



ETUDE COMPARATIVE DE  
LA COMPOSITION  
PHENOLIQUE DE VINS  
ROUGES ELEVES EN  
BARRIQUES D'ACACIA OU  
DE CHENE

Client : Barriques Jean Thoulouse

1	Matériel et méthodes .....	3
1.1	Echantillons de vins.....	3
1.2	Analyse des composés phénoliques.....	3
1.2.1	Réactifs et produits chimiques .....	3
1.2.2	Analyse chromatographique de l'activité antioxydante .....	3
1.3	Dosage des ellagitanins totaux .....	3
2	Résultats.....	4
2.1	Composition phénolique générale.....	4
2.2	Comparaison des échantillons 2 à 2 .....	6
2.2.1	Acacia vs Concurrent .....	6
2.2.2	Chêne 24 mois vs Concurrent.....	7
2.2.3	Chêne 36 mois vs Concurrent.....	8
2.2.4	Chêne 36 mois vs Chêne 24 mois .....	9
2.2.5	Acacia vs Chêne 24 mois .....	10
2.2.6	Acacia vs Chêne 36 mois .....	11
2.3	Ellagitanins totaux.....	12
2.4	Analyse en composante principale .....	13
3	Conclusion.....	16
4	Références.....	17

# 1 MATERIEL ET METHODES

## 1.1 ECHANTILLONS DE VINS

Echantillons	
Nom Barriques Jean Thoulouse	Nom Twistaroma
18-02-13*28-04-14 BOUYSESSES 2012 BN <b>Thoulouse Acacia</b>	<b>Acacia</b>
18-02-13*28-04-14 BOUYSESSES 2012 BN <b>Thoulouse Chêne 24 mois</b>	<b>Chêne 24 mois</b>
18-02-13*28-04-14 BOUYSESSES 2012 BN <b>Thoulouse Chêne 36 mois</b>	<b>Chêne 36 mois</b>
20-02-13*14-05-14 BOUYSESSES 2012 BN <b>Concurrent</b>	<b>Concurrent</b>

## 1.2 ANALYSE DES COMPOSES PHENOLIQUES

### 1.2.1 Réactifs et produits chimiques

L'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS<sup>+</sup>), l'acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique (Trolox), les acides gallique, p-hydroxybenzoïque, salicylique, syringique, vanillique, gentisique, caféique, chlorogénique, p-coumarique, protocatéchuïque, férulique et ellagique, la catéchine, l'épicatéchine et la quercétine sont de qualité HPLC et ont été achetés chez Sigma-Aldrich (Steinheim, Allemagne). Le kaempférol-3-O-glucoside a été achetés chez Extrasynthèse (Genay, France). L'acétonitrile et le méthanol, de qualités HPLC, ont été achetés chez VWR (Strasbourg, France). L'eau ultrapure est produite au laboratoire par un système de purification Synergy UV (Millipore, Molsheim, France).

### 1.2.2 Analyse chromatographique de l'activité antioxydante

La séparation chromatographique a été effectuée en utilisant la méthode développée par Leitao al. (1) . Le système HPLC Ultimate 3000 (Dionex, ThermoScientific, Gometz le Châtel, France) utilisé est couplé à une réaction post-colonne permettant de détecter l'activité antioxydante grâce à l'utilisation de l'ABTS<sup>+</sup>. Les séparations sont réalisées à 25°C sur une colonne de chromatographie C18 hypersil BDS (5  $\mu$  m, 250 x 4,6 mm, ThermoScientific, Gometz le Châtel, France).

## 1.3 DOSAGE DES ELLAGITANINS TOTAUX

La méthode proposée est adaptée de celle mise au point par Peng et al. (2). Elle est basée sur l'hydrolyse acide des ellagitanins, au bain-marie, suivie d'un dosage par HPLC de l'acide ellagique libéré. Pendant cette réaction, chaque monomère ou dimère d'ellagitanin libère une molécule d'acide ellagique. La différence entre les deux valeurs correspond aux ellagitanins ayant libéré de l'acide ellagique.

## 2 RESULTATS

### 2.1 COMPOSITION PHENOLIQUE GENERALE

L'analyse des 4 échantillons de vins a permis de détecter 74 composés.

Parmi tous ces composés, 7 ont pu être identifiés comme étant la catéchine, l'épicatéchine, la quercétine, l'acide gallique, l'acide p-coumarique, l'acide vanillique et l'acide ellagique ; 17 sont des dérivés de composés connus tels que la catéchine, l'épicatéchine, l'acide caféique, l'acide chlorogénique, l'acide gallique, l'acide gentisique et l'acide p-coumarique ; et 50 n'ont pu être identifiés (Tableaux 1 et 2).

De plus, la quasi-totalité des composés détectés ont une activité antioxydante.

**Tableau 1: Concentrations (en mg/L) des composés phénoliques détectés dans les vins.**

Composés phénoliques	Concurrent		Acacia		Chêne 24 mois		Chêne 36 mois	
	Moyenne	erreur (%)	Moyenne	erreur (%)	Moyenne	erreur (%)	Moyenne	erreur (%)
<b>Ellagitannin</b>								
acide ellagique	15,86	2	19,64	31	18,74	5	19,63	4
<b>acides phénoliques</b>								
acide gallique	65,30	0	51,01	3	64,40	1	63,27	1
acide p-coumarique	0,19	27	0,20	17	0,17	4	0,16	5
acide vanillique	4,48	2	6,12	12	4,76	3	4,99	9
dérivé de acide caféique	3,26	11	5,02	26	5,13	2	5,30	30
dérivé de acide chlorogénique	2,79	3	2,50	2	2,77	3	2,76	1
dérivé de acide gallique	13,21	3	10,72	27	17,40	33	11,71	10
dérivé de acide gentisique 1	6,84	7	35,22	40	4,81	30	4,05	1
dérivé de acide gentisique 2	32,18	8	28,13	10	49,92	54	30,15	8
dérivé de acide p-coumarique 1	0,48	3	0,48	2	0,49	3	0,48	1
dérivé de acide p-coumarique 2	0,22	2	0,32	13	0,28	24	0,18	33
dérivé de acide p-coumarique 3	0,06	4	0,06	4	0,06	7	0,06	2
<b>Flavonoïdes</b>								
catéchine	36,38	8	135,69	1	33,17	6	33,24	3
épicatéchine	20,95	4	28,92	32	24,60	14	21,45	2
quercétine	13,50	0	14,25	2	14,2	0	12,85	4
dérivé de catéchine 1	7,62	3	7,05	1	6,84	7	6,77	3
dérivé de catéchine 2	13,40	3	11,45	0	12,40	5	12,19	1
dérivé de catéchine 3	46,10	4	51,28	2	43,94	0	42,70	2
dérivé de catéchine 4	6,84	27	29,77	2	5,85	5	5,56	3
dérivé de catéchine 5	17,47	3	18,82	13	20,34	21	12,62	39
dérivé de catéchine 6	4,04	18	2,76	58	7,16	55	3,05	89
dérivé de catéchine 7	5,53	1	15,06	1	10,81	67	5,67	10
dérivé de catéchine 8	1,63	32	0,85	13	1,03	60	0,92	54
dérivé de épicatéchine	3,98	20	4,20	2	4,70	7	4,81	2

**Tableau 2: Concentrations (en mg/L équivalent acide gallique) des composés phénoliques détectés dans les vins.**

Composés phénoliques	Concurrent		Acacia		Chêne 24 mois		Chêne 36 mois	
	Moyenne	erreur (%)	Moyenne	erreur (%)	Moyenne	erreur (%)	Moyenne	erreur (%)
<b>Non identifiés</b>								
1	0,13	1	0,04	141	0,10	12	0,05	141
2	0,46	1	0,31	10	0,38	1	0,31	10
3	1,94	1	0,00	0	1,52	3	1,09	46
4	4,49	3	2,16	5	3,47	2	2,82	17
5	12,40	1	5,01	3	7,84	2	7,09	13
6	1,22	2	0,86	21	0,81	52	0,90	35
7	1,14	4	0,72	73	1,38	59	1,17	27
8	0,14	8	0,83	36	0,37	107	0,46	100
9	2,80	1	1,27	20	1,16	33	1,95	48
10	7,85	1	14,47	8	7,36	10	8,24	4
11	0,37	13	0,52	67	0,33	4	0,51	39
12	3,31	1	1,61	54	2,77	5	2,69	16
13	0,31	3	0,00	0	0,31	0	0,33	26
14	2,75	1	2,84	1	7,53	3	13,28	0
15	0,36	3	0,41	8	0,58	1	0,62	3
16	0,10	6	0,13	20	0,12	23	0,17	30
17	3,21	4	2,99	1	2,85	2	2,37	41
18	6,05	3	5,39	4	6,02	5	5,94	0
19	10,31	4	9,40	3	10,46	3	10,50	0
20	0,55	19	0,29	5	0,50	32	0,55	14
21	0,24	107	0,70	10	1,10	11	3,01	2
22	1,27	37	0,28	6	0,87	9	1,14	121
23	1,94	8	0,40	5	1,90	7	1,98	2
24	1,57	81	0,38	2	2,16	11	2,20	8
25	6,24	2	6,12	0	6,17	0	5,98	0
26	2,69	59	19,11	1	1,15	50	1,55	5
27	4,72	16	4,87	1	4,21	4	4,08	2
28	11,85	6	11,79	8	12,51	2	11,76	0
29	5,87	1	6,06	8	6,85	16	5,25	24
30	2,64	5	2,17	63	3,14	11	2,17	26
31	1,59	19	1,15	32	2,11	31	1,45	30
32	23,37	3	22,03	1	26,38	12	23,86	2
33	2,67	5	2,45	6	3,66	2	2,58	0
34	2,53	6	1,78	48	4,45	7	2,45	5
35	5,62	10	7,12	30	10,75	3	7,96	10
36	5,46	17	9,71	25	7,00	8	8,49	51
37	6,89	4	6,53	6	6,85	2	6,82	1
38	0,59	30	3,99	14	0,97	19	1,43	6
39	7,94	6	9,14	1	9,68	3	11,16	2
40	4,09	8	4,76	23	6,08	12	6,40	0
41	2,00	2	5,35	11	4,52	12	5,63	5
42	1,14	17	5,30	19	4,33	20	5,33	4
43	1,92	37	2,08	38	4,45	16	5,53	16
44	1,79	30	2,60	19	3,88	29	5,73	8
45	3,47	4	2,95	37	5,79	26	8,40	8
46	3,50	11	3,30	18	5,35	39	5,96	14
47	2,40	2	2,36	28	2,01	22	3,76	10
48	5,58	15	7,73	9	6,24	17	8,39	14
49	4,79	8	8,21	2	6,00	41	8,83	4
50	3,49	17	4,15	6	4,88	25	7,53	31

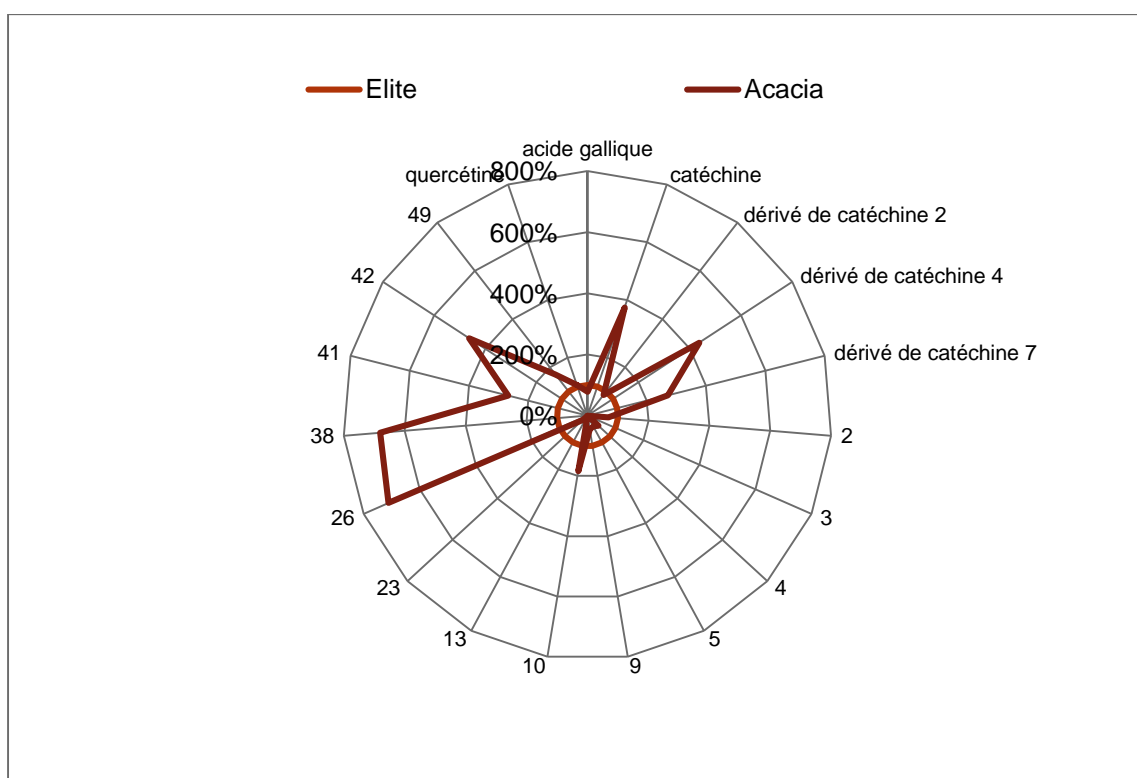
## 2.2 COMPARAISON DES ECHANTILLONS 2 A 2

Les 4 échantillons de vins ont été comparés 2 à 2 pour déterminer les composés statistiquement différents entre chaque échantillon. Pour chacune des comparaisons, un échantillon a été choisi comme étant le témoin.

### 2.2.1 *Acacia vs Concurrent*

Le profil phénolique de l'échantillon Acacia est statistiquement différent de celui de l'échantillon Concurrent (témoin) pour 19 des 74 composés (Figure 1). Parmi ces 19 composés, 10 composés sont en concentration significativement plus importante dans l'échantillon Acacia par rapport à l'échantillon témoin. Ces composés sont la catéchine (+274%), la quercétine (6%), les dérivés de la catéchine 4 et 7 (+337% et +172% respectivement) et 6 composés non identifiés, dont les composés 26 (+612%) et 38 (+580%). Le composé 26 est le composé qui, avec l'acide gallique, contribue le plus à l'activité antioxydante totale de l'échantillon Acacia (10% et 16% de l'activité antioxydante totale).

On note également que l'acide gallique est présent en plus faible concentration dans cet échantillon (-22%) par rapport à l'échantillon témoin et que l'acide ellagique est présent en concentration équivalente dans les 2 échantillons.

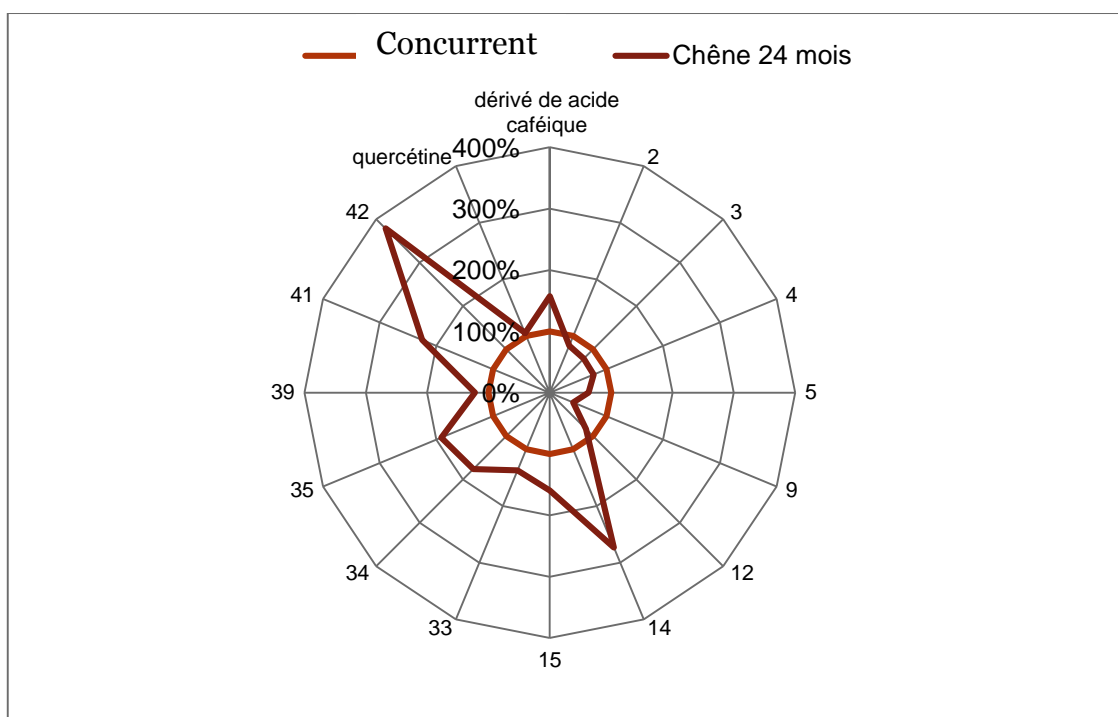


**Figure 1: Représentation en radar des composés présents en concentrations statistiquement différentes entre Acacia et Concurrent.**

### 2.2.2 Chêne 24 mois vs Concurrent

Le profil phénolique de l'échantillon Chêne 24 mois est statistiquement différent de celui de l'échantillon Concurrent (témoin) pour 16 des 74 composés (Figure 2). Parmi ces 16 composés, 10 composés sont en concentration significativement plus importante par rapport à l'échantillon témoin. Ces composés sont la quercétine (+5%), 1 dérivé de l'acide caféique (+57%) et 8 composés non identifiés, dont les composés 14 (+173%) et 42 (+278%).

On note également que l'acide ellagique est présent en concentration équivalente dans les 2 échantillons.

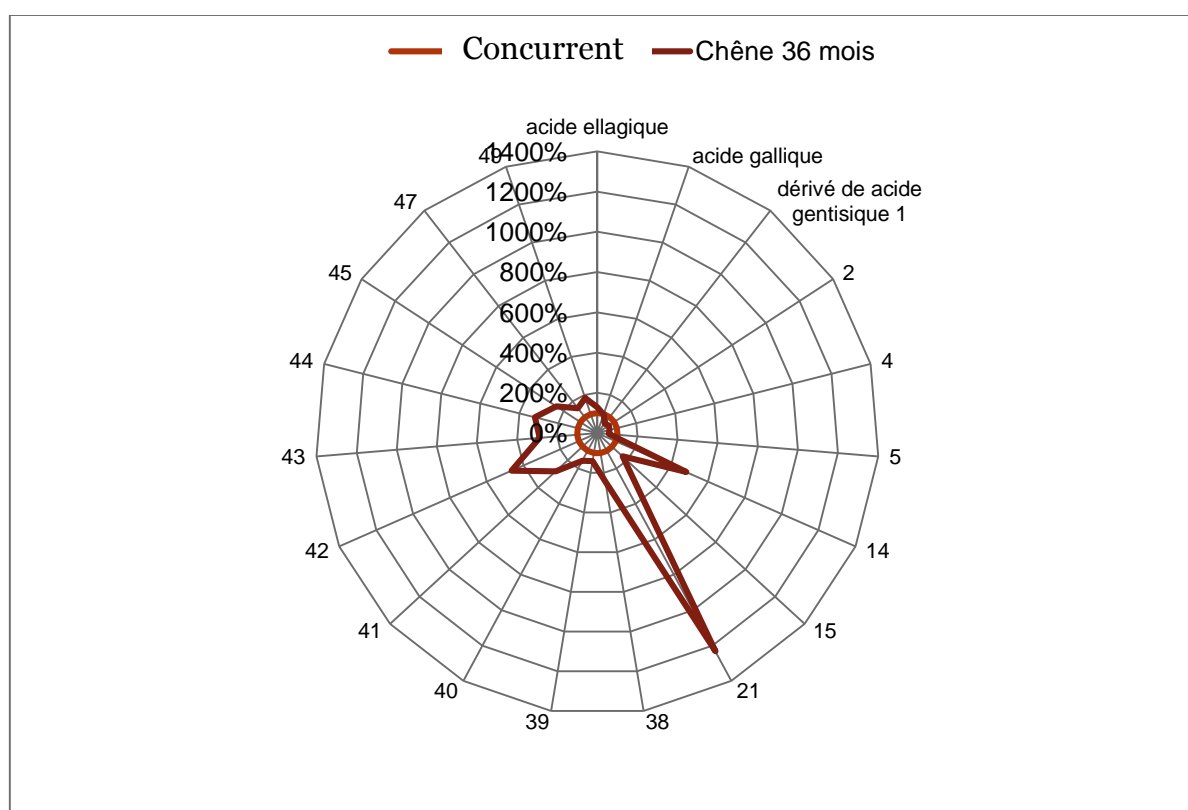


**Figure 2: Représentation en radar des composés présents en concentrations statistiquement différentes entre Chêne 24 mois et Concurrent.**

### 2.2.3 Chêne 36 mois vs Concurrent

Le profil phénolique de l'échantillon Chêne 36 mois est statistiquement différent de celui de l'échantillon Concurrent (témoin) pour 19 des 74 composés (Figure 3). Parmi ces 19 composés, 14 composés sont en concentration significativement plus importante par rapport à l'échantillon témoin. Ces composés sont l'acide ellagique (+29%) et 13 composés non identifiés, dont les composés 14 (+382%) et 21 (+1132%).

On note également que l'acide gallique et 1 dérivé de l'acide gentisique sont présents en plus faible concentration dans cet échantillon (-3% et -41% respectivement) par rapport à l'échantillon témoin.



**Figure 3: Représentation en radar des composés présents en concentrations statistiquement différentes entre Chêne 36 mois et Concurrent.**



#### 2.2.4 Chêne 36 mois vs Chêne 24 mois

Le profil phénolique de l'échantillon Chêne 36 mois est statistiquement différent de celui de l'échantillon Chêne 24 mois (témoin) pour 8 des 74 composés (Figure 4). Parmi ces 8 composés, 3 composés sont en concentration significativement plus importante par rapport à l'échantillon témoin. Ces composés sont 3 composés non identifiés, dont les composés 14 (+76%) et 21 (+172%).

On note également que l'acide ellagique est présent en concentration équivalente dans les 2 échantillons.

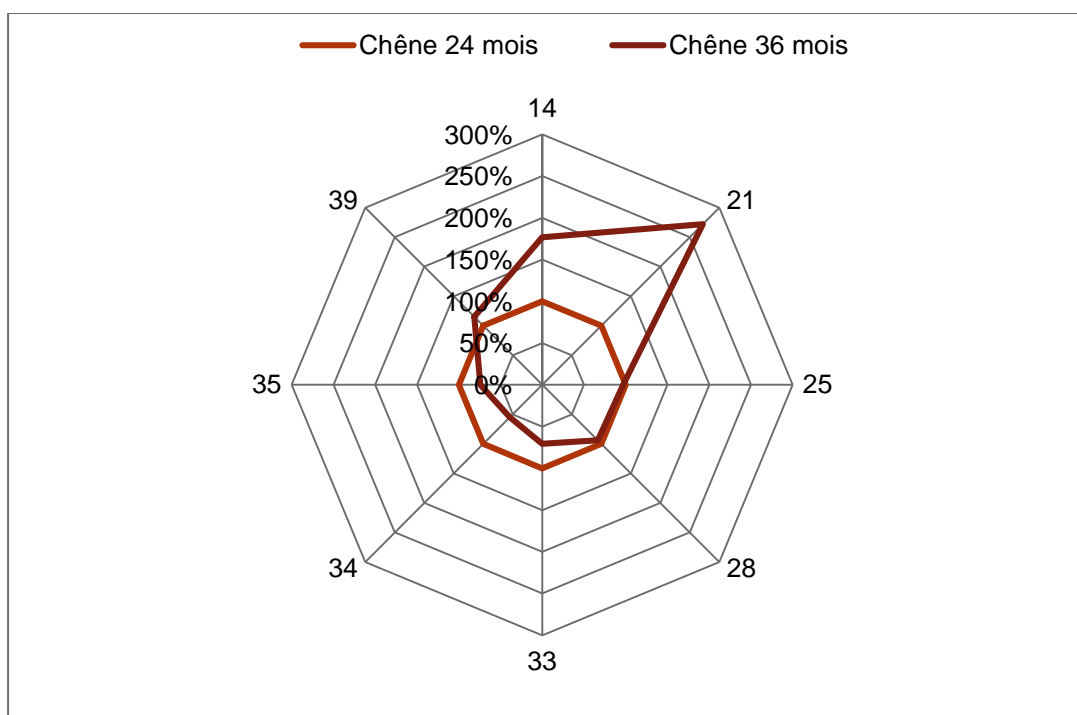
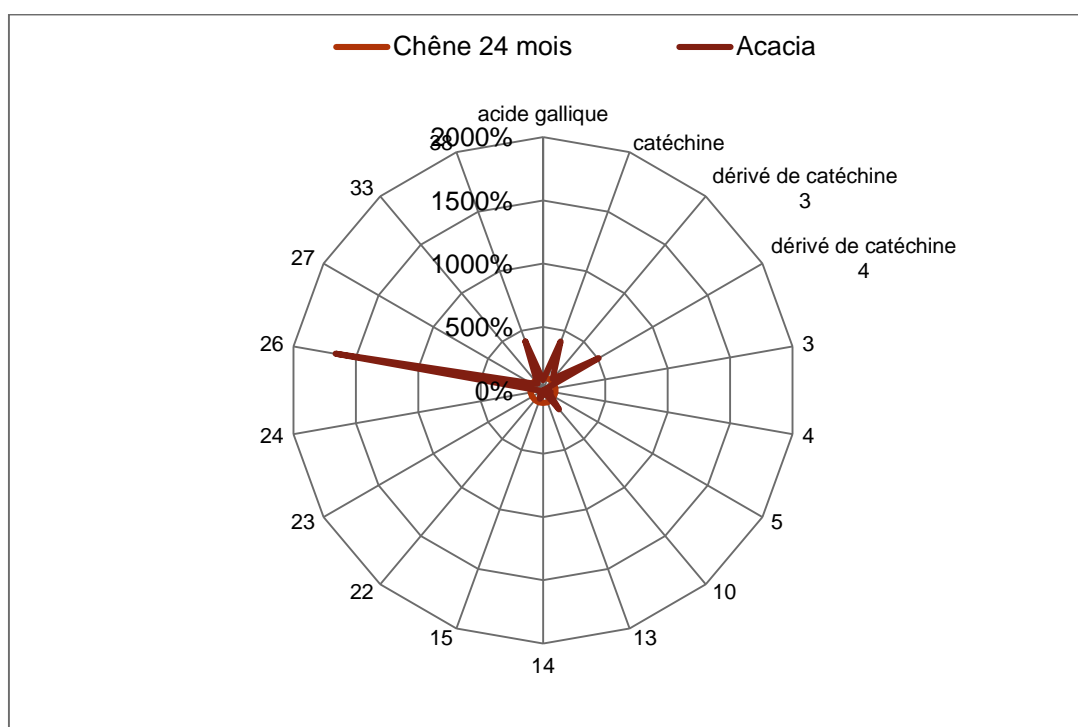


Figure 4: Représentation en radar des composés présents en concentrations statistiquement différentes entre Chêne 36 mois et Chêne 24 mois.

### 2.2.5 Acacia vs Chêne 24 mois

Le profil phénolique de l'échantillon Acacia est statistiquement différent de celui de l'échantillon Chêne 24 mois (témoin) pour 18 des 74 composés (Figure 5). Parmi ces 18 composés, 7 composés sont en concentration significativement plus importante par rapport à l'échantillon témoin. Ces composés sont la catéchine (+309%), les dérivés de la catéchine 3 et 4 (+17% et 408% respectivement) et 4 composés non identifiés, dont le composé 26 (+1565%) qui, avec l'acide gallique, contribue le plus à l'activité antioxydante totale de l'échantillon Acacia (10% et 16% de l'activité antioxydante totale).

On note également que l'acide gallique est présent en plus faible concentration dans cet échantillon (-21%) par rapport à l'échantillon témoin et que l'acide ellagique est présent en concentration équivalente dans les 2 échantillons.

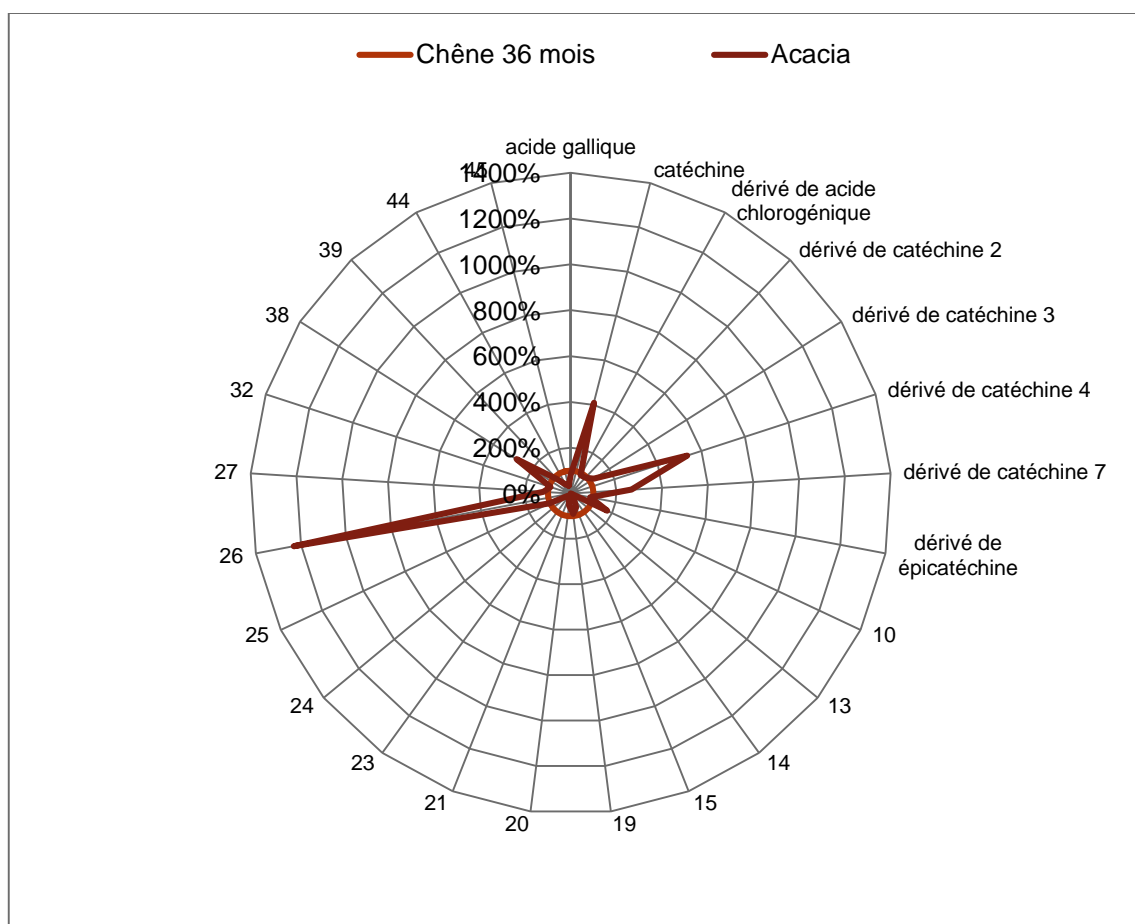


**Figure 5: Représentation en radar des composés présents en concentrations statistiquement différentes entre Acacia et Chêne 24 mois.**

### 2.2.6 Acacia vs Chêne 36 mois

Le profil phénolique de l'échantillon Acacia est statistiquement différent de celui de l'échantillon Chêne 36 mois (témoin) pour 25 des 74 composés (Figure 6). Parmi ces 25 composés, 9 composés sont en concentration significativement plus importante par rapport à l'échantillon témoin. Ces composés sont la catéchine (+308%), les dérivés de la catéchine 3, 4 et 7 (+20%, +436% et +166% respectivement) et 5 composés non identifiés, dont le composé 26 (+1132%) qui, avec l'acide gallique, contribue le plus à l'activité antioxydante totale de l'échantillon Acacia (10% et 16% de l'activité antioxydante totale).

On note également que l'acide gallique, le dérivé de la catéchine 2, le dérivé de l'épicatéchine et le dérivé de l'acide chlorogénique sont présents en plus faible concentration dans cet échantillon (-19%, -6%, -13% et -9% respectivement) par rapport à l'échantillon témoin et que l'acide ellagique est présent en concentration équivalente dans les 2 échantillons.

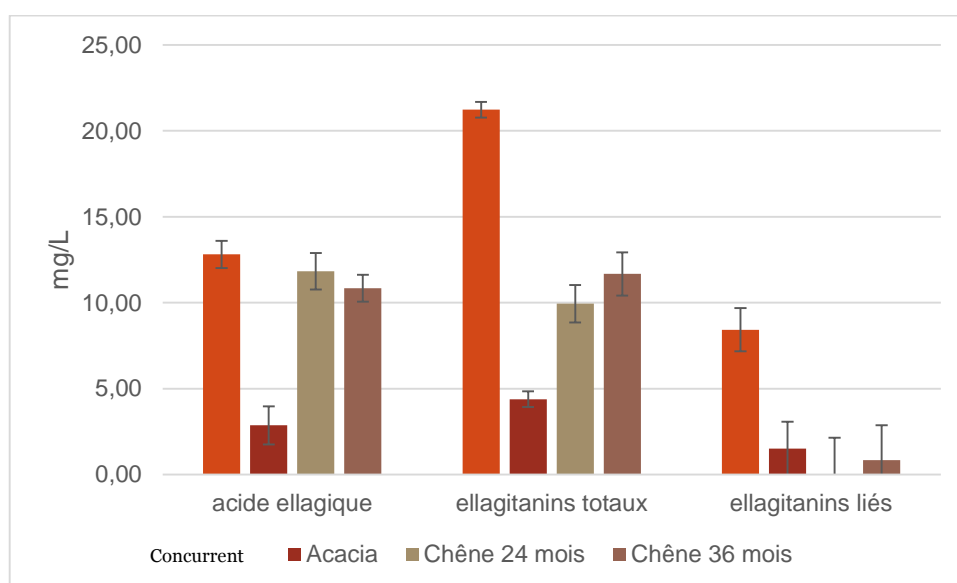


**Figure 6: Représentation en radar des composés présents en concentrations statistiquement différentes entre Acacia et Chêne 36 mois.**

### 2.3 ELLAGITANINS TOTAUX

La concentration en ellagitanins totaux, exprimée en mg/L d'acide ellagique libéré dans le vin, varie de  $4,38 \pm 1$  à  $21,23 \pm 1$  mg/L, ce qui est conforme aux résultats d'étude précédente (3). Les échantillons Acacia et Concurrent contiennent, respectivement, la plus faible et la plus forte concentration en ellagitanins totaux (Tableau 3). Les analyses montrent que les échantillons Chêne 24 mois et Chêne 36 mois ne contiennent pas ou peu d'ellagitanins liés, seul l'acide ellagique est présent en concentration non négligeable.

**Tableau 3: Concentrations de l'acide ellagique et des ellagitanins liés et totaux (en mg/L équivalent acide ellagique) dans les vins.**



## 2.4 ANALYSE EN COMPOSANTE PRINCIPALE

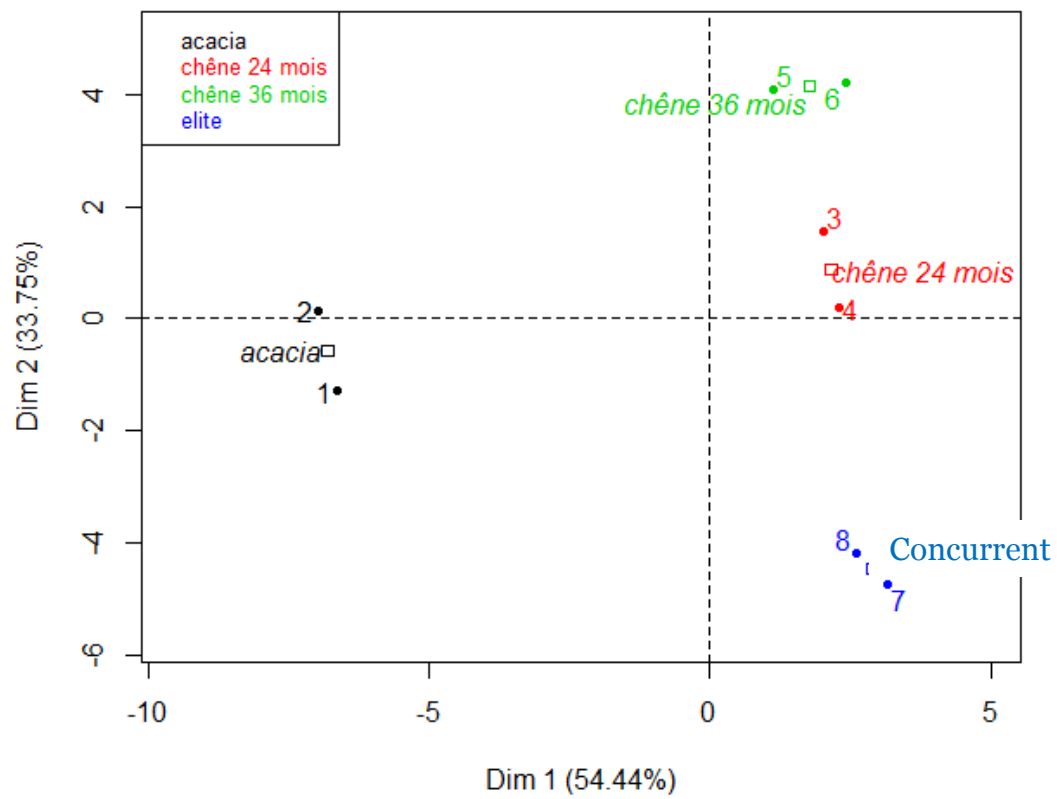
Une analyse en composantes principales a été réalisée en ne gardant que les composés statistiquement influencés par l'effet tonneau sur le vin (Figure 7). Elle permet d'expliquer plus de 88% (34%+54%) de la variabilité apportée sur les paramètres mesurés.

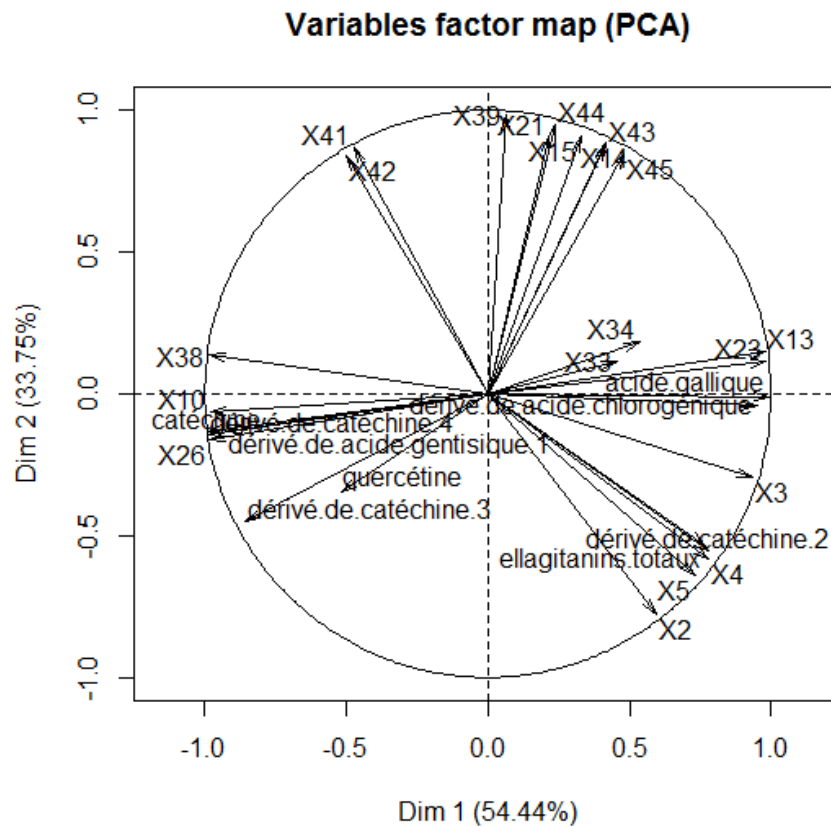
L'axe 1 sépare les vins en fonction de la variété de bois utilisée pour le tonneau. L'échantillon Acacia se distingue par de plus grandes concentrations en catéchine et composés 10, 26 et 38 mais également par de plus faible concentration en acide gallique. Alors que les vins vieillis en fût de chêne se distinguent des autres vins principalement par des composés inconnus.

L'axe 2 permet de séparer les vins en fonction de la durée d'élevage en fût de chêne.

L'effet tonneau n'influence pas la concentration en acide ellagique libre, mais influence celle des ellagitanins totaux.

### Individuals factor map (PCA)





**Figure 7: Analyse en Composante Principale des composés présentant une différence de concentration significative entre les vins**

### 3 CONCLUSION

La comparaison des profils phénoliques des 4 échantillons de vins analysés a permis de détectés 74 composés.

Parmi ces composés, 7 ont pu être identifiés et 17 sont des dérivés de composés connus.

Les flavonoïdes comme la catéchine, l'épicatéchine et la quercétine apportent une perception d'amertume et d'astringence au vin. La concentration de l'épicatéchine ne dépasse pas son seuil de perception (270 mg/L) alors que celle de la quercétine dépasse son seuil de perception dans les 4 échantillons (10 mg/L). La concentration de la catéchine dépasse son seuil de perception (119 mg/L) seulement dans l'échantillon Acacia (4).

Les acides phénoliques comme les acides p-coumarique, vanillique, caféique, gallique et gentisique apportent principalement une perception d'astringence au vin. Notamment l'acide gentisique dont la concentration dépasse son seuil de perception (2 mg/L) dans les 4 échantillons.

L'acide ellagique apporte également une perception d'astringence au vin. De plus sa concentration dépasse son seuil de perception (1,99 mg/L dans l'eau) dans les 4 échantillons.

L'échantillon Acacia se distingue des trois autres échantillons par des concentrations plus importantes de catéchine, de dérivés de catéchine et du composé 26 qui correspond à lui seul à 10% de l'activité antioxydante totale de l'échantillon. En revanche, il contient très peu d'acide ellagique et d'ellagitanins totaux.

L'échantillon Concurrent est celui qui contient le plus d'acide ellagique et d'ellagitanins totaux.

Les échantillons Chêne 24 mois et Chêne 36 mois ne contiennent pas ou peu d'ellagitanins liés, seul l'acide ellagique est présent en concentration non négligeable.

Chira et Teissedre (3) ont montré que les ellagitanins ne sont pas les seuls responsables de l'astringence et de l'amertume. En effet, l'astringence et l'amertume ont également été perçus dans les vins avec des niveaux élevés de composés furaniques tels que le furfural et le 5-méthylfurfural deux composés issus du tonneau.

Lors de dégustation de type profil sensoriel, les vins rouges les plus riches en ellagitanins sont décrits comme étant plus ronds. De plus, il apparaît que l'astringence et l'amertume ne sont pas négativement impactées par les concentrations en ellagitanins dans le vin, les différentes notes n'étant pas significativement différentes (5).



## 4 REFERENCES

1. *Fate of polyphenols and antioxidant activity of barley throughout malting and brewing* . **Céline Leita**, **Eric Marchioni**, **Martine Bergaentz**, **Minjie Zhao**, **Luc Didierjean**, **Laurence Miesch**, **Emilie Holder**, **Michel Miesch**, **Saïd Ennahar**. s.l. : Journal of Cereal Science , 55 (2012) 318-322.
2. *INSOLUBLE ELLAGITANNINS IN CASTANEA SATIVA AND QUERCUS PETRAEA WOODS* . **SHUYUN PENG**, **AUGUSTIN SCALBERT** and **BERNARD MONTIES**. s.l. : Phytochemistry, , Vol. 30, No. 3, pp. 775-778, 1991.
3. *Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting methods: behaviour during storage*. **Kleopatra Chira**, **Pierre-Louis Teissedre**. s.l. : Food Chemistry, 2013 , Vol. 140 168-177.
4. *Orosensory-directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine*. **Hufnagel JC**, **Hofmann T**. s.l. : J Agric Food Chem, 2008 Feb 27;56(4):1376-86.
5. **Michel J.**, **Jourdes M.**, **Giordanengo T.**, **Mourey N.**, **Teissedre P-L**. *CONTRIBUTION PHENOLIQUE DU BOIS ET INFLUENCE SUR LES PERCEPTIONS ORGANOLEPTIQUES DU VIN ROUGE* . s.l. : Bulletin de l'OIV, 2010.