

RÉSOLUTION OENO 6/2008

METHODE DE DIFFÉRENCIATION DES TANINS OENOLOGIQUES – MODIFICATION DE LA MONOGRAPHIE

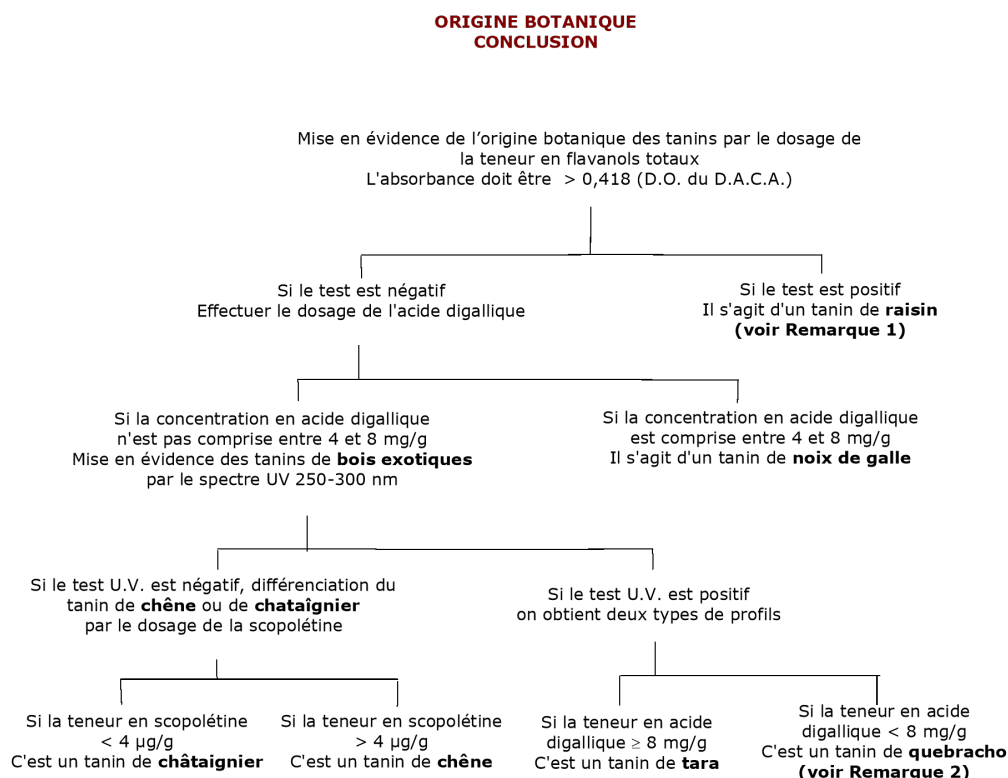
L'ASSEMBLEE GENERALE

VU l'article 2 paragraphe 2 iii de l'accord du 3 avril 2001 portant création de l'organisation internationale de la vigne et du vin,

AYANT PRIS CONNAISSANCE des travaux de la sous-commission « Méthodes d'analyse »,

CONSIDERANT la résolution OENO 12/2002 relative à la monographie sur les tanins œnologiques,

DECIDE, sur proposition de la Commission II « Oenologie », de modifier et de compléter la dernière page de l'annexe de la résolution Oeno 12/2002 par le texte suivant :



Remarque 1

Les tanins de raisin sont formés d'unités flavan-3-ol qui peuvent être libérées par le clivage thiolitique des liaisons intermonomériques flavanoliques des proanthocyanidols en milieu acide et à chaud. Les monomères libérés sont alors séparés et dosés par HPLC. On peut ainsi quantifier séparément les procyanidols des prodelphinidols. Cette méthode est utilisée pour la différenciation des tanins de pellicules, de rafles et de pépins de raisin. Dans ces conditions, les tanins de quebracho ne donnent aucun pic. (Voir méthode et figure ci-dessous).

Méthode de différenciations des tanins proanthocyanidiques par HPLC

Définition

Mise en évidence de tanins de quebracho, de pellicules et de pépins

Matériels et méthodes

Appareillage et conditions analytiques

- Pipette droite de 1 ml graduée en 0,05 ml
- Fiole jaugée de 10 ml
- Système HPLC

Il est équipé d'une pompe permettant un débit constant ou programmé avec une grande précision, d'une boucle de 20 µl.

Une colonne en phase inverse de type C18 dont le diamètre des particules peut être par exemple de 10 µm de diamètre : Longueur : 250 mm ; Diamètre interne : 4,6 mm.

Détecteur UV-Visible.

- Etuve
- Tubes à hydrolyse de 10 ml, fermeture avec bouchons téflonnés
- Filtres en esters de cellulose de 0,45 µm de diamètre de pores
- Système de filtration sous vide
- Pipette automatique de 1000 µl
- Balance au mg

Réactifs et solutions étalons

- Méthanol pour HPLC
- Eau distillée
- Toluène- α -thiol (CAS 100-53-8) à 99%
- Acide chlorhydrique (12M) à 37%
- Acide orthophosphorique à 84%

Préparation des réactifs

- Préparation des solvants pour HPLC :

Solvant A : dans une fiole jaugée de 1 l, introduire 1 ml d'acide orthophosphorique et compléter la fiole avec de l'eau distillée qui sera au préalable filtrée par un système de filtration sous vide.

Solvant B : dans une fiole jaugée de 1 l, introduire 1 ml d'acide orthophosphorique et compléter la fiole avec du méthanol qui sera au préalable filtré par un système de filtration sous vide.

- Méthanol contenant 1,7% HCl : on introduit 140 μ l d'acide chlorhydrique à l'aide d'une pipette automatique de 1000 μ l dans 10 ml de méthanol.
- Réactif de thioacidolyse = Solution de toluène- α -thiol à 5% : on introduit 470 μ l de toluène- α -thiol à l'aide d'une pipette automatique de 1000 μ l dans 10 ml de la solution.
- Tanins œnologiques (préparations commerciales)
- Solution de tanins à 1 g/l : on introduit 10 mg de tanins dans 10 ml de méthanol.

Mode opératoire

On introduit 0,5 ml d'une solution de tanins dans un tube à hydrolyse et 0,5 ml du réactif de thioacidolyse (solution de toluène- α -thiol à 5%). Le mélange est agité et chauffé à 60°C pendant 10 mn. Le tube est refroidi et on ajoute 0,5 ml d'eau distillée.

L'échantillon est analysé par HPLC sur une colonne C18, phase inverse. Les éluants utilisés sont les solvants A et B. Le programme d'élution est le suivant : de 70% (pendant 5 mn) du solvant B à 10% en 40 mn, puis de 10 à 70% (pendant 5 mn) en 10 mn (retour aux conditions initiales). Le débit de 1ml/mn est constant durant toute la

programmation et la longueur d'onde choisie est 280 nm.

L'identification des pics et leur quantification respective sont réalisées en accord avec les données fournies par *Vivas et al.* (2004)*.

Tanins de pépins, pellicules et quebracho ont des profils différents. Les pépins sont exclusivement composés de procyanidols, sont caractérisés par un fort degré de galloylation, une grande quantité d'épicatéchine et un faible degré de polymérisation moyen : mDP. Les pellicules sont caractérisées par un mélange de procyanidols et prodelphinidols, avec une prédominance de procyanidols, un faible degré de galloylation, une quantité importante d'épicatéchine et un mDP variable. Le quebracho ne donne aucun flavan-3-ols. On peut ainsi déterminer la composition en tanins proanthocyanidoliques.

* N. VIVAS, M.F. NONIER, N. VIVAS de GAULEJAC, C. ABSALON, A. BERTRAND, M. MIRABEL, Differentiation of proanthocyanidin tannins from seeds, skins and stems of grapes (*Vitis Vinifera*) and heartwood of Quebracho (*Schinopsis balansae*) by MALDI-TOF/MS and thioacidolysis/LC/methods », *Analytica Chimica Acta*, 2004, 513, Issue 1, 247-256.

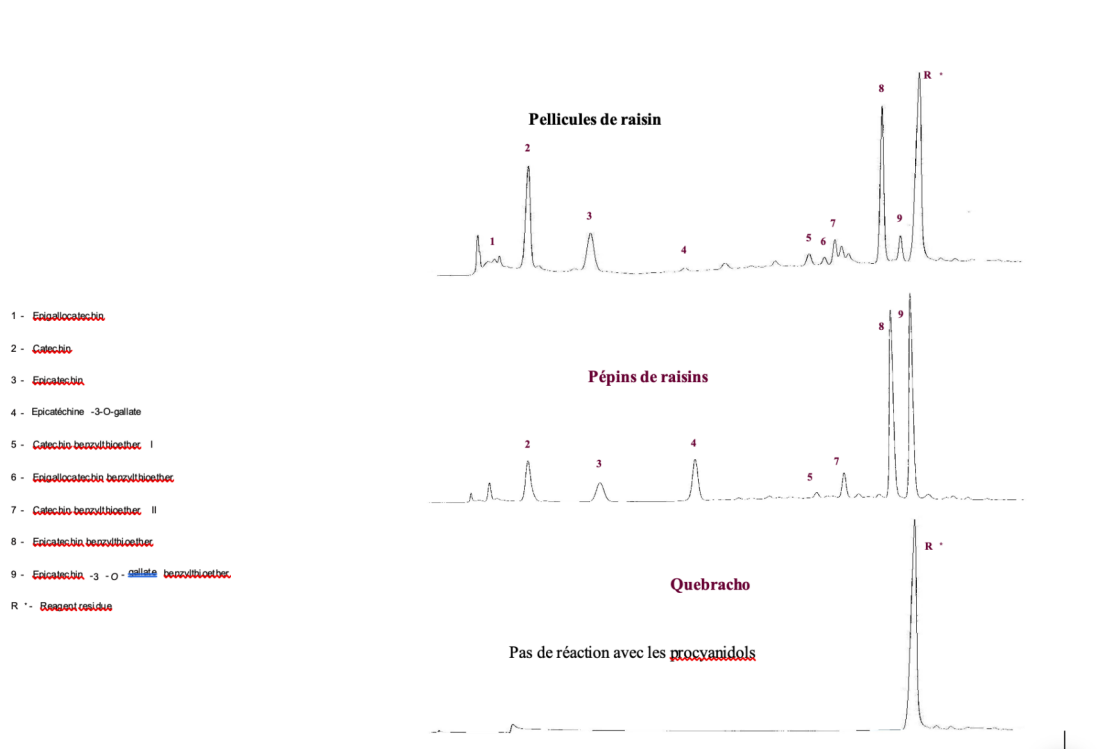


Fig 1 chromatogrammes obtenu par HPLC de proanthocyanidols de pellicules, pépins de raisins et Quebracho, après thiolyse.

Remarque 2

L'origine botanique du tanin identifiée comme provenant du quebracho est déduite par éliminations successives. La caractérisation formelle de la présence de tanin de quebracho peut être effectuée par HPLC couplée à la spectrométrie de masse (MALDI-TOF) qui montre que les constituants monomériques de ce tanin sont issus du fisetinidol et du robinetinidol qui ne possèdent pas d'hydroxyle en position 5 sur le noyau A (en d'autres termes les tanins de raisins sont formés à partir de monomères qui possèdent un noyau A trihydroxylé (phloroglucinol) alors que les tanins de quebracho sont formés à partir de monomères dont le noyau A est dihydroxylé (résorcinol).