RECHERCHES SUR LA STRUCTURE ET LES PROPRIETES DES COMPOSES PHENOLIQUES POLYMERISES DES VINS ROUGES

I. — PRECIPITATION PAR L'ALDEHYDE FORMIQUE ET PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE CONCENTRE.

Y. GLORIES
Institut d'Œnologie
Université de Bordeaux II
351, Cours de la Libération
33405 Talence (France)

INTRODUCTION GENERALE

Les tanins du vin sont un mélange de polymères de flavanes plus ou moins condensés appelés flavolanes dont la structure varie suivant l'âge et l'état physico-chimique du vin. Selon JURD (1967), SOMERS (1971) et RIBÉREAU-GAYON (1973), l'intervention dans la composition de ces polymères d'autres composés phénoliques tels que les anthocyanes est probable et pourrait intervenir au cours du vieillissement du vin.

Bien que l'importance de leur structure sur les propriétés de tanins soit pressentie depuis longtemps, les recherches sur ces substances ont jusqu'à maintenant surtout envisagé leur dosage. Cette structure présente un intérêt certain en œnologie, car elle intervient, à côté de la concentration des tanins, sur les principales caractéristiques du vin rouge : couleur, astringence, dureté. La connaissance de cette structure, déterminée par l'analyse chimique, devrait permettre d'interpréter les variations de ces facteurs et leur évolution au cours de la vinification et du vieillissement ; également, elle devrait pouvoir guider le praticien dans l'élaboration de produits de qualité optimum pour chaque type de vin.

La complexité de la structure des tanins d'une part, les phénomènes de polymérisation et d'oxydoréduction qui accompagnent leur extraction à partir du vin d'autre part, expliquent la difficulté de les obtenir à l'état pur sans modification chimique.

Cependant, les progrès récents obtenus dans le domaine des composés phénoliques ont permis de proposer différents groupes de méthodes d'analyse des tanins ; ce sont des méthodes directes de détermination de la structure après isolement et des méthodes indirectes permettant d'accéder à des indices sans modification des équilibres du milieu. Mais ces travaux doivent être considérés comme des premières tentatives, qui ne permettent pas de résoudre définitivement cet important problème.

A partir d'un extrait végétal, PERI et POMPEI (1971) séparent les composés phénoliques ayant une fonction tannante de ceux qui n'en possèdent pas, par précipitation avec le sulfate de cinchonine. L'addition d'aldéhyde formique aux deux fractions ainsi différenciées, fait précipiter les composés phénoliques de nature flavane. Le dosage des phénols totaux (réactif de Folin-Ciocalteu) sur les surnageants et sur la totalité de l'extrait permet de chiffrer les pourcentages des différentes classes de composés.

MARIGO (1973) utilise un fractionnement voisin mais remplace le sulfate de cinchonine par la gélatine. Les deux fractions, tannante et non tannante, sont chacune divisées en deux et traitées par le Polyclar et le formaldéhyde. Ces deux réactifs font précipiter respectivement les « tanins totaux » et les « tanins condensés ». Les pourcentages de ces tanins sont déterminés par la même méthode que précédemment.

En se basant sur l'analogie de propriétés entre les protéines du sang et les mucoprotéines de la salive, BATE-SMITH (1973) détermine, après action du sang dilué sur un extrait végétal, un coefficient d'astringence relative des tanins ; l'application aux vins pose des problèmes non résolus.

MITJAVILA et **al.** (1971) séparent la fraction « polyphénolique astringente » de l'ensemble des composés phénoliques des boissons par addition de polyvinylpyrrolidone et d'acide trichloracétique. Cette fraction est dosée indirectement à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu.

KRAMLING et SINGLETON (1969) expriment en acide gallique le contenu non flavonoïde d'un vin par le même dosage que précédemment, après action de l'aldéhyde formique en milieu acide.

Ces méthodes sont basées sur les propriétés des molécules de tanins de donner des combinaisons insolubles avec un réactif (protéine ou alcaloïde). Elles cherchent à chiffrer la proportion de « tanin vrai » par rapport à la quantité de composés phénoliques du milieu. En outre, l'emploi de l'aldéhyde formique, réactif spécifique des noyaux phloroglucinols, pré-

cise la nature flavane des tanins mais ne donne aucune indication sur leur structure.

Toutes ces méthodes sont sujettes à une même critique ; les conditions et l'efficacité du fractionnement n'ont jamais pu être étudiées avec précision car elles supposent justement la connaissance de la structure des tanins, qui est le problème à résoudre.

D'autres méthodes font intervenir des caractères physicochimiques tels que la solubilité, la masse moléculaire et l'encombrement stérique ; elles sont beaucoup plus liées à la structure et donnent un ordre de grandeur moyen de la taille de ces molécules, mais ne permettent pas un fractionnement.

La saturation par les sels et en particulier NaCl (MASQUELIER et **al.**, 1959 et MASQUELIER et MICHAUD, 1965) est utilisée pour précipiter les tanins dont le degré de polymérisation est compris entre l'hexamère et le décamère ; l'acétate d'éthyle permet d'extraire uniquement les formes peu condensées.

La réaction avec la vanilline en milieu acide et surtout la détermination de l'indice V/LA sur un échantillon végétal (GOLDSTEIN et SWAIN, 1963) et sur le vin (RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET, 1966) constituent également une approche de l'état de condensation moyen des molécules de tanins ; le rapport est d'autant plus faible que les molécules sont plus condensées et inversement.

A partir de membranes ultrafiltrantes du commerce nous avons pu définir un indice de polymérisation des tanins en utilisant une membrane à pores larges et une autre à pores fins ; les tanins (T1) qui sont arrêtés par la première sont les plus condensés, ceux (T2) qui traversent la seconde sont les moins condensés. Le rapport T2/T1 constitue l'indice de polymérisation ; il diminue avec la condensation des molécules (RIBÉREAU-GAYON et GLORIES, 1971). Cette méthode est séduisante mais les résultats ne sont pas reproductibles à cause de l'hétérogénéité des membranes d'une même fabrication dont le comportement est différent. Cependant, elle permet dans certaines conditions de fractionner des polymères de masses moléculaires différentes ; ceci est réalisé quand l'adsorption et le colmatage des pores sont peu importants.

L'étude de la structure de ces molécules est également possible directement par les méthodes physicochimiques, après leur isolement. Leur masse moléculaire moyenne peut être déterminée à l'aide de la méthode microcryométrique de RAST utilisant le camphre comme solvant

(GLORIES, 1971). La méthode donne des résultats satisfaisants, elle renseigne sur l'évolution des tanins, au cours du vieillissement, mais il faut que les opérations d'isolement soient suffisamment ménagées pour ne pas modifier leur structure.

Quels que soient les progrès qu'elles apportent, aucune de ces méthodes ne permet actuellement d'accéder de façon satisfaisante à la structure des flavolanes constitutives des tanins condensés.

Pour résoudre ce problème, on peut envisager différentes possibilités dont nous avons abordé l'étude de façon systématique. Nous rapportons dans cette publication les résultats obtenus par la précipitation des composés phénoliques sous l'action de l'aldéhyde formique et de l'acide chlorhydrique.

1. **Action de l'aldéhyde formique sur les molécules de polyphénols.**

La réaction des phénols avec l'aldéhyde formique est connue depuis longtemps et conduit à la formation de résines (fig. 1) servant de base à des produits synthétiques (bakélite).

La réaction des composés phénoliques de différents fruits avec les aldéhydes et en particulier avec la vanilline a été mise en évidence par GOLDSTEIN et SWAIN (1963) et utilisée comme méthode de dosage et d'identification des flavanes.

Avec des conditions particulières d'acidité et de concentration, l'aldéhyde formique a la propriété de réagir uniquement avec les métapolyphénols du vin qui sont précipités (KRAMLING et SINGLETON, 1969) ; en particulier, seul le noyau phloroglucinol de la catéchine réagit à température ambiante et à pH très bas (HILLIS et URBACH, 1959).

En présence d'acide fort, les aldéhydes fixent un proton (fig. 1) pour donner un réactif électrophile (carbocation) susceptible de se substituer sur le noyau aromatique d'un phénol. Avec l'aldéhyde formique, il y a attaque du cycle sur plusieurs sommets ; après élimination d'eau, cette réaction conduit à des polymères de haut poids moléculaire.

Dans le cas des flavanes, l'aldéhyde formique (sous forme de carbocation) réagit préférentiellement sur les sommets 6 et 8 (fig. 1) activés par la présence des groupements OH. Cette réaction conduit également à des polymères de flavanes.

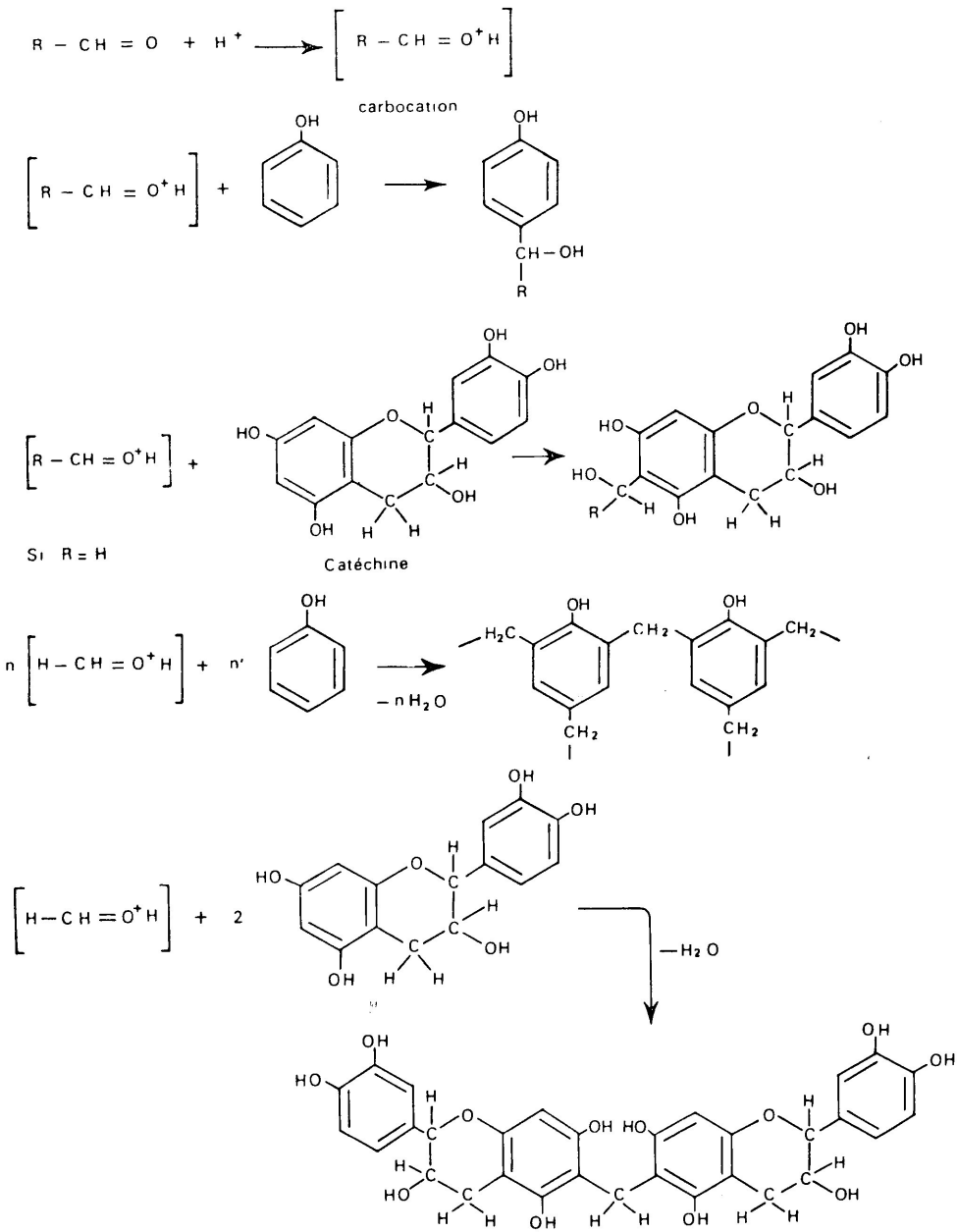


Fig. 1. — Mécanisme de réaction des aldéhydes avec des composés phénoliques, cas particulier de l'aldéhyde formique.

2. **Conditions expérimentales.**

Les expériences ont été réalisées sur différents vins et solutions modèles de composés phénoliques avec le mode opératoire de KRAMLING et SINGLETON (1969), c'est-à-dire :

Dans un tube à essais, ajouter successivement 10 ml de vin, 10 ml HCL 1/4 et 5 ml de solution d'aldéhyde formique à 8 g par litre préparée à partir de la solution du commerce à 30 p. 100 ; après barbotage d'azote, boucher et placer à la température ambiante du laboratoire pendant 3 jours (l'acidité de la solution est 1,2 N).

Une étude a été également faite en conservant la même acidité et la même dilution, mais en faisant varier la concentration de l'aldéhyde formique de 1 g à 20 g par litre, ce qui correspond à une addition de 5 à 100 mg de réactif pour 10 ml de vin.

Les déterminations analytiques comprennent l'Indice de phénols totaux utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (RIBÉREAU-GAYON, 1970), la mesure de la densité optique à 280 nm (RIBÉREAU-GAYON, 1970), la teneur en tanins (RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET, 1966), la réaction à la vanilline, interprétée comme dosage des noyaux phloroglucinols libres (GOLDSTEIN et SWAIN, 1963), et la teneur en anthocyanes à l'aide de la méthode utilisant la décoloration par l'acide sulfureux (RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET, 1965).

Les dosages sont effectués sur les surnageants obtenus par centrifugation après la réaction et sur des témoins préparés en remplaçant le réactif par de l'eau distillée, juste avant les analyses.

Eventuellement, les modes opératoires sont légèrement modifiés et les dilutions adaptées aux conditions de certaines expériences.

Les composés phénoliques témoins utilisés dans les expériences en solutions modèles ont différentes origines.

Les tanins sont des leucoanthocyanes peu polymérisés extraits de l'écorce de pin maritime selon la technique du Professeur MASQUELIER.

La (+)catéchine est préparée par les laboratoires ZYMA (Suisse).

Les anthocyanes sont extraites du sureau et préparées au laboratoire par A. LEFEBVRE (travaux non publiés).

3. **Précipitation de composés phénoliques en solution modèle en fonction de la quantité d'aldéhyde formique.**

Nous avons fait agir l'aldéhyde formique en concentrations variables sur différents mélanges de composés phénoliques simples trouvés dans le vin (tableau I), en solution modèle (acide tartrique à 5 g par litre neutralisé au tiers et à 10° d'alcool) ; les concentrations utilisées correspondent à leur teneur moyenne dans les vins rouges de Bordeaux.

TABLEAU I

Nature et concentration des composés phénoliques en solution modèle.

Nature des solutions de composés phénoliques	Concentration (g par l)
Tanins	2
Catéchine	2
Anthocyanes	2
Tanins + Anthocyanes	2 + 0,2
Catéchine + Anthocyanes	2 + 0,2
Tanins + Catéchine + Anthocyanes	2 + 0,2 + 0,2

L'aldéhyde formique précipite très rapidement et totalement les tanins, même à la concentration de 1 g par litre (tableau II). La catéchine est également très sensible à ce réactif et précipite presque complètement, la faible réaction résiduelle pouvant être due à des impuretés. Par contre, les anthocyanes conservent presque toute leur solubilité (70 p. cent restent encore en solution). Si l'on mélange ces molécules avec les deux types de flavanes on observe une précipitation complète non seulement des tanins mais aussi des anthocyanes.

1. La précipitation des anthocyanes est provoquée par celle des flavanes. L'aldéhyde formique formerait avec les flavanes un réseau qui, en précipitant, entraînerait les molécules d'anthocyanes (phénomène identique au collage des vins).

2. L'acidité du milieu produit un composé flavane-anthocyane qui précipite sous l'action de l'aldéhyde formique. Cette hypothèse sera discu-

TABLEAU II

Précipitation par l'aldéhyde formique, en trois jours de réaction, des anthocyanes et des tanins, seuls ou en mélange (les chiffres indiquent les teneurs résiduelles).

		Concentration de la solution de HCHO ajoutée (g par l)						
		Témoin 0	1	4	8	12	16	20
Solution de tanins	Tanins (g par l)	1,75	0	0	0	0	0	0
	Réaction à la vanilline	0,07	0	0	0	0	0	0
	Indice de phénols totaux	33,50	1,1	1,6	1,1	1,6	1,7	1,2
Solution de catéchine	Réaction à la vanilline	0,067	0,003	0,007	0,005	0,013	0,005	0,012
	Indice de phénols totaux	52,0	2,2	0,8	1,1	4,5	2,7	1,3
Solution d'anthocyanes	Anthocyanes (Δ d)	0,343	0,253	0,238	0,233	0,220	0,208	0,223
	Anthocyanes (Pourcentage)		74	69	68	64	61	65
	Indice de phénols totaux	2	2	2	2	1,7	1,5	1,7
Solution de tanins + catéchine + anthocyanes	Tanins (g par l)	0,63	0	0	0	0	0	0
	Réaction à la vanilline	0,098	0	0	0	0	0	0
	Indice de phénols totaux	22,0	1,1	1,1	1,0	0,8	1,0	1,0
	Anthocyanes (Δ d)	0,285	0,007	0,007	0,010	0,005	0,007	0,007

tée ultérieurement ; en effet, on observe le même phénomène avec la seule présence de l'acide chlorhydrique.

Nous constatons que l'importance de la précipitation des flavanes n'est pas fonction de la quantité de réactif pour des doses supérieures à 5 mg pour la prise d'essai, c'est-à-dire 10 ml de vin (utilisation d'une solution à 1 g par litre).

Ces résultats ne sont pas totalement en accord avec ceux de KRAMLING et SINGLETON (1969). D'après ces auteurs, 40 mg d'aldéhyde formique (solution à 8 g par litre) font précipiter les composés phénoliques de 10 ml de vin rouge, de façon plus complète que 120 mg (solution à 24 g par litre) ; ils considèrent qu'un excès important de réactif empêche la précipitation et, par conséquent, augmente la solubilité.

TABLEAU III

Dosage des composés phénoliques du vin après précipitation par différentes quantités d'aldéhyde formique (l'expérience a duré trois jours).

Concentration de la solution de HCHO (g par l)	Tanins		Anthocyanes (Δ d)	Réaction à la vanilline	Indice de phénols totaux
	g par l	pourcentage du tanin initial			
Témoin 0	2,17		0,140	0,560	31,0
1	0,10	5	0,012	0,002	5,6
4	0,10	5	0,010	0,000	4,6
8	0,10	5	0,010	0,000	3,7
12	0,11	5	0,011	0,010	4,1
16	0.09	4	0,008	0,005	4,1
20	0,07	3	0,009	0,012	4,2

4. **Précipitation des composés phénoliques du vin rouge.**

a) En fonction de la quantité d'aldéhyde ajoutée.

L'expérience, réalisée sur un vin de 1971, montre que les constituants du vin réagissent comme les polyphénols simples en solution modèle (tableau III).

Les quantités résiduelles de tanins et d'anthocyanes sont faibles et la réaction avec la vanilline est pratiquement nulle. Seuls restent en solu-

tion quelques phénols (10 p. cent de phénols totaux) qui ne possèdent pas dans leur structure le noyau phloroglucinol.

La précipitation est donc indépendante de la quantité de réactif.

b) En fonction de l'âge du vin.

Les résultats précédents montrent que la quantité de formaldéhyde ajoutée au vin ne modifie pas la précipitation ; nous avons appliqué le mode opératoire de KRAMLING et SINGLETON (1969) à deux vins d'âges différents mais issus du même vignoble (tableau IV) ; on peut espérer ainsi avoir deux échantillons dans lesquels la structure des tanins est différente.

TABLEAU IV

Dosage des composés phénoliques de deux vins après trois jours de précipitation par l'aldéhyde formique.

		Tanins		Phénols totaux	
		g par l	pourcentage	indice	pourcentage
1960	Temoin	3,02		37	
	+ aldéhyde formique (8 g par l)	0,33	11	7	18
1972	Temoin	2,04		25	
	+ aldéhyde formique (8 g par l)	0,14	7	5	20

L'aldéhyde formique précipite aussi bien les tanins peu condensés du vin jeune que ceux plus condensés du vin vieux (tableau IV).

Afin de voir si la vitesse de réaction était différente en fonction de la structure des tanins, nous avons étudié, avec toujours le même mode opé-

ratoire, la cinétique de précipitation pour les deux vins ; contrairement à ce que l'on pouvait penser, les composés phénoliques précipitent dans les deux cas avec la même vitesse.

Par conséquent, on ne peut pas espérer avec cette méthode différencier, donc étudier, la structure des tanins des différents vins. Par contre, on retrouve et confirme ainsi le résultat de KRAMLING et SINGLETON (1969) concernant le faible résidu non flavonoïde des vins rouges.

5. **Influence de l'acidité sur la précipitation des composés phénoliques du vin rouge.**

Au cours des expériences décrites précédemment, nous avons eu l'occasion de constater la précipitation des composés phénoliques sous la seule action de l'acidité, sans addition d'aldéhyde formique. D'ailleurs, pour cette raison, nous avons recommandé dans le mode opératoire de préparer le témoin juste avant de faire les dosages. L'intérêt de cette réaction susceptible d'intervenir dans la réaction de l'aldéhyde formique méritait d'être précisé.

Un essai réalisé avec deux vins, suivant le mode opératoire de KRAMLING et SINGLETON (1969) mais en remplaçant la solution d'aldéhyde formique par de l'eau distillée, met en évidence la précipitation intense des composés phénoliques (tableau V) ; l'expérience a duré huit jours.

TABLEAU V

Précipitation des composés phénoliques du vin en milieu HCl 1,2 N (l'expérience a duré huit jours)

		Tanins (g par l)	Indice de phénols totaux
1960	Témoin	3,02	37
	Traité en milieu HCl	1,70	21
1972	Témoin	2,04	25
	Traité en milieu HCl	1,02	13

Il était important de vérifier l'influence des autres acides pour montrer l'origine du phénomène (nature de l'acide ou acidité). La même expérience que précédemment a été réalisée sur le vin de 1960 avec

TABLEAU VI

Influence de l'acidité sur la précipitation des composés phénoliques d'un vin jeune (l'expérience a duré quatre jours).

Composition et caractéristiques du milieu réactionnel						Dosages après réaction	
Vin ml	HCl ml	H_2O ml	Sol. pH 3,2 ml	Dilution par rapport au vin	Acidité	Tanins (g par l)	Indice de phénols totaux
10	0	0	10	1/2	pH 3,2	2,65	39
10	1,6	8,4	0	1/2	1 N	1,60	29
10	3,3	6,7	0	1/2	2 N	1,38	26
10	5,0	5,0	0	1/2	3 N	1,18	20
10	6,6	3,4	0	1/2	4 N	1,10	16
10	8,3	1,7	0	1/2	5 N	0,85	16
10	10,0	0	0	1/2	6 N	0,75	12
10	0	0	20	1/3	pH 3,2	2,76	40
10	2,5	17,5	0	1/3	1 N	1,43	25
10	5,0	15,0	0	1/3	2 N	1,24	23
10	7,5	12,5	0	1/3	3 N	1,10	17
10	10,0	10,0	0	1/3	4 N	1,04	16
10	12,5	7,5	0	1/3	5 N	0,80	14
10	15,0	5,0	0	1/3	6 N	0,60	10

les acides chlorhydrique, sulfurique, formique et acétique à la concentration de 1,2 eq par litre dans la solution (25 ml).

Seuls les deux premiers acides provoquent la précipitation, les autres solutions restent limpides même au contact de l'air et après plusieurs mois de conservation ; la nature de l'acidité joue un rôle important et par conséquent son acidité (le pH des solutions d'acides minéraux est plus faible que celui des solutions d'acides organiques).

La précipitation des composés phénoliques et en particulier des tanins est d'autant plus importante que l'acidité est plus élevée ; les résultats suivants obtenus avec un vin jeune (tableau VI) en font état.

La dilution du milieu réactionnel intervient peu par rapport à l'acidité ; sa contribution, bien que non négligeable, est peu importante.

Cependant, nous constatons que même en milieu HCl 1 N, le phénomène est important ; suivant la dilution et le dosage (tableau VI) 30 à 40 p. 100 de composés phénoliques précipitent. Donc, cette réaction intervient dans la précipitation avec l'aldéhyde formique et remet en cause l'interprétation du mécanisme de la réaction correspondante.

6. **Influence de l'acide chlorhydrique sur la précipitation des composés phénoliques en solution modèle.**

Sachant que la précipitation des composés phénoliques est d'autant plus grande que le milieu est plus acide et qu'elle est légèrement favorisée par la dilution, nous avons utilisé le mode opératoire suivant : solution de composés phénoliques (10 ml) diluée au tiers (11 ml H_2O) en milieu HCl 3,6 N (9 ml HCl 12 N). Les concentrations des solutions sont les mêmes que celles utilisées précédemment.

Nous avons voulu vérifier également le rôle de l'oxydation dans le phénomène en préparant parallèlement pour chaque solution, un témoin, un échantillon exempt d'oxygène par barbotage prolongé d'azote et un échantillon oxydé par barbotage d'oxygène.

Au bout de quatre jours (tableau VII), l'acide chlorhydrique provoque la précipitation de 20 à 30 p. 100 des molécules de tanins et de catéchines ; les anthocyanes dont la solution est restée limpide sont toujours en solution. Par contre, comme nous l'avons observé dans la précipitation par l'aldéhyde formique, et probablement pour les mêmes raisons, les anthocyanes des mélanges, anthocyanes + flavanes, précipitent ; le phénomène est moins marqué en présence de catéchine.

TABLEAU VII

Pourcentage de composés phénoliques non précipités par l'acide chlorhydrique en cinq jours (milieu 3,6 N), Action de l'oxygène sur cette réaction.

0— = absence d'oxygène. 0+ = présence d'oxygène.

			Tanins		Phénols totaux		Anthocyanes	
			(g par l)	Pourcentage résiduel	Indice	Pourcentage résiduel	(Δ d) x 10^3	Pourcentage résiduel
Tanins	avant réaction		2,01		40,0			
	après réaction	0—	1,44	72	30,0	75		
		0+	1,20	60	26,0	65		
Catéchine	avant réaction				52,0			
	après réaction	0—			36,0	69		
		0+			35,0	68		
Anthocyanes	avant réaction				6,5		30	
	après réaction	0—			6,5	100	30	100
		0+			6,4	98	30	100
Catéchine + Anthocyanes	avant réaction				62,0		30	
	après réaction	0—			39,0	63	25	83
		0+			37,0	60	25	83
Tanins + Anthocyanes	avant réaction		2,33		42,0		45	
	après réaction	0—	1,77	79	33,0	78	35	77
		0+	1,32	59	31,0	73	35	77

L'oxygène favorise sensiblement la précipitation mais n'est pas le facteur essentiel ; le phénomène se produisant aussi et de façon importante en l'absence d'oxygène.

7. **Précipitation en milieu acide des composés phénoliques de différents vins** (influence de l'état du vin).

De nombreuses analyses réalisées en fonction du temps de réaction sur différents vins et avec plusieurs acidités montrent que la précipitation s'effectue en deux temps (fig. 2) d'abord avec une phase rapide en quelques heures, puis avec une phase plus lente sur plusieurs jours.

Le tableau VIII met en évidence les différences de vitesse de phase rapide de précipitation des composés phénoliques de plusieurs vins d'âges différents. Les écarts sont d'autant plus marqués que l'acidité est plus élevée, mais ils semblent se stabiliser au cours de la phase lente de la réaction (48 heures).

TABLEAU VIII

Vitesse de précipitation des composés phénoliques de différents vins.

(Mesure de la densité optique à 280 nm avant et après réaction).

Acidité (HCl)	Pourcentages des composés phénoliques résiduels après précipitation							
	Vins de 1973		Vin de 1972		Vin de 1971		Vin de 1966	
	7 h	48 h	7 h	48 h	7 h	48 h	7 h	48 h
3,6 N	5	25	6	25	18	40	11	32
6 N	18	44	13	40	40	57	28	47

Deux faits importants découlent de ces résultats, car ils peuvent contribuer à la connaissance de la structure des tanins du vin et permettre ainsi d'accéder à leur détermination.

a) Les tanins du vin vieux précipitent plus rapidement (fig. 2) et de façon plus intense que le vin jeune (tableau IX).

b) Les précipitations sont d'autant plus importantes que le vin est éventé par une légère aération, ou oxydé par une aération prolongée (tableau IX).

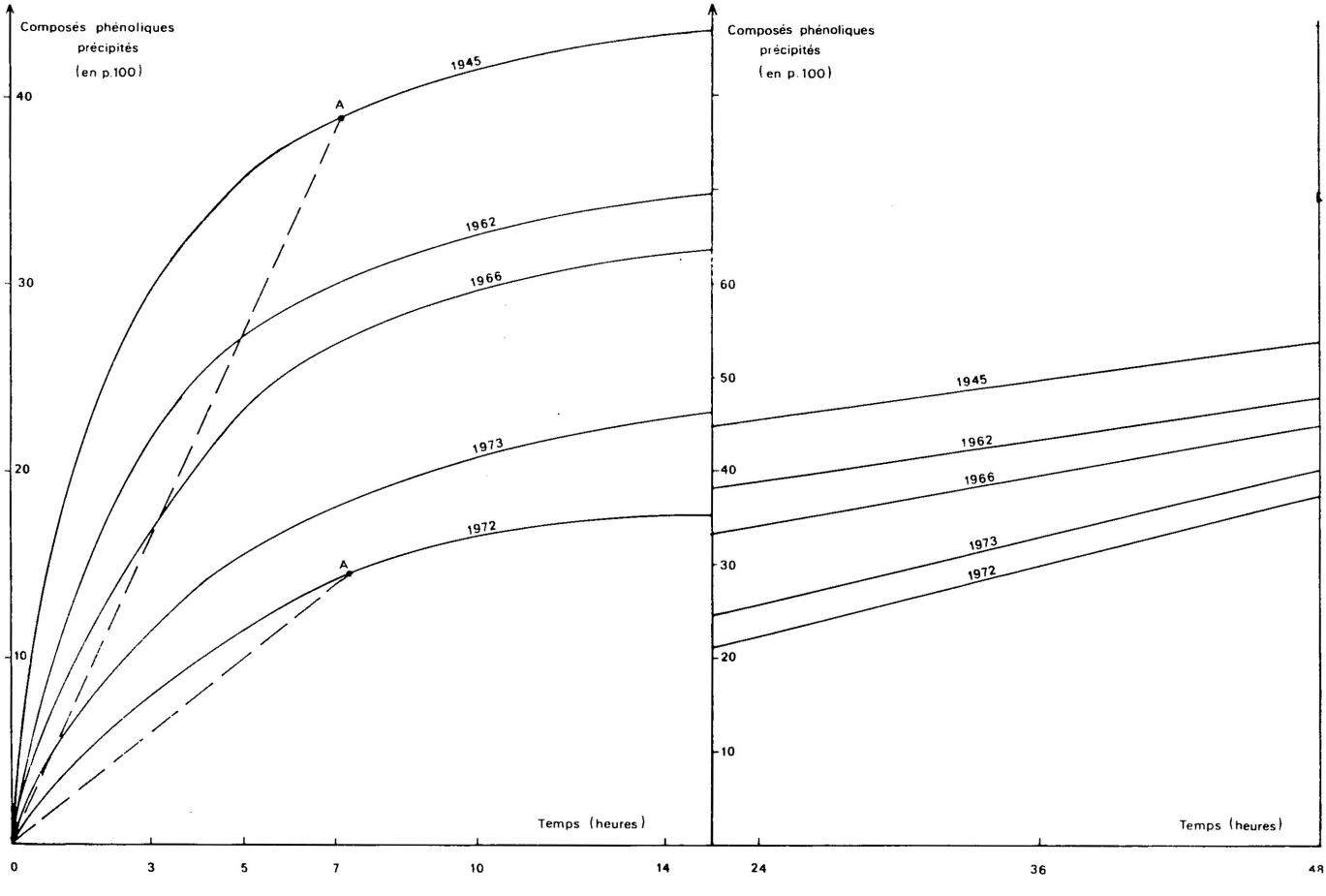


Fig. 2. — Cinétique de précipitation acide des composés phénoliques de différents vins. Mesure de la densité optique du surnageant à 280 nm (HCl 6N, dilution 1/3).

TABLEAU IX

Précipitation des composés phénoliques de différents vins, en fonction de leur état d'aération, au bout de sept heures sous l'action de HCl (6 N) et en milieu dilué (1/3).

(Mesure de la densité optique à 280 nm avant et après réaction).

Nature des vins	Pourcentage de composés phénoliques précipités	Teneur en acétaldéhyde (mg par l)
1973	17	35
1973 éventé	65	90
1972	18	40
1972 éventé	60	135
1966	27	30
1962	30	35
1945	64	50

Le premier point peut s'expliquer par l'augmentation de la polymérisation des flavanes au cours du vieillissement sous l'effet de l'acidité du vin.

Au cours de sa conservation, le vin est aéré et parfois éventé ou même oxydé s'il n'est pas protégé par « l'anhydride sulfureux libre ». Cette oxydation induit une polymérisation des flavanes (RIBÉREAU-GAYON, 1973), les ions Fe^{3+} servent de catalyseurs et provoquent la formation d'acétaldéhyde (RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD. 1958) ; cet aldéhyde pourra être bloqué en totalité ou en partie par l'anhydride sulfureux dans une combinaison stable en milieu acide. Les vins éventés possèdent de l'acétaldéhyde non combiné qui agira comme l'aldéhyde formique en milieu acide sous forme de carbocation (fig. 1) comme agent précipitant des flavanes. Nous remarquons (tableau IX) que les vins éventés possèdent le taux maximal d'acétaldéhyde et un pourcentage de précipitation dent le taux maximum d'acétaldéhyde et un pourcentage de précipitation très important par rapport aux vins de la même année.

Une expérience faisant intervenir l'acétaldéhyde et l'anhydride sulfureux sur un vin de 1973, confirme le rôle de ces corps dans la réaction

(tableau X). La précipitation est d'autant plus importante que la teneur en acétaldéhyde libre est plus élevée et la différence est très sensible.

La combinaison bisulfitique est totale en 48 h au pH du vin, quand la dose d'acétaldéhyde libre est de l'ordre de 40 mg par litre ; la précipitation des tanins par HCl se fait alors dans les mêmes conditions qu'en l'absence d'acétaldéhyde. Par contre, quand la teneur est très impor-

TABLEAU X

Influence de l'acétaldéhyde et de l'anhydride sulfureux sur la précipitation des composés phénoliques d'un vin sous l'action de l'acidité (HCl 6 N, dilution 1/3).

	Indice de phénols totaux	Pourcentage résiduel
Vin initial avant réaction	38,0	
Vin initial après réaction	32,0	84
Vin + CH_3CHO (40 mg par l) après réaction	29,0	76
Vin + CH_3CHO (100 mg par l) après réaction	24,0	63
Vin + SO_2 (50 mg par l) après réaction	32,0	84
Vin + CH_3CHO (40 mg par l) + SO_2 (100 mg par l) après réaction	31,0	82
Vin + CH_3CHO (100 mg par l) + SO_2 (200 mg par l) après réaction	28,5	75

tante (100 mg par litre) l'anhydride sulfureux n'est pas suffisant pour rétablir la réaction sans acétaldéhyde. Deux hypothèses peuvent expliquer ce fait :

— la combinaison n'est pas totale,

— l'acétaldéhyde modifie la structure des composés phénoliques avant que l'anhydride sulfureux puisse le combiner et par voie de conséquence, la réaction de précipitation n'est plus la même.

Par conséquent, la précipitation par HCl ne pourra être utilisée comme mesure de degré de polymérisation uniquement dans la mesure où il n'y a pas d'acétaldéhyde libre ; éventuellement, cet aldéhyde devra être éliminé par combinaison avec un excès d'anhydride sulfureux.

Sous cette réserve, on doit pouvoir admettre que la vitesse moyenne de la phase rapide de la précipitation (au bout de sept heures de réaction), représentée expérimentalement par la pente de la corde OA (fig. 2), est une caractéristique de la structure des tanins d'un vin donné.

8. **Etude de la nature du précipité sous l'action de HCl à chaud et à froid.**

La méthode de dosage des tanins (RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET, 1966), basée sur la transformation des leucoanthocyanes en anthocyanes, utilise du vin dilué et un milieu HCl 6 N, chauffé à 100 °C.

Si la même opération est réalisée avec du vin non dilué, la formation d'anthocyanidines s'accompagne d'une précipitation très intense de phlobaphènes. Il était intéressant de comparer ce précipité à celui obtenu à température ambiante avec la méthode que nous venons de décrire.

Après réaction acide, les précipités sont centrifugés et repris par du méthanol afin de déterminer leurs spectres (fig. 3) ; l'expérience a été réalisée sur deux vins d'âges différents.

Les spectres des précipités à chaud des deux vins sont identiques en tous points ; on peut donc considérer que les phlobaphènes formées sont de même nature quel que soit l'état de condensation des tanins du vin de départ.

Par contre, les spectres des précipités à froid des deux vins sont à la fois différents de ceux à chaud (maximum d'absorption à froid à 530 nm et à chaud à 540 nm), et différents entre eux ; les précipités dépendent beaucoup de la structure des tanins des vins étudiés (pré-

sence sur le spectre (1), fig. 3, de l'épaulement caractéristique des flavanes à 460 nm).

Avec le mode opératoire précédent, le spectre du précipité à froid fournit des résultats qui sont liés à la structure des tanins du vin. On doit pouvoir espérer par la mesure de l'inverse de la pente de la courbe assimilée à une droite entre 460 et 480 nm (fig. 3), avoir une détermination de l'état de vieillissement du vin (1485 pour le vin de 1973 et 647 pour le vin de 1966).

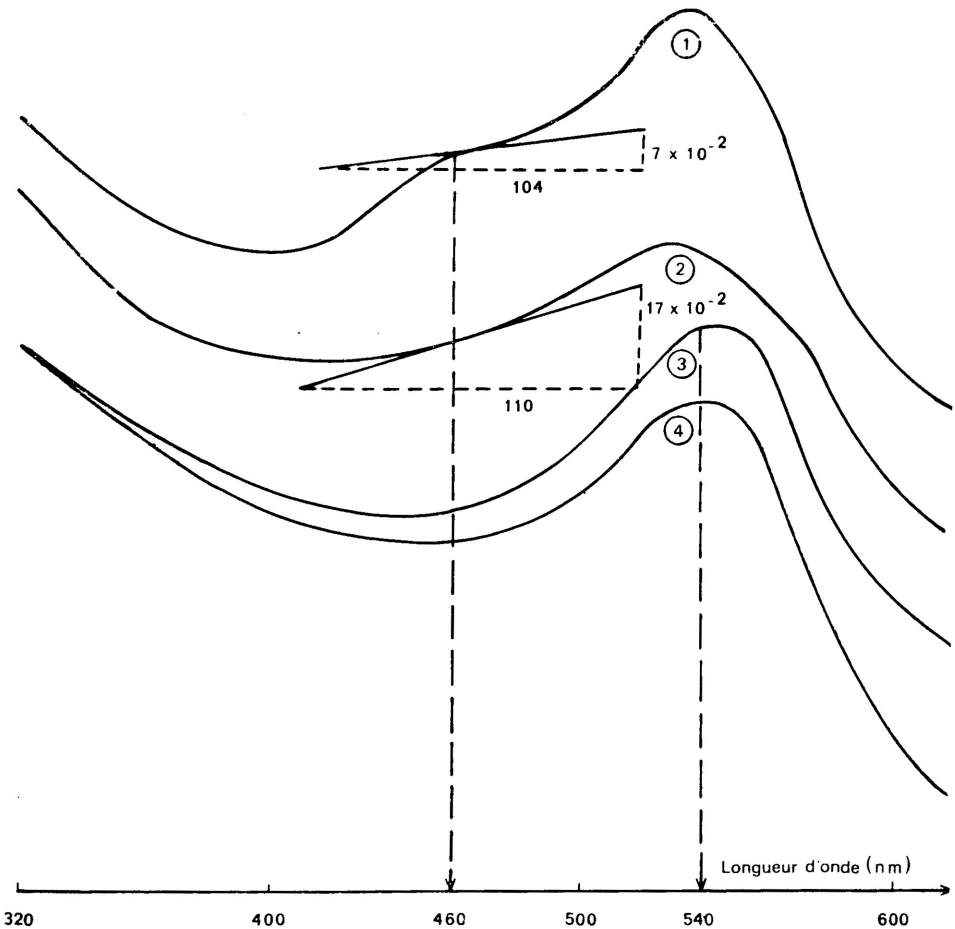


Fig. 3. — Spectres visibles des composés phénoliques de deux vins précipités en milieu acide et repris dans le méthanol.
(1) Cabernet 1973 précipité à température ambiante
(2) Vin de 1966 précipité à température ambiante
(3) Cabernet 1973 précipité à 100 °C.
(4) Vin de 1966 précipité à 100 °C.

9. **Conclusion.**

L'emploi de l'aldéhyde formique comme réactif des composés phénoliques comportant un noyau phloroglucinol nous conduit à trois conclusions.

1. Les anthocyanes en solution modèle ne précipitent pas sous l'action de ce réactif ; par contre, elles réagissent en présence, dans le milieu, de molécules de flavanes (catéchines, tanins).

2. La précipitation des tanins du vin par ce réactif est indépendante de leur état de condensation et en particulier du niveau de vieillissement du vin ; elle est rapidement complète. On ne peut pas espérer avec cette méthode non seulement fractionner les tanins du vin, mais aussi les différencier en fonction de leur origine.

3. On retrouve et confirme le résultat de KRAMLING et SINGLETON (1969) concernant la faible fraction non flavonoïde des polyphénols du vin rouge.

L'acide chlorhydrique provoque la précipitation des composés phénoliques (sauf les anthocyanes en l'absence de flavanes) ; ce phénomène est d'autant plus important et rapide que l'acidité est plus élevée. Cette réaction intervient dans la précipitation avec l'aldéhyde formique et par conséquent remet en cause l'interprétation du mécanisme de la réaction correspondante.

Dans le cas des vins, la précipitation par l'acide chlorhydrique s'effectue suivant deux phases successives :

— une phase rapide (environ 7 h) correspondant probablement à la précipitation des polymères existant déjà ; elle est d'autant plus importante que le vin est plus vieux ;

— une phase plus lente se poursuivant jusqu'à une limite obtenue au bout de quelques jours et dépendant de l'acidité du milieu ; il s'agit sans doute d'une polymérisation des molécules peu condensées qui précipitent ensuite.

La mesure de la vitesse moyenne de la première phase doit pouvoir être utilisée comme une expression de la structure des tanins dans la mesure où il n'y a pas d'acétaldéhyde libre. Dans le cas des vins éventés,

la présence d'acétaldéhyde non combiné au SO_2 intervient dans le mécanisme de la réaction.

L'étude des spectres des précipités montre que la réaction n'est pas la même à température ambiante et à 100 °C ; elle met en évidence une différence entre les précipités obtenus à température ordinaire en fonction de l'âge du vin. Cette différence est susceptible de permettre une mesure de l'état de transformation des tanins au cours du vieillissement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BATE-SMITH E.C., 1973, Haemanalysis of tannins : the concept of relative astringency, **Phytochemistry, 12,** 907-912.

GLORIES Y., 1971. Essais de détermination de l'état de condensation des tanins du vin rouge, **Thèse doctorat** 3e cycle, Bordeaux.

GOLDSTEIN J.C. et T. SWAIN, 1963. Changes in tannins in ripening fruits, **Phytochemistry, 2,** 371-383.

HILLIS W.E. et URBACH, 1959. The reaction of (+) catechin with formaldéhyde, **J. Appl. Chem.** (London), **9,** 474-482.

JURD L., 1967, Anthocyanidins and related compounds, XI Catechin flavylium salt condensation reactions, **Tetrahedron Letters, 23,** 1057-1064.

KRAMLING T.E. et V.L. SINGLETON, 1969, An estimate of the non flavonoid phenols in wines, **Am. J. of Enol. and Vitic., 20** (2), 86-92.

MARIGO G., 1973, Sur une méthode de fractionnement et d'estimation des composés phénoliques chez les végétaux, **Analusis, 2** (2), 106-110.

MASQUELIER J., VITTE G., ORTEGA M., 1959. Dosage colorimétrique des leucoanthocyanes dans les vins rouges. **Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 98,** 145-148.

MASQUELIER J., MICHAUD J., 1965. Etat des leucoanthocyanes dans le rhytidome de **Pinus maritima Lamk. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 104,** 33-36.

MITJAVILA S., SCHIAVON M., DERACHE R., 1971. Teneur en tanins des boissons. Séparation et dosage colorimétrique de la fraction polyphénolique astringente. **Ann. Techn. Agric., 20** (4), 335-346.

PERI C. et POMPEI C., 1971. Estimation of different phenolic groups in vegetable extracts. **Phytochemistry, 10,** 2187-2189.

RIBÉREAU-GAYON J. et PEYNAUD E., 1958. Analyse et contrôle des vins, 2e éd. Béranger Editeur, Paris.

RIBÉREAU-GAYON P., 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. **Chim. Anal., 52,** (6), 627-631.

RIBÉREAU-GAYON P., 1973. Interprétation chimique de la couleur des vins rouges. **Vitis, 12,** 119-142.

RIBÉREAU-GAYON P. et GLORIES Y., 1971. Détermination de l'état de condensation des tanins du vin rouge. **C.R. Acad. Sc. Paris, 273,** 2369-2371.

RIBÉREAU-GAYON P. et STONESTREET E., 1965. Le dosage des anthocyanes. **Bull. Soc. Chim., 9,** 2649-2652.

RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET E., 1966. Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. **Chim. Anal., 48,** 188-196.

SOMERS T.C., 1971. The polymeric nature of wine pigments. **Phytochem., 10,** 2175-2186.