109 et > 109, respectivement. Le SEM de la teneur en catéchine pour les vins blancs est de 1,38, et de 9,77 pour les vins rouges.

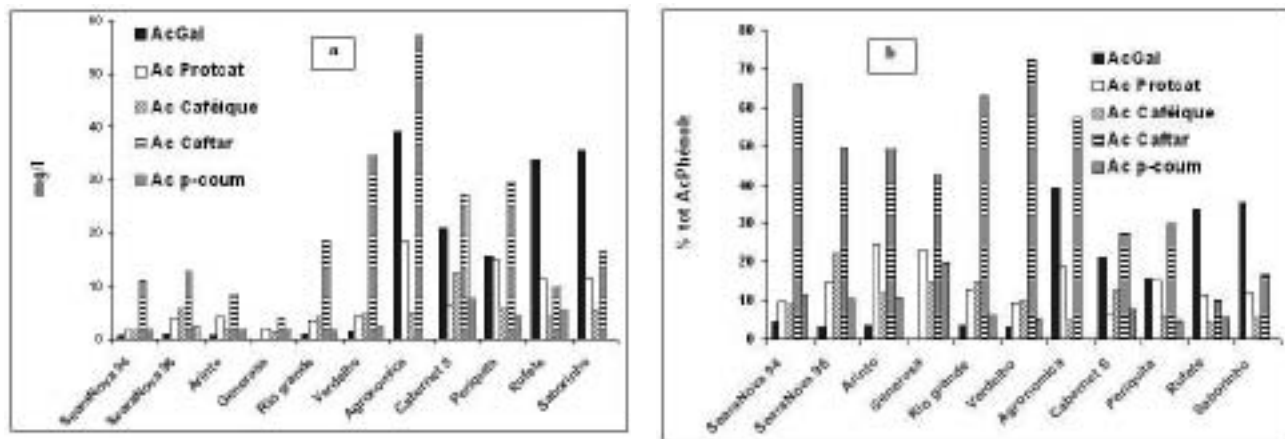


Figure 2 - Teneurs en acides phénols pour 5 cépages blancs (« Seara Nova » à « Verdehla ») et 5 cépages rouges dans des vins élaborés à partir de raisins récoltés dans la région Pico

a : Valeurs absolues (mg/l) ; b : Concentration de chaque acide phénol par rapport à la concentration totale dans l'échantillon

Concentrations of phenolic acids in five white wines (Seara Nova, Verdehla) and five red wines wines made from grapes harvested in the Pico region

a: Absolute values (mg/l); b: Concentration of each phenolic acid as a percentage of the total phenolic acid concentration in the sample

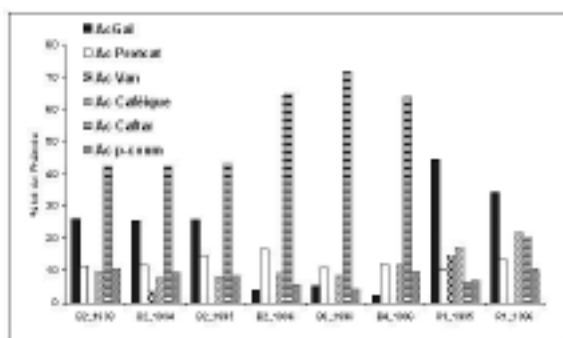


Figure 3 - Teneurs en acides phénols pour les vins blancs (B2, B3 et B4) et rouge (R1) de différents millésimes assemblés

(b) : concentration de chaque acide phénol par rapport à la concentration totale dans l'échantillon

Concentration of phenolic acids for white wines (B2, B3 and B4) and red wines (R1) in different blended vintages.

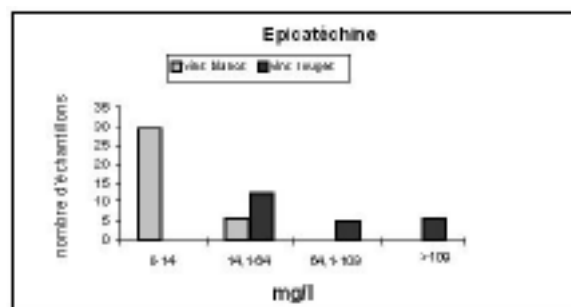


Figure 4 - Distribution des concentrations en épicatechine pour les vins blancs et rouges

Concentration distribution of epicatechin in red and white wines

En faisant la comparaison entre les teneurs des deux composés individuellement dans les différents types de vins (vins blancs monocépages, assemblés...), avec un interval de confiance de 95 %, on trouve une différence statistiquement significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en catéchine des vins blancs monocépages ($p = 0,027$), mais pas entre les vins blancs monocépages et les vins fortifiés ($p = 0,66$), ni entre les vins blancs d'assemblage et les vins fortifiés ($p = 0,16$). Par contre, pour l'épicatechine, il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les différents types de vins blancs ou entre les différents types de vin rouge. Pour les deux composés, il y a une différence très significative ($p = 5,1 \times 10^{-10}$ et $2,5 \times 10^{-14}$ pour la catéchine et l'épicatechine, respecti-

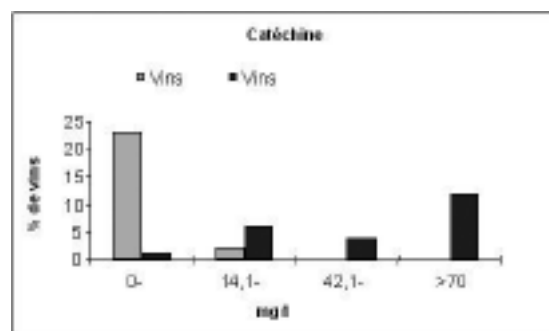


Figure 5 - Distribution des concentrations en catéchine Concentration distribution of epicatechin in red and white wines

vement) entre les teneurs dans les vins blancs et les vins rouges, tout type de vin confondu.

Pour les divers types de vins, nous avons rapporté (tableau VIII) les valeurs minimales, maximales et moyennes, pour chacun de ces monomères, ainsi que la somme de leurs concentrations moyennes : 13,6 mg/l pour les vins blancs et 149,8 mg/l pour les vins rouges.

Les quantités totales de monomères pour les cépages blancs sont en général inférieures à 30 mg/l. Deux échantillons de vins ont des teneurs très élevées de 51,2 mg/l dans la région de Palmela et 74,8 mg/l pour un vin d'assemblage de la région de Graciosa. Pour les vins rouges, les teneurs varient de 49,9 mg/l à 323,8 mg/l respectivement pour les cépages Periquita, de la région de Palmela et Agronómica, de la région de Pico. La comparaison de

**Tableau VII - Teneurs minimales, maximales et moyennes pour les acides phénols étudiés
a : vins blancs ; b : vins rouges**

Minimum, maximum and mean concentrations found for the phenolic acids in the samples

a	VB Monocépage (29)			VB Assemblés (5)			VB Fortifiés (7)			Moyen VB
	Min-max	Moy (+/- ET)	SEM	Min-max	Moy (+/- ET)	SEM	Min-max	Moy (+/- ET)	SEM	(41)
Acide phénol										
Gallique	nd-13,1	2 (2,5)	0,55	0,4-16,3	7,3 (7)	3,14	1,2-19,4	8,5 (6,11)	2,31	5,9
Protocatéchique	nd-5,5	1,9 (1,9)	0,35	1,1-4,7	2,4 (1,36)	0,61	nd-7,3	4,4 (2,34)	0,89	2,9
Vanillique	nd-2,5	0,2 (0,65)	0,12	nd			nd-3,7	0,8 (1,37)	0,52	0,3
Caféique	nd-5,9	3,1 (2,3)	0,43	1,4-6,0	2,6 (1,92)	0,86	2,8-5,2	3,3 (0,86)	0,32	3,1
Caftarique	nd-74,7	21,0 (19,19)	3,56	11,2-30,1	20,6 (7,97)	3,57	12,8-30,1	19,7(6,10)	2,31	20,7
p-coumarique	nd-6,8	2,1 (1,56)	0,29	1,5-3,0	2,1 (0,70)	0,31	1,5-4,7	3,0 (1,13)	0,43	2,3
Total		30,3			35			39,7		33

b	VB Monocépage (29)			VB Assemblés (5)			Moyen VB
	Min-max	Moy (+/- ET)	SEM	Min-max	Moy (+/- ET)	SEM	SEM (41)
Gallique	4,3-46,5	21,09 (11,24)	2,51	14,4-52,3	33,5 (18,95)	10,94	22,7
Protocatéchique	3,1-15,1	8,8 (3,87)	0,86	10,1-23,1	15,4 (6,82)	3,94	9,7
Vanillique	nd-19,0	5,1 (6,47)	1,45	nd-17,3	10,5 (9,2)	5,31	5,8
Caféique	2,8-71,7	9,9 (14,97)	3,35	19,5-21,5	13,6 (9,42)	5,4	9,9
Caftarique	nd-124,3	39,8 (31,68)	7,08	7,1-20,0	9,0 (7,31)	4,22	36,6
p-coumarique	nd-38,3	4,8 (8,97)	2,01	8,1-10,1	9,2 (1,03)	0,59	5,4
Acides phénols totaux		84,4			91,2		90,3

(a) : nombre d'échantillons; nd : non détecté ; ET = écart-type ; SEM : erreur standard de la moyenne

**Tableau VIII - Teneurs en catéchine et épicatechine (mg/l) pour différents vins du Portugal et des Açores
Levels of catechin and epicatechin (mg/l) in different wines of the Azores and mainland Portugal**

Nombre d'échantillons de vin	min-max	Catéchine	Epicatechine	Monomères	Somme des concentrations moyennes
		moyenne	min-max moy		
Vins blancs monocépages (29)	nd - 24,5	8,2	nd - 29,6	3,2	11,4
Vins blancs d'assemblages (5)	6,3 - 51,2	18,1	6,3 - 51,2	8,0	26,1
Vins blancs fortifiés (7)	nd - 15,5	7,1	nd - 15,5	6,4	13,5
Ensemble des vins blancs (41)	nd - 51,2	9,8	nd - 51,2	,4	13,6
Vins rouges monocépages (20)	19,1 - 198,0	77,0	13,8 - 125,8	66,3	143,3
Vins rouges d'assemblages (3)	48,8 - 128,3	90,3	54,3 - 111,8	88,4	178,7
Ensemble des vins rouges (23)	19,1 - 198,0	78,7	13,8 - 128,3	69,2	149,8
Ensemble des vins (64)	nd - 198,0	34,2	nd - 128,3	26,2	60,4

nd : non détecté

Tableau IX - Apport journalier en monomères catéchine et épicatechine en mg/jour/personne
Daily intake of catechin and epicatechin monomers in mg per person per day

	Vin rouge + Vin blanc		Vin rouge		Vin blanc	
	D'après l'O.I.V. Buveurs réguliers	D'après l'O.I.V. Buveurs réguliers	D'après l'O.I.V. Buveurs réguliers	D'après l'O.I.V. Buveurs réguliers	D'après l'O.I.V. Buveurs réguliers	D'après l'O.I.V. Buveurs réguliers
Volume de vin	160 ml	300 ml	160 ml	300 ml	160 ml	300 ml
Monomères	9,7	18,1	24,0	44,9	2,2	4,1

ces résultats, avec les données de la littérature, nous montre que pour les vins blancs, les teneurs trouvées sont légèrement supérieures à celles indiquées par BETES-SAURA *et al.* (1996) dans des vins espagnols, mais bien inférieures à celles signalées par WATERHOUSE et TEISSEDRÉ (1997) (40 mg/l en moyenne).

Les teneurs obtenues pour nos vins dans le cas des vins rouges sont assez proches de celles présentées par GOLDBERG *et al.* (1995) sur un grand nombre d'échantillons issus de différents pays. Elles oscillent pour ces auteurs entre 38 mg/l (cépage Syrah) et 287mg/l (cépage Pinot noir).

Les acides phénols sont dans les baies de raisins, en particulier au niveau des pellicules, sous forme d'esters, soit avec des acides comme l'acide tartrique, soit avec les oses. Si l'on excepte les cépages teinturiers, les composés phénoliques les plus abondants dans la pulpe de raisin sont les acides hydroxycinnamiques (RIGAUD *et al.*, 1990). Ils peuvent atteindre 300 mg/l dans le moût (NAGEL *et al.*, 1979).

Le dérivé le plus abondant est l'ester de l'acide tartrique et de l'acide caféique : l'acide caféoyl tartrique (caftarique). On trouve également un autre ester, l'acide féruloyltartrique (acide fertartrique). Cette étude montre que les vins de cépage blancs (Seara Nova, Generosa, Rio grande) provenant d'une même vigne expérimentale sur l'île de Pico, pour un même millésime (1996) et vinifiés de manière identique, ont des teneurs en acides phénols totaux de 25,7, 9,6 et 29,4 mg/l pour les trois cépages, respectivement. On fait le même constat pour les cépages rouges Agronomica, Cabernet Sauvignon, Perquita et Rufete dont les teneurs en acides phénols totaux sont respectivement de 120, 79,4, 75,5 et 64,7 mg/l. Il est à noter que le cépage Agronomica a des teneurs très élevées également en catéchine et épicatechine (324 mg/l pour les deux monomères confondus) par rapport au cépage Periquita (77 mg/l) alors que l'on n'observe aucune différence dans les vins de monocépages blancs pour ces composés.

III - APPORTS EN ACIDES PHÉNOLS, EN CATÉCHINE ET ÉPICATÉCHINE PAR LES VINS PORTUGAIS

Puisque les polyphénols semblent jouer un rôle bénéfique au niveau cardiovasculaire, nous avons souhaité faire une estimation sur la contribution de la catéchine et de l'épicatechine dans la prise courante journalière de vins, rouges et blancs, par la population portugaise.

Pour le Portugal, les statistiques de l'OIV de 2003, donnent une consommation de vin de 58 litres/habitant/an, soit 160 ml par jour, en deux prises. Néanmoins si on rapporte la consommation aux consommateurs réguliers de vins, il n'est pas incorrect de supposer que celle-ci est environ 4 verres par jour, soit 300 millilitres au minimum. C'est pourquoi nous proposons deux modes de calcul pour estimer l'apport journalier de ces composés et nous les avons appliqués en fonction des teneurs moyennes en monomères catéchine et épicatechine (tableau IX).

Les apports journaliers en monomères par les vins rouges sont abondants chez les consommateurs réguliers et très significatifs pour des consommations estimées à partir des données de l'OIV. Ces chiffres sont en accord avec une étude menée sur les teneurs en composés phénoliques des vins du Languedoc (TEISSEDRÉ et LANDRAUT, 2000) où il a été montré qu'une consommation journalière de 180 ml de vin rouge correspond à un apport de 27 à 53 mg (selon le cépage) de monomères (catéchine, plus épicatechine).

On peut admettre, selon nos données, que le vin contribue dans des proportions significatives à l'apport en catéchine et épicatechine dans la ration alimentaire des portugais. Traduire ces apports en bio-disponibilité ou activité pharmacologique de ces composés paraît plus compliqué puisque les valeurs publiées sur les concentrations sériques ou plasmatiques de catéchine varient énormément en fonction de l'apport et de la matrice (WATERHOUSE *et al.*, 1996 ; CARANDO *et al.*, 1998 ; BELL *et al.*, 2000, GOLDBERG *et al.*, 2003 ; TSANG *et al.*, 2005). Ce sujet a été traité récemment (MANACH *et al.*, 2005) qui a résumé les résultats de 97 études de biodisponibilité des composés phénoliques. La conclu-

sion était que la biodisponibilité est très variable entre les polyphénols : de 0 à 4 µmol/L pour un apport de 50 mg de l'aglycone. Il est donc évident que la bio-disponibilité de ces composés varie énormément selon plusieurs facteurs, notamment le milieu dans lequel les polyphénols sont ingérés en plus de la quantité de nourriture prise au même moment.

Remerciements : M.T. Ribeiro de Lima a été soutenue par une bourse du Programme européen PRAXIS XXI -JUNICT. Nous remercions les différents organismes fournisseurs d'échantillon.

BIBLIOGRAPHIE

- AL-AWWADI N., BORNET A., AZAY J., ARAIZ C., SANDRINE DELBOSC S., CRISTOL J-P., LINCK N., CROS G. and TEISSEDE P.L., 2004. Red wine polyphenols alone or in association with ethanol prevent hypertension, cardiac hypertrophy, and production of reactive oxygen species in the insulin-resistant fructose-fed rat. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 5593-5597.
- AUGER C., B. CAPORICCIO, N. LANDRAULT, P. L. TEISSEDE, C. LAURENT, G. CROS, P. BESANCON, J.M. ROUANET, 2002. Red wine phenolic compounds reduce plasma lipids and apolipoprotein B, and prevent early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic Golden Syrian Hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Journal Nutrition*, **132**, 1207-1213.
- AVIRAM M. and FUHRMA B., 1998. Polyphenolic flavonoids inhibit macrophage-mediated oxidation of LDL and attenuate atherogenesis. *Atherosclerosis*, **137**, S45-S50.
- BELL J.R.C., DONOVAN J.L., WONG R., WATERHOUSE A.L., GERMAN J.B., WALZEM R.L., KASIM-KARAKAS S.E. (2000). (+)-Catechin in human plasma after ingestion of a single serving of reconstituted red wine. *Am. J. Clinical Nutrition*, **71**, 103-108,
- BETES-SAURA C., ANDRES-LACUEVA C. and LAMUELA-RAVENTOS R.M., 1996. Phenolics in white free run juices and wines from Penedès by high-performance liquid chromatography: Changes during vinification. *J. Agr. Food Chem.*, **44**, 3040-3046.
- CARANDO S, TEISSEDE P.L., CABANIS. J.C., 1998. Comparison of (+)-catechin determination in human plasma by high-performance liquid chromatography with two types of detection: fluorescence and ultraviolet. *J. Chromatogr. B*, **707**, 195-201.
- CLEOPHAS T.J., 1999. Wine, beer and spirits and the risk of myocardial infarction: a systematic review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **53**, 417-423.
- DELL'AGLI M., BUSCIALA A. and BOSISIOE., 2004. Vascular effects of wine polyphenols. *Cardiovascular Res.*, **63**, 593-602.
- ESTERBAUER H, DIEBER-ROTHENEDER M, WAEG G., STRIEGL G. and JURGENS G., 1990. Biochemical structural and functional properties of oxidized LDL. *Chem. Res. Toxicol.*, **3**, 77-92.
- FRANKEL E.N., WATERHOUSE A.L. and TEISSEDE P.L., 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoprotein. *J. Agric. Food Chemistry*, **43**, 890-894.
- FU W., CONKLIN B. S., LIN P. H., LUMSDEN A. B., YAO Q. and CHEN C., 2003. Red wine prevents homocysteine-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries. *J. Surgic. Res.*, **115**, 82-91.
- GOLDBERG D.M., YAN J., NGE., KARUMANCHIRI A., SOLEAS G. and WATERHOUSE A.L., 1995. A global survey of *trans*-resveratrol concentrations in commercial wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 159-165.
- GOLDBERG D.M., YAN J. and SOLEAS G. J., 2003. Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clinical Biochemistry*, **36**, 79-87.
- GRØNBÆK M., 2004. Epidemiologic evidence for the cardioprotective effects associated with consumption of alcoholic beverages. *Pathophysiology*, **10**, 83-92.
- LAMUELA-RAVENTOS R.M. and WATERHOUSE A.L., 1994. A direct HPLC separation of wine phenolics. *Am. J. Enol. Vitic.*, **45**, 1-5.
- LEGER C.L., CARBONNEAU M.A., CARTRON E., MONNIER L. and DESCOMPS B., 2000. Implication possible des composés phénoliques du vin dans la prévention de l'athérogenèse : la nouvelle étude *ex vivo* de Montpellier. XXVe Congrès mondial de la vigne et du vin, Paris. *Vin et Santé*, 51-56.
- MANACH C., WILLIAMSON G., MORAND C., SCALBERT A. and REMESY C., 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Amer. J. Clinical Nutrition*, **81**, 230S-242S.
- MANN L.B. and FOLTS J.D., 2004. Effects of ethanol and other constituents of alcoholic beverages on coronary heart disease: a review. *Pathophysiology*, **10**, 105-112.
- MIYAGI K. and INOUE H., 1997. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by flavonoids in red wine and grape juice. *Am. J. Cardiol.*, **80**, 1627-1631.
- NAGEL C.W. and WULF L.W., 1979. Changes in the Anthocyanins, flavonoids and hydroxycinnamic acid esters during fermentation and ageing of Merlot and Cabernet-Sauvignon. *Am. J. Enol. Vitic.*, **30**, 111-116.
- NIGDIKAR S., WILLIAMS N.R, GRIFFIN B.A., HOWARD A.N., 1998. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation. *Am. J. Clin. Nutr.*, **68**, 258-265.
- RENAUD S. and DE LORGERIL M., 1992. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, **339**, 1523-1526.
- RIGAUD J., CHEYNIER V., SOUQUET J.M., MOUTONNET M., 1990. Mécanismes d'oxydation des polyphénols dans les moûts blancs. *Rev. Franc. Œnol.*, **124**, 27-31.
- SATO M., FRAGA C., DA D.K., 2004. Induction of the expression of cardioprotective proteins after mild-to-moderate consumption of alcohol. *Pathophysiology*, **10**, 139-145.

- SUN A. Y., SIMONYI A., SUN, G. Y., 2002. The French paradox and beyond: neuroprotective effects of polyphenols 1, 2, *Free Radical Biology Medicine*, **32**, 314-318.
- TEISSEDRE P.L., FRANKEL E.N. and WATERHOUSE A. L.; PELEG, H.; GERMAN, J. B., 1996b. Inhibition of *in vitro* human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *J. Sci. Food Agric.*, **70**, 55-61.
- TEISSEDRE P-L. and LANDRAULT N. 2000. Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioavailability. *Food Res. Int.*, **33**, 461-467.
- TOMERA J.F., 1999. Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption, *Trends in Food Science & Technology*, **10**, 129-138.
- TSANG C., AUGER C., MULLEN W., BORNET A., ROUANET J.M., CROZIER A. and TEISSEDRE P.L., 2005. The absorption, metabolism and excretion of flavan-3-ols and procyanidins following the ingestion of a grape seed extract by rats. *Brit. J. Nutrition*, **9**, 170-181.
- WATERHOUSE A.L. and TEISSEDRE P.L., 1997. Levels of phenolics in California varietal wines, in *ACS Symposium, Series 661, Wine, Nutrition and Therapeutic Benefits*. Edited by Tom. Watkins, 12-23.

Manuscrit reçu le 29 juin 2005 ; accepté pour publication, après modifications le 3 mars 2006