SUR LE DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES TOTAUX DANS LES VINS PAR LA METHODE FOLIN-CIOCALTEU

F.R. MONTREAU
Université Paul Sabatier
Laboratoire de Technologie Agricole
145, Avenue de Muret - 31300 Toulouse

Le taux de substances phénoliques dans les moûts et les vins est devenu un des éléments analytiques qui guident l'œnologue dans la conduite de la vinification et la surveillance des vins faits.

Aucune méthode de détermination, actuellement pratiquée, n'est totalement satisfaisante en raison du manque de reproductibilité des mesures.

Après avoir étudié et comparé trois méthodes, RIBÉREAU-GAYON (1970) conseille la détermination à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu (FC) qui présente l'avantage d'être, parmi deux autres, la plus spécifique des substances phénoliques.

Cependant, on ne saurait ignorer une difficulté de cette méthode :

La coloration due à la réaction polyphénols-réactif (FC) évolue avec le temps, cette évolution étant rapide au début puis diminuant par la suite ; pour cette raison, les erreurs de mesure peuvent être fortes et le travail en série impossible. Dans ce travail, nous avons étudié l'évolution de la coloration en fonction du temp et de la température, afin de fixer le mode opératoire pour obtenir des résultats reproductibles.

Rappel du mode opératoire

La composition du réactif Folin-Ciocalteu (réactif FC) et sa préparation sont bien connues (SINGLETON et ROSSI 1965, SAPIS et RIBÉREAU-GAYON 1968) et ne seront pas rappelées.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, on introduit :

— 1 ml de vin préalablement dilué

— 5 ml de réactif FC
après 3 minutes

— 10 ml d'un solution à 20 p. 100 de carbonate de sodium anhydre.

On complète à 100 ml et on effectue la mesure, après 30 mn, à 700 nm et sous une épaisseur de 10 mm.

Influence de la température

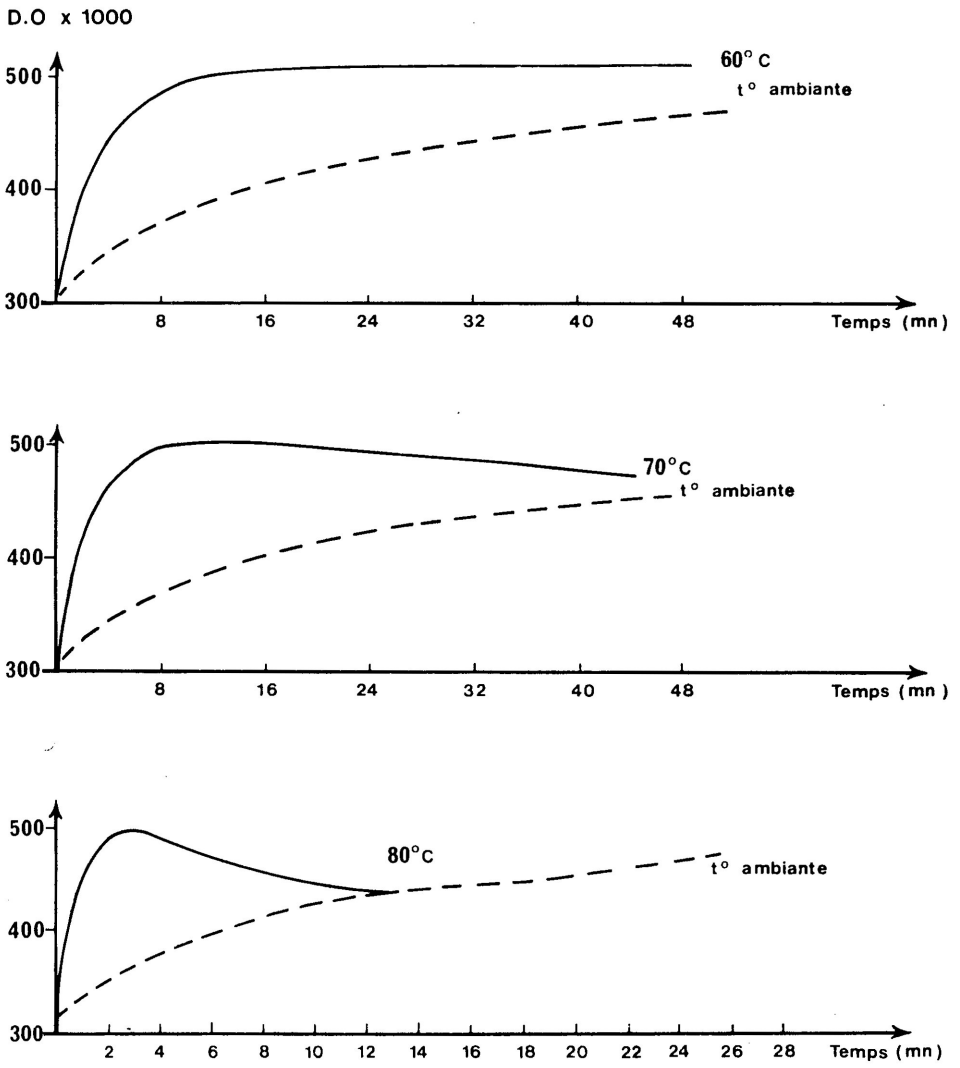


Fig. 1. — Evolution de la densité optique (x 1000) d'une solution d'acide gallique en fonction de la température et du temps de chauffage.

A 85 ml d'une solution d'acide gallique à 5 mg par litre, on ajoute 5 ml de réactif FC, 10 ml de carbonate de sodium à 20 p. 100.

On répartit en tubes, à raison de 5 ml par tube.

Des 20 échantillons ainsi préparés, 19 sont placés au bain-marie réglé à la température T, le vingtième est laissé à la température ambiante.

Trois essais analogues sont faits aux températures :

$T_1 = 60° C$
$T_2 = 70° C$
$T_3 = 80° C$

Dans chaque essai, on prélève un tube toutes les 2 minutes et on relève sa densité optique à 700 nm. Les résultats sont représentés sur les graphiques 1, 2 et 3. Le tableau I donne les résultats obtenus dans les mêmes conditions avec un vin dilué au lieu d'une solution d'acide gallique.

TABLEAU I

Evolution de la densité optique (x 1000) d'un vin chauffé à 70° C, en fonction du temps de chauffage exprimé en minutes.

Temps	D. O.	Temps	D. O.	Temps	D. O.
2	479	14	588	26	582
4	540	16	588	28	582
6	563	18	588	30	580
8	580	20	588	32	578
10	586	22	588	34	577
12	588	24	586	36	575

Résultats

L'examen des graphiques permet plusieurs constatations :

1. La coloration se stabilise après :

— 18 mn à 60° C
— 10 mn à 70° C
— 4 mn à 80° C

2. Selon la température, la coloration persiste :

— définitivement à 60° C (du moins dans le temps de l'expérience)
— 12 mn à 70° C
— 1 mn à 80° C

A l'issue des temps indiqués, la densité optique baisse plus ou moins rapidement selon la température et des précipités apparaissent.

3. Le tube témoin évolue plus lentement que les tubes chauffés et n'atteint sa densité optique maximum qu'après plusieurs heures.

Conclusions

Les résultats de cette série d'essais permettent de proposer soit une température de 60° C pendant 18 à 20 minutes soit une température de 70° C pendant 10 à 12 minutes pour obtenir une réaction totale et stable.

En fait, nous choisissons la deuxième solution : 70° C pendant 10 à 12 minutes en raison du gain de temps sur plusieurs séries de dosage.

Application à l'évolution d'une échelle

Afin de connaître l'influence de la concentration en polyphénols sur les résultats précédents, on procède aux expériences à 70° C sur une solution de tanin à l'acool dilué à 5/100, 10/100, 15/100 et 20/100.

Chaque série de tubes comprend les 4 dilutions ; une série sera laissée à température ambiante, les autres étant soumises à la température de 70° C pendant respectivement 5, 11, 17, 23 et 33 minutes.

L'examen à 700 nm a donné les résultats rassemblés dans le tableau II.

Un nouvel examen de la série 2 est fait après 2 heures ; il donne strictement les mêmes résultats que précédemment (sauf pour le premier tube : 0,217 contre 0,216).

Enfin la série laissée à température ambiante, examinée à plusieurs reprises, n'a pas atteint les résultats de la série 2 après une heure (Tableau III).

TABLEAU II

Densités optiques (x 1000) en fonction de la dilution et du temps de chauffage à 70° C.

N° de la série	Temps de chauffage (en minutes)	Dilutions			
		5/100	10/100	15/100	20/100
1	5	215	372	547	722
2	11	216	377	551	725
3	17	216	377	550	720
4	23	215	375	542	700
5	33	205	361	525	675

TABLEAU III

Densités optiques (x 1000) en fonction de la dilution et du temps d'attente à la température ambiante.

Temps d'attente (en minutes)	Dilutions			
	5/100	10/100	15/100	20/100
0	110	191	283	374
30	163	279	398	528
60	171	296	438	572
90	183	315	467	609
120	191	330	486	643

On peut voir qu'à température ambiante, le maximum de coloration, observé dans les échantillons non chauffés, n'est pas atteint après 2 heures.

Conclusions

La méthode proposée au paragraphe précédent donne de bons résultats quelle que soit la concentration. Elle assure, de plus, une stabilité de l'échelle pendant 2 heures minimum, ce qui autorise le dosage en série.

Précision des mesures

Les mesures obtenues par la méthode classique ont des erreurs relatives de 1,5 à 8,5 p. 100. Afin de connaître la précision de la méthode proposée ici, nous avons testé 10 vins rouges.

Chaque vin subit l'opération suivante :

dans une fiole jaugée de 100 ml, on place :

— 1 ml de moût ou vin rouge, préalablement dilué au 1/5

— 5 ml de réactif FC

— 10 ml de la solution à 20 p. 100 de carbonate de soduim.

On complète à 100 et le contenu de chaque fiole est réparti en 3 tubes qui sont, alors, placés à 70° C pendant 10 minutes, refroidis sous eau courante, laissés quelques minutes à température ambiante et passés au spectrophotomètre.

Une opération identique est recommencée après 1 jour et une autre après 2 jours.

Dans chaque opération, l'erreur calculée à partir des trois mesures, le calcul se faisant selon la méthode appliquée par SAPIS et RIBÉREAU-GAYON, sera due à la technique tandis qu'entre les moyennes des trois opérations, elle sera due à l'opérateur ou à l'évolution du vin.

Résumés dans le tableau IV, les résultats montrent :

1. que l'écart varie entre :

— 0 et 1,1 p. 100 dans la 1re série

— 0,1 et 0,8 p. 100 dans la 2me série

— 0,1 et 0,5 p. 100 dans la 3me série

La méthode donne une bonne précision.

2. qu'entre les trois séries, l'écart calculé à partir des différentes moyennes varie entre :

— 0,2 et 1,0 p. 100

TABLEAU IV

Densités optiques (x 1000) observées avec 10 vins chauffés 10 mn à 70° C (série 1) puis après attente de 1 jour (série 2) et de 2 jours (série 3).

Vins	m 1	m' 1	m'' 1	$\bar{m}$ 1	écart p. 100	m 2	m' 2	m'' 2	$\bar{m}$ 2	écart p. 100
1	491	493	493	492,3	0,2	503	496	498	499	0,8
2	535	531	531	532,3	0,5	535	534	534	534,3	0,1
3	460	452	452	454,6	1,1	451	455	452	452,6	0,5
4	476	475	477	476	0,2	483	485	483	483,6	0,2
5	338	340	339	339	0,2	341	340	340	340,3	0,2
6	403	404	403	403,3	0,1	405	402	407	404,6	0,6
7	1250	1250	1250	1250	0	1255	1260	1260	1258,3	0,2
8	455	461	459	458,3	0,7	452	451	450	451	0,2
9	805	800	805	803,3	0,4	803	801	805	803	0,2
10	810	810	810	810	0	810	810	815	811,6	0,4

Vins	$\bar{m}$ 1	$\bar{m}$ 2	$\bar{m}$ 3	$\bar{m}$	écart p. 100	m 3	m' 3	m'' 3	$\bar{m}$ 3	écart p. 100
1	492,3	499	497,6	496,1	0,7	495	500	498	497,6	0,5
2	532,3	534,3	536	534,2	0,3	535	534	539	536	0,5
3	454,6	452,6	453,6	453,6	0,2	455	454	452	453,6	0,3
4	476	483,6	480,6	480	0,8	481	481	480	480,6	0,1
5	339	340,3	337,3	338,3	0,2	337	338	337	337,3	0,2
6	403,3	404,6	399,3	402,4	0,7	401	398	399	399,3	0,4
7	1250	1258,3	1238,3	1248,8	0,8	1240	1240	1235	1238,3	0,2
8	458,3	451	451	453,4	1,0	452	452	449	451	0,4
9	803,3	803	793	799,7	0,8	795	795	789	793	0,5
10	810	811,6	816,6	812,7	0,4	815	817	818	816,6	0,1

Nota : Ecart p. 100 est l'écart à la moyenne de trois mesures pour la mesure la plus éloignée.

Conclusions

Nous proposons de porter le vin à analyser, additionné des réactifs, à 70° C pendant 10 minutes, de le refroidir sous eau courante et, après l'avoir porté à température ambiante, de faire la mesure à 700 nm sous 10 millimètres d'épaisseur.

Cette méthode présente l'avantage de stabiliser la réaction 2 heures au minimum et de permettre ainsi des dosages en série. Les résultats peuvent être exprimés en densité optique (corrigée de la dilution) ou en g par litre d'acide gallique à partir d'une courbe étalon établie dans les mêmes conditions.

Manuscrit reçu le 25 septembre 1972.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RIBÉREAU-GAYON P., 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges, **Chim. Anal., 52,** n° 6.

SAPIS J.C. et RIBÉREAU-GAYON P., 1968. Transformation des composés phénoliques au cours du brunissement. **Conn. Vigne Vin,** n° 4, 323-348.

SINGLETON V.L. et ROSSI J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, **Amer. J. Enol., 16,** 144-158.