Connaissance de la Vigne et du Vin,
Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1989, **23,** N° 1, 25-37.

MISE AU POINT D'UNE MÉTHODE DE DOSAGE DES PHÉNOLS SIMPLES DES VINS APPLICATION A DES VINS D'ORIGINES ET D'AGES DIFFÉRENTS

J.P. ROGGERO et P. ARCHIER

Université d'Avignon, Laboratoire de Chimie Organique et Analytique
33, rue Louis-Pasteur, 84000 Avignon (France)

Résumé : *Un certain nombre de composés phénoliques simples des vins peuvent être détectés et quantifiés par chromatographie liquide à haute performance sans extraction préalable. Les résultats enregistrés sur des vins jeunes montrent en particulier que lors des six premiers mois les teneurs en acides gallique et en catéchine augmentent, alors que celle en tyrosol diminue. En ce qui concerne les acides hydroxycinnamoyl-tartriques, on observe souvent un enrichissement, mais ceci affecte peu les teneurs en acides hydroxycinnamiques totaux.*

Dans le cas des vins vieux on constate essentiellement la très haute teneur en tyrosol, particulièrement sur les plus anciens millésimes.

INTRODUCTION

Les vins contiennent de grandes quantités de composés phénoliques généralement confondus sous l'appellation de tanins. Durant longtemps on s'est contenté d'exprimer cet ensemble de composés sous la forme d'indices (indice de Folin-Ciocalteu, indice de matières tannoïdes, indice de polyphénols totaux), puis les méthodes chromatographiques devenant performantes on a cherché à déterminer la concentration du vin en divers composés phénoliques simples (acides phénoliques, catéchines, flavonoides...), le problème de la détermination des tanins condensés, de masses molaires élevées, restant pour l'instant sans solution.

Les premières études, utilisant la chromatographie sur papier (RIBÉREAU-GAYON, 1963), ont permis de mettre en évidence un certain nombre de composés phénoliques ; par la suite la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) s'est imposée.

Toutes les méthodes de dosage des phénols simples utilisent l'extraction, soit par l'éther éthylique (REMINIAC, 1982) soit par l'acétate d'éthyle (KONTEK, 1986 ; SALAGOÏTY-AUGUSTE, 1984) ou encore la percolation du vin sur un absorbant, résine ou polyamide (BERTRAND, 1981 ; BOURZEIX, 1986). En général, le vin est neutralisé pour n'en extraire que les phénols neutres, puis acidifié à pH 2 pour en retirer les acides phénoliques (SALAGOÏTY-AUGUSTE, 1984). Lors de ces manipulations

des artéfacts peuvent se produire : hydrolyses, isomérisations cis-trans d'acides hydroxycinnamiques etc..., ce qui semble expliquer la diversité des résultats obtenus. De plus les extractions sont loin d'être complètes, ainsi que l'ont montré divers travaux (VISERAS, 1986; SALAGOÏTY-AUGUSTE, 1984) et les taux de récupération annoncés sont certainement sujets à erreur car le plus souvent effectués sur des solutions étalons qui sont des «vins synthétiques». C'est en effet oublier que dans le vin, solution au moins partiellement colloïdale, chaque composé phénolique est plus ou moins associé à d'autres substances, ce qui conduit en particulier au phénomène de copigmentation (BROUILLARD, 1988).

De ce fait aucune analyse conduite sur un extrait n'est fiable et ne donne une vue exacte de la composition phénolique du vin considéré. Il n'est pas possible de suivre avec précision l'évolution de ce vin, ni même de l'identifier avec certitude.

La seule méthode analytique rationnelle consiste donc à injecter directement le vin dans la colonne chromatographique sans autre manipulation préalable que la filtration. Si cette technique n'a pas été jusqu'à présent utilisée c'est qu'elle se heurte à des difficultés considérables :

- Il faut disposer d'une colonne hautement performante en raison du très grand nombre et de la grande variété des composés phénoliques présents.

- Il est de plus nécessaire de réaliser un programme de gradient parfaitement adapté.

- Aucune concentration de l'échantillon n'étant possible les composés peu abondants sont difficiles, sinon impossibles à doser.

- Une double détection est indispensable, la détection par une barette de photodiodes représentant la technique idéale.

Malgré ces difficultés, et en dépit du fait que nous n'ayons pu disposer d'un détecteur à barette de photodiodes que pendant quelques jours seulement, nous avons entrepris ce type d'analyse sur des vins de diverses provenances et d'âges très variés.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I — LES VINS

L'étude des vins jeunes a porté sur des échantillons provenant de cinq caves coopératives des Côtes du Rhône (récolte 1987).

Ces échantillons sont indiqués sous les références A, B, C, D et E indicées «s» ou «a» selon qu'ils sont issus de vendanges saines ou altérées (*Botrytis cinerea*). Les vins A, B, et D étaient des assemblages Grenache-Carignan, le vin C provenait du seul cépage Grenache et le vin E du cépage Syrah.

Il est à noter que les vins provenant de raisins altérés avaient été élaborés par chauffage de la vendange et que, de ce fait, ils ne présentaient plus d'activité laccase

lorsque nous les avons analysés. Les analyses ont été réalisées trois et six mois après l'élaboration des vins, à l'exception du vin D analysé une seule fois.

En ce qui concerne les vins vieux nous avons retenu pour cette étude les vins du Mas de Daumas-Gassac (vin de pays de l'Hérault) des millésimes de 1978 à 1986; il s'agit de vins à dominante de Cabernet-Sauvignon et élevés en barriques.

II — APPAREILLAGE

Les séparations ont été réalisées sur un chromatographe Waters-Millipore constitué de deux pompes 590 et 510, d'un programmeur 660 et de deux détecteurs M 481 en série, fixés respectivement à 280 et 313 nm. L'injection de 20 ou 50 μl provenait d'une vanne Rhéodyne 7125 et les signaux étaient reçus par un intégrateur Merck-Hitachi D-2000 à deux canaux. La colonne était une cartouche Merck Superspher RP 18 de 250 mm.

III — MÉTHODES ANALYTIQUES

Le vin simplement filtré sur une membrane Acrodisc 0,45 μ (Gelman Sciences) est injecté dans le chromatographe dans les conditions suivantes :

Solvant A : acide acétique-Eau 5/95 (v/v)

Solvant B : acide acétique-Eau-Acétonitrile 5/65/30 (v/v/v).

Gradient concave (n° 10 du programmeur) de 0 à 20 p. 100 de B en 1 heure, puis linéaire de 20 à 100 p. 100 de B en 50 minutes.

Débit : 0,5 ml par minute.

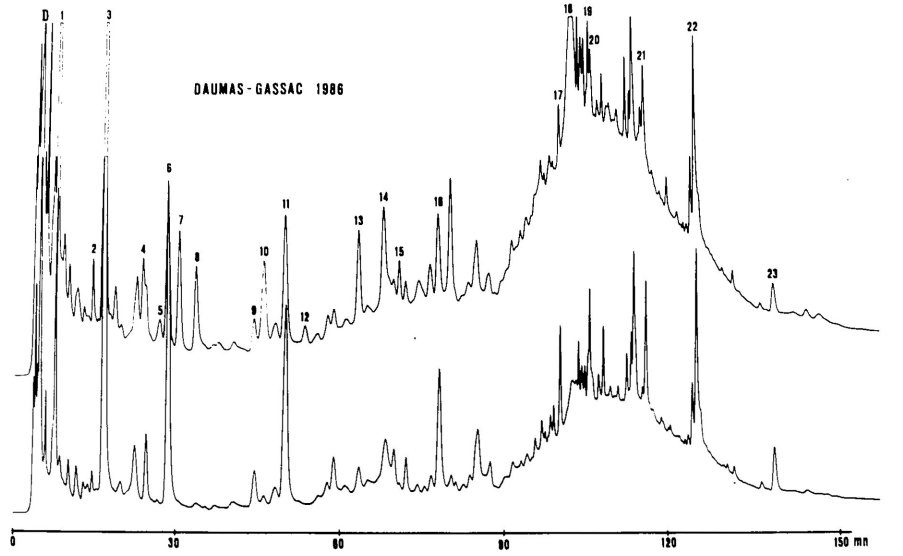
Nos dernières analyses, encore plus performantes, sont réalisées avec un gradient différent, à savoir :

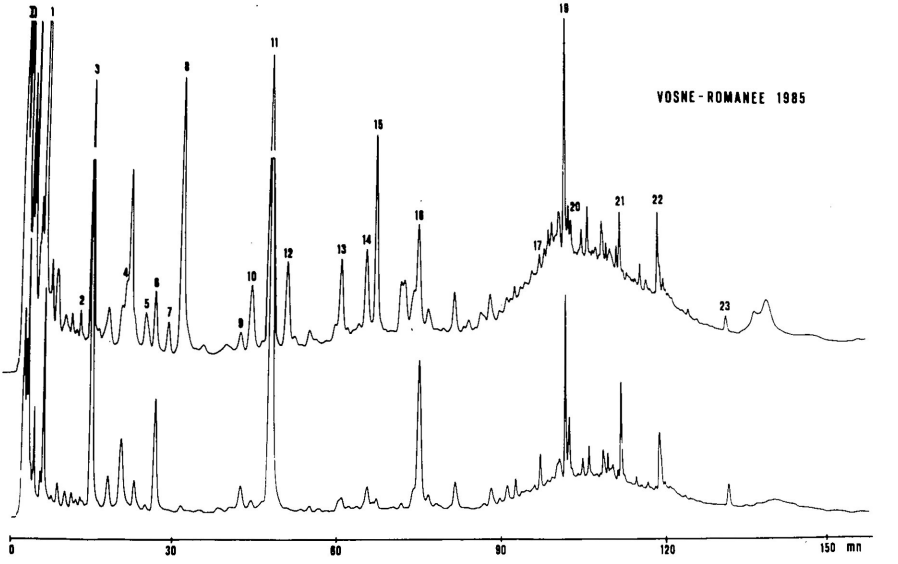
De 0 à 20 p. 100 de B en 1 heure (gradient 8), puis de 20 à 30 p. 100 de B en 20 minutes (gradient linéaire n° 6) et enfin de 30 à 100 p. 100 de B en 40 minutes (gradient n° 6). L'analyse dure alors environ 160 minutes (voir figure).

Les quantifications ont été effectuées en comparant les intégrations des pics identifiés à celles données par des standards commerciaux suivant la méthode de l'étalon externe. Selon le cas le tracé à 280 ou à 313 nm a été utilisé. Les phénols ainsi dosés sont les acides gallique, protocatéchique, p-hydroxybenzoique, caféique, vanillique, p-coumarique et syringique, la (+) catéchine, la (—) épicatéchine et le tyrosol.

En ce qui concerne les acides combinés, caféoyl et coumaroyl-tartriques, nous avons estimé que leurs coefficients d'extinction molaires devaient être voisins respectivement de ceux des acides caféique et coumarique, et nous avons seulement quantifié les formes «trans» identifiées sans ambiguïté. Les autres phénols n'ont pu être quantifiés pour diverses raisons :

- Il est impossible de dissoudre, ni dans le vin, ni dans un vin synthétique, ni même dans l'eau, des quantités significatives d'isoquercitrine, de myricétine, de quercétine





Chromatogrammes du vin de Daumas-Gassac 1986 et de Vosne-Romanée 1985 :

Haut : tracé à 280 nm. Bas : tracé à 313 nm.
1 : acide gallique; 2 : acide protocatéchique; 3 : Acide caféoyl-tartrique; 4 : proanthocyanidol B3 ?;
5 : acide p-hydroxybenzoïque;
6 : acide p-coumaroyl-tartrique; 7 : tyrosol; 8 : (+) catéchine; 9 : acide féruloyl-tartrique ?; 10 : acide vanillique et proanthocyanidol B1 ?; 11 : acide caféique; 12 : proanthocyanidol B4 ?; 13 : acide syringique; 14 : proanthocyanidol B2 ?;
15 : (—) épicatéchine; 16 : acide p-coumarique; 17 : acide férulique; 18 : malvidol-3 glucoside; 19 : isoquercitrine;
20 : tryptophol; 21 : myricétine; 22 : quercétine; 23 kaempférol.

ou de kaempférol ; les solutions alcooliques précipitent dans le solvant d'élution. De ce fait, même identifiés sans ambiguïté, ces composés sont difficilement quantifiables

- L'acide férulique et le tryptophol sont peu abondants (SAPIS, 1969) et apparaissent dans des zones extrêmement encombrées du chromatogramme.

- Les proanthocyanidols n'ont pu être identifiés avec certitude faute d'échantillons authentiques.

- Les formes «cis» des acides hydroxycinnamiques ou hydroxycinnamoyl- tartriques ne peuvent être observées avec certitude. Il est même très possible qu'elles n'existent pas dans le vin et que seule l'extraction en milieu acide soit responsable de leur formation.

La méthode analytique que nous avons mise au point permet d'obtenir des chromatogrammes parfaitement reproductibles pourvu que la colonne soit bien conditionnée. En ce qui concerne les intégrations, la fiabilité des résultats est remarquable pour les composés abondants ou donnant des pics parfaitement résolus. C'est le cas des acides gallique, caféique, p-coumarique, caféoyl et p-coumaroyl-tartriques, de la (+) catéchine et du tyrosol ; les écarts sur trois analyses sont de l'ordre de 2 à 3 p 100 seulement. Beaucoup plus délicates sont les intégrations d'autres pics tels ceux des acides protocatéchique et p-hydroxy benzoique, ou encore de la (—) épicatéchine, qui apparaissent dans des zones où il est difficile de déterminer la ligne de base. Enfin l'acide vanillique est à la fois peu abondant et très voisin d'un composé important (sans doute le proanthocyanidol B 1) ce qui le rend souvent invisible sauf sur le tracé à 313 nm, longueur d'onde qu'il absorbe fort peu.

Quelques parties du chromatogramme sont encore mal résolues, mais notre dernier programme de gradient a permis de repousser très loin la «bosse des tannins» et donc de clarifier toute la partie dans laquelle la majorité des composés phénoliques autres que les flavonoïdes apparaissent. Chaque vin possède donc une «empreinte digitale» tout à fait spécifique comme on le voit sur les chromatogrammes présentés sur la figure.

Notons de plus que l'intégration totale (tanins compris) du chromatogramme réalisé avec une détection à 280 nm se corrèle parfaitement avec l'indice de Folin-Ciocalteu.

RÉSULTATS

I — VINS JEUNES

Les résultats analytiques relatifs aux vins jeunes sont consignés dans le tableau I.

On constate que tous les vins provenant de vendanges saines sont significativement plus riches que les vins issus de raisins altérés en tous les composés dosés, à l'exception toutefois de l'échantillon Ba qui est trois fois plus riche en acides caféique et p-coumarique libres que Bs. Toutefois celui-ci contient plus d'acides combinés et présente des pourcentages importants de ces derniers constituants par rapport aux acides hydroxycinnamiques totaux.

TABLEAU I

Teneurs en composés phénoliques de différents vins des Côtes du Rhône, 3 mois et 6 mois après leur élaboration.

Les teneurs sont exprimées en mg par litre.

	Age	Références								
		As	Aa	Bs	Ba	Cs	Ca	Ds	Da	Es
Acide Gallique	3 mois	50,7	34,7	51	37,5	50,5	41,5	49,8	31,5	32,2
	6 mois	57,4	38,9	55	40,8	58,8	49			44,1
Acide Cafeique	3 mois	8,5	6,8	5,7	16,85	4,95	2,4	6,4	2,6	4,65
	6 mois	9,3	7,8	5,9	16,1	4,65	2,9			5,1
Acide Coumarique	3 mois	2	3	1,55	5,2	1,65	0,6	1	0,9	4,9
	6 mois	2,5	2,3	1,65	4,9	2,2	0,95			3,5
Acide Caféoyl-Tartrique	3 mois	64,2	53,8	52	43,7	52,4	51,6	56,6	34,8	55,8
	6 mois	66,4	60	50,1	43,3	50,5	48,6			53,4
Acide Coumaroyl-Tartrique	3 mois	15,8	17,2	14,5	10,5	14,3	15,8	12,6	10,2	20,1
	6 mois	15,6	17,2	12,9	9,1	12,1	14,4			16,6
Tyrosol	3 mois	24	17,2	30,3	24,8	23,9	26,3	30,8	28,2	33
	6 mois	18,7	12,7	22,8	21,2	27,6	26,3			20,2
(+) Catéchine	3 mois	44,4	39,5	50	8,5	45,8	32,2	33,5	22,2	52,3
	6 mois	57,3	46,8	51,8	10,6	52	40			59
(—) Epicatéchine	3 mois	23,2	11	23,8	7	18,2	17	19,9	13,3	23,8
	6 mois	23,5	13,3	26	13,4	22	12,6			19,6
Acide Caféique Total	3 mois	45,5	37,8	35,7	42,1	35,2	32,2	39	22,7	36,8
	6 mois	47,6	42,4	34,8	41,1	33,8	30,9			35,8
Acide Coumarique Total	3 mois	10,7	12,5	9,6	11	9,6	9,35	8	6,5	16
	6 mois	11,5	11,8	8,8	9,95	8,9	8,9			12,7
Acide Caféique / Acide Coumarique	3 mois	4,25	3,02	3,72	3,83	3,67	3,44	4,88	3,49	2,3
	6 mois	4,14	3,59	3,95	4,13	3,8	3,47			2,82
Catéchine / Epicatéchine	3 mois	1,91	3,59	2,1	1,21	2,52	1,89	1,68	1,67	2,2
	6 mois	2,44	3,52	1,99	0,79	2,36	3,17			3,01
Acide Caféique estérifié %	3 mois	81	82	84	60	86	93	84	89	87
	6 mois	81	82	83	61	86	91			86
Acide Coumarique estérifié %	3 mois	81	76	84	53	83	94	87	86	69
	6 mois	75	81	81	51	75	89			72
Indice de Folin Ciocalteu	3 mois	34,5	32,3	31,4	30,8	30,5	29,5	27,4	29,1	28,2
	6 mois	31,2	29,1	29,7	29,2	29	27,3	25,5	27,2	27

Il est net que l'activité laccase due à *Botrytis cinerea* dégrade largement l'ensemble des phénols végétaux ou s'oppose à leur diffusion dans le vin en raison par exemple d'une modification de la perméabilité des membranes cellulaires.

a) Acide gallique

Dans tous les cas étudiés la teneur en acide gallique libre a augmenté entre le troisième et le sixième mois de 10 à 20 p. 100 en moyenne et même de 37 p. 100 en ce qui concerne le vin Es. Il peut s'agir de l'apport dû au bois de chêne, mais ce phénomène qui concerne aussi quelquefois les acides hydroxycinnamoyltartriques ou hydroxycinnamiques pourrait également provenir de l'hydrolyse d'hétérosides parfaitement visibles dans nos chromatogrammes.

Si tel est le cas cette hydrolyse est limitée dans le temps, car sur des vins âgés, analysés par deux fois à un an d'intervalle, il n'apparaît pas, sauf exception, de modification notable au niveau de la teneur en acide gallique.

b) Acides hydroxycinnamoyl-tartriques et hydroxycinnamiques

Ils subissent quelquefois le phénomène observé pour l'acide gallique, ce qui semble confirmer l'existence des dérivés ternaires entre un acide hydroxycinnamique, l'acide tartrique et le glucose indiqués par ONG et NAGEL (1978 a et b). Les diverses coupures de ces esters pourraient expliquer les légères fluctuations des teneurs en acides hydroxycinnamoyl-tartriques alors que celles en acides hydroxycinnamiques totaux semblent assez stables.

On constate que le rapport acide caféique total sur acide coumarique total varie très peu dans le temps même dans les vins issus de raisins altérés; d'autre part les pourcentages relatifs des acides hydroxycinnamoyl-tartriques par rapport aux acides hydroxicinnamiques totaux sont très importants (de 81 à 93 p. 100) à l'exception du vin Ba qui présente une composition très différente de celles de tous les autres échantillons.

c) Catéchines

Les concentrations en (+) catéchine et (—) épicatéchine manifestent des variations intéressantes.

Dans tous les cas nous voyons augmenter la teneur en catéchine entre les deux analyses, et ceci parfois de manière importante, alors que la teneur en épicatéchine baisse quelquefois. Le vin Ba présente des concentrations très faibles et c'est d'ailleurs le seul qui contienne plus d'épicatéchine que de catéchine, lors de la seconde analyse. On aurait pu espérer que le rapport des concentrations en catéchine et épicatéchine puisse être un critère taxonomique puisqu'il dépend du cépage, ainsi que l'a montré BOURZEIX (1986), mais en fait ses variations semblent importantes, au cours des six premiers mois en tout cas.

d) Tyrosol

La teneur en tyrosol baisse toujours entre la première et la seconde analyse, ce qui manifeste l'existence d'une activité chimique ou enzymatique de dégradation de

TABLEAU II

Teneurs en composés phénoliques des vins de différents millésimes du Mas Daumas-Gassac.

	1978		1979		1980		1981		1982		1983		1984		1985		1986	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Acide Gallique	78	81	88	82	78	86	89,5	87	98	113	120	126	103	—	105	106	82	93,0
Acide Protocachique	11	11	8	11	11	12,8	8	12,6	14,5	16,3	20	20,3	13	—	10,5	11,5	10	12,8
Acide p-Hydroxy-Benzoïque	2	2	3	2,8	3	4	4	5,0	6	5,3	—	7,1	4	—	4,5	7,4	15	6,1
Acide Caféoyl-Tartrique	39	49,0	39,5	52,5	35,5	45,5	27,5	36,6	44	59,2	22	28,2	50	—	74	74,3	68,5	72,7
Acide Coumaroyl-Tartrique	12,5	16,7	11,5	17,7	13	15,6	10,5	14,05	15,5	20,4	6,5	7,85	11,5	—	17,5	18,8	17,5	20,0
Acide Vanillique	—	5,3	2,5	5,9	—	5	4,5	5,5	—	4,3	—	6,1	5	—	4	4,8	3,5	3,9
Acide Caféique	10,5	11,85	13	14	18	20,8	18	21	11,5	14,8	20	26,0	14,5	—	10	8,6	11	12,2
Acide Coumarique	3,5	3,2	4	4	5,5	5,8	12,5	14,2	6,5	9,1	9	11,3	5	—	3	3,85	3,5	4,4
Acide Syringique	9	5,5	8	6,2	10	5,4	10	8,4	10	6,9	14,5	7,2	6,5	—	7,5	8	6	7,3
Catéchine	22,5	28,5	19	30,1	24	31,5	27,5	39,4	32	42,8	40	46,3	37,5	—	40,5	47,0	33	39,5
Épicatéchine	4	9,7	4,5	6,5	—	12,9	5,5	7,9	9,5	11,95	16,5	12,8	9,5	—	8,5	9,8	10	7,6
Tyrosol	73	73,5	71	73,3	52,5	55,5	53	56,5	48	50,6	45	43,6	39	—	45	48,2	50,5	50,7
Acide Caféique Total	33	39	36	43,1	38,5	46,0	34	42,1	37	47,6	32,5	42,3	43	—	52,5	51,5	50,5	54,1
Acide Coumarique Total	10,5	12,85	10,5	14,2	12,5	14,8	18	22,0	15	20,9	13	15,6	11,5	—	13	14,3	13	15,5
Rapports																		
Caféique/Coumarique	3,2	3,04	3,4	3,04	3	3,16	1,9	1,91	2,4	2,28	2,5	2,7	3,8	—	4,1	3,6	3,8	3,5
Catéchine/Épicatéchine	5,4	2,94	4	4,6	—	2,44	5,2	5,0	3,3	3,58	2,4	3,6	3,9	—	4,7	4,9	3,3	5,2
Caféique estérifié %	68	70	64	68	53	55	46	50	61	69	39	38	67	—	81	83	78	78
Coumarique estérifié %	67	75	61	72	57	61	32	35	56	56	28	28	56	—	75	73	74	72

A : analyses effectuées début 1988; B : analyses effectuées en janvier 1989.

ce phénol. On peut toutefois penser que cette réaction cesse par la suite car, dans des vins d'origine différente (vin du Mas de Daumas-Gassac) la concentration en tyrosol est la plus forte dans les plus vieux millésimes.

e) Autres phénols

Les concentrations en acide vanillique, protocatéchique, p-hydroxybenzoique, syringique, sont en général faibles ou peu significatives dans les vins étudiés. Toutefois on peut indiquer, ce qui sera à comparer avec les évolutions ultérieures, que les teneurs en acides p-hydroxybenzoique varient de 5 à 15 mg par litre et celles en acide protocatéchique entre 1,8 et 6,5 mg par litre.

II — VINS VIEUX

Les vins du Domaine de Daumas-Gassac sont réputés pour leur grande richesse tannique que nous retrouvons dans nos analyses dont les résultats sont rassemblés dans le tableau II. On note la remarquable similitude des millésimes 78, 79 et 80 et celle, moins nette, des 81 et 83.

a) Acide gallique

La teneur varie de 78 à 120 mg par litre avec des fluctuations nullement liées à l'âge du vin, mais seulement aux variations annuelles. Il est donc net que s'il y a eu hydrolyse d'hétérosides comme nous l'avons envisagé pour les vins jeunes, cette transformation a cessé. Toutefois, nos analyses sur les mêmes vins réalisées un an plus tard montrent dans quelques cas des augmentation de 6 à 15 mg par litre de la teneur en acide gallique.

On note également que, contrairement au cas des vins jeunes des Côtes du Rhône, l'acide gallique est plus abondant que l'acide caféoyl-tartrique dans les vins du Domaine de Daumas-Gassac. Il en est de même pour les vins de Vosne-Romanée récemment étudiés (Tableau III).

b) Acide protocatéchique

La richesse en acide protocatéchique, pas plus que celle en acide gallique, n'est liée à l'âge, le vin de 78 et celui de 86 ayant les mêmes teneurs. On note une richesse particulière pour le millésime 1983. Aucune modification n'apparait dans les analyses réalisées un an plus tard.

c) Acide p-hydroxybenzoique

Cet acide relativement abondant dans un vin assez jeune (15 mg par litre pour le millésime 86, valeur semblable à celles trouvées dans l'étude précédente) semble disparaitre ensuite rapidement et se stabiliser à 2-4 mg par litre, valeur acquise au bout de deux ans. Rappelons toutefois que cet acide est délicat à doser et notons que le millésime 1986 pourrait être exceptionnel. Cependant, un an plus tard nous lui trouvons seulement 6 mg d'acide p-hydroxybenzoïque par litre ce qui pourrait confirmer l'évolution de ce composé.

TABLEAU III

Teneur en composé phénolique des vins de différents millésimes d'un même cru de l'appellation Vosne-Romanée.

	Millésimes					
	78	81	82	83	84	85
Acide Gallique	85,9	60,6	56,5	39,4	97,3	72,6
Acide Protocatéchique	9,6	6,0	3,6	4,5	5,6	6,5
Acide p-Hydroxy-Benzoïque	6,5	6,8	6,1	7,3	8,6	7,4
Acide Caféoyl-Tartrique	69,4	50,3	26,8	7,2	55,6	29,1
Acide Coumaroyl-Tartrique	19,4	12,2	7,1	2,3	13,9	6,5
Acide Vanillique	5,5	3,7	4,7	7,6	(?)	5,5
Acide Caféique	10,4	10,0	14,7	5,35	15,9	24,1
Acide Coumarique	2,6	4,1	4,9	1,75	4,6	6,2
Acide Syringique	6,3	7,5	6,9	6,9	5,0	5,85
Catéchine	71,5	101,4	105,5	121,5	135,5	115,1
Epicatéchine	22,0	31,7	34,7	27,2	47,3	41,05
Tyrosol	14,9	15,2	15,2	16,3	16,7	12,4
Caféique Total	50,4	39,0	30,2	9,5	48,0	40,9
Coumarique Total	13,3	10,8	8,8	3,0	12,3	9,8
Caféique/Coumarique	3,8	3,6	3,4	3,2	3,9	4,2
Catéchine/Épicatéchine	3,3	3,2	3,04	4,47	2,9	2,8
Caféique estérifié	79 %	74 %	51 %	44 %	67 %	41 %
Coumarique estérifié	80 %	63 %	44 %	42 %	63 %	37 %

Analyses effectuées début 1989.

d) Acides hydroxycinnamoyl-tartriques

Il existe des disparités importantes d'un millésime à l'autre au niveau de ces composés, notamment en ce qui concerne le plus abondant d'entre eux, l'acide caféoyl-tartrique dont la teneur varie de 22 à 68 mg par litre. C'est le millésime 1983 et à un moindre titre le 1981 qui sont les plus pauvres en ces acides, mais aussi les plus riches en acides caféique et p-coumarique libres. De ce fait les teneurs en acides hydroxycinnamiques totaux sont toutes du même ordre.

Les analyses effectuées l'année suivante ont montré qu'à l'exception des millésimes les plus jeunes, 1985 et 1986, de fortes hausses de concentration apparaissent,

en moyenne de 10 et 5 mg par litre respectivement pour les acides caféoyl et p-coumaroyl-tartriques.

e) Acide vanillique

Peu abondant il est difficile à doser. On peut néanmoins dire que sa teneur reste assez stable (de 4 à 6 mg par litre).

f) Acide syringique

Sa concentration semble augmenter, puis se stabiliser autour de 8-10 mg par litre. L'acide syringique pourrait être un produit de dégradation du glucoside de malvidol.

g) Acides hydroxycinnamiques

La teneur en acides caféique et p-coumarique est assez stable dans les vins du Domaine de Daumas-Gassac, à l'exception pour les millésimes 1981 et 1983. Les analyses réalisées l'année suivante montrent de plus que ces millésimes, ainsi que le 1982, voient encore s'accroitre leur teneurs. Il est ici à peu près certain qu'une hydrolyse d'esters d'acides hydroxycinnamoyl tartriques s'effectue.

Le rapport acide caféique total sur acide coumarique total semble présenter un minimum entre 4 et 6 ans avant de revenir à sa valeur initiale. Il est à noter que l'acide coumarique est incomparablement plus abondant que l'acide caféique dans les esters d'anthocyanes, alors que l'acide caféique existe essentiellement à l'état libre ou en combinaison avec l'acide tartrique

En ce qui concerne les rapports des acides hydroxycinnamoyl-tartriques aux acides hydroxycinnamiques totaux, on note les valeurs exceptionnellement basses des millésimes 1981 et surtout 1983 et il serait intéressant de savoir si cela correspond à des propriétés organoleptiques spécifiques. Pour les autres millésimes ces rapports baissent très légèrement de 74-78 p. 100 à 61-68 p. 100 de la première à la neuvième année. Le pourcentage est pratiquement toujours un peu supérieur pour l'acide caféique que pour l'acide coumarique ce qui est aussi le cas dans les vins jeunes.

h) Tyrosol

Il est remarquable de constater à quel point le tyrosol est abondant dans les vins vieux du Domaine de Daumas-Gassac. Nos dernières analyses réalisées un an après celles présentées ici montrent des augmentations de 3 à 5 mg par litre pour les millésimes 79 à 81, mais aucun changement pour le 78. Ce serait donc entre la septième et la dixième année qu'une accumulation se produirait dans ce vin. Par contre, des analyses récentes sur des Romanée, des millésimes 1978 à 1985 montrent que tous ces vins ont une teneur semblable en tyrosol d'environ 15 mg par litre.

Ce phénol provenant de la dégradation de la tyrosine il semblerait utile de connaître parallèlement la teneur en protéine des vins analysés.

i) Catéchines

Les vins de millésimes 1982-1986 contiennent tous entre 30 et 40 mg par litre de (+) catéchine et de 8 à 16 mg par litre de (—) épicatéchine; par contre les vins plus

anciens sont moins riches et contiennent de 10 à 20 mg par litre de (+) catéchine et de 4 à 5 mg par litre de (—) épicatéchine.

En fait le problème semble complexe, car nos dernières analyses révèlent qu'au cours de l'année écoulée tous les vins du Domaine de Daumas-Gassac se sont enrichis en (+) catéchine (entre 6 et 12 mg par litre) et beaucoup ont également vu leur teneur en épicatéchine augmenter (de 2 à 6 mg par litre) quoique certains aient perdu 2 à 3 mg par litre de ce dernier composé. Il n'est donc pas certain que l'évolution d'un vin soit continue et peut-être bien que ce qui est gagné au cours d'une année puisse être perdu par la suite.

En raison de ces fluctuations le rapport des teneurs en (+) catéchine et (—) épicatéchine est difficile à interpréter. Il semble toutefois augmenter d'une année sur l'autre pour un même millésime, ce qui parait normal car l'épicatéchine est plus réactive et doit intervenir dans diverses réactions (ROGGERO et *al.*, 1987).

CONCLUSION

Ce travail constitue une première approche de l'étude de l'évolution des phénols simples dans les vins au cours des premiers mois suivant l'élaboration et du vieillissement ultérieur. Quelques faits notables ont pu être mis en évidence, comme l'accumulation du tyrosol dans les vins âgés du domaine de Daumas-Gassac, mais devront être vérifiés sur d'autres échantillons de provenances diverses. Le fait nouveau le plus important est toutefois que la chromatographie liquide peut être appliquée au vin sans extraction préalable et donner la possibilité de quantifier un assez grand nombre de phénols importants.

Il est dans notre intention de poursuivre l'étude de nos échantillons pendant plusieurs années de vieillissement, afin de noter l'évolution individuelle des vins au lieu de comparer les vins de millésimes différents.

Manuscrit reçu le 19 décembre 1988; accepté pour publication le 15 février 1989.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERTRAND A. et SALAGOÏTY-AUGUSTE Marie-Hélène, 1981. Dosage des acides-phénols dans les vins par chromatographie liquide à haute pression. *Ann. Fals. Exp. Chim.* N° 74, 17-28.

BOURZEIX M., CLARENS M. et HEREDIA N., 1986. Les procyanidols de la grappe de raisin et du vin. *Bull. Liaison Groupe Polyphénols,* N° 13, 403-411.

BROUILLARD R., CHEMINAT A. et MAZZA G., 1988. La réaction de copigmentation. *Bull. Liaison Groupe Polyphénols.* N° 14, 12-19.

KONTEK A., 1986. La détermination par HPLC de la (+) catéchine et de la (—) épicatéchine des baies de raisin et des vins. *Bull. Liaison Groupe Polyphénols,* N° 13, 467-469.

ONG B.Y. et NAGEL W., 1978 a. Hydroxycinnamic acid tartaric acid ester content in mature grapes and during the maturation of white Riesling grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, **29,** N° 4, 277-281.

ONG B.Y. et NAGEL W., 1978 b. High pressure liquid chromatographic analysis of hydroxycinnamic acid tartaric esters and their glucose esters in *Vitis Vinifera. J. Chromatogr.*, **157,** 345-355.

REMINIAC C. et GOIFFON J.P., 1982. Étude des composés phénoliques du vin par chromatographie liquide à haute performance. *Bull. liaison Groupe Polyphénols,* N° 11, 426-431.

RIBÉREAU-GAYON P., 1963. Les acides-phénols de *Vitis vinifera. C.R. Acad. Sci.* **256,** 4108-4111.

ROGGERO J.P., COEN S., ARCHIER P. et ROCHEVILLE-DIVORNE C., 1987. Étude par C.L.H.P. de la réaction glucoside de malvidine-acétaldéhyde-composé phénolique. *Connaissance Vigne Vin,* **21,** N° 3, 163-168.

SALAGOÏTY-AUGUSTE Marie-Hélène et BERTRAND A., 1984. Wine phenolics. Analysis of low molecular weight components by High Performance Liquide Chromatography. *J. Sci. Food agric.*, **35,** 1241-1247.

SAPIS J.C. et RIBÉREAU-GAYON P., 1969. Étude dans les vins du tyrosol, du tryptophol, de l'alcool phényléthylique et de la γ-butyrolactone, produits secondaires de la fermentation alcoolique. *Ann. Technol. agric.*, **18,** N° 3, 207-219.

VISERAS C., GUILLEN D.A., BARROSO C.G., CELA R. et PEREZ-BUSTAMANTE J.A., 1986. Liquid-liquid extraction of polyphénolic acids and aldéhydes. *Bull. Liaison Groupe Polyphénols,* N° 13, 154-156.