RÉSOLUTION OIV-OENO 675B-2022

MONOGRAPHIES SPÉCIFIQUES SUR LES ELLAGITANINS

L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE,

VU l'article 2, paragraphe 2 iv de l'Accord du 3 avril 2001 portant création de l'Organisation internationale de la vigne et du vin,

CONSIDÉRANT les travaux du Groupe d'experts « Spécifications des produits œnologiques »,

CONSIDÉRANT la OIV-OENO 624-2022, « Actualisation de la monographie des tanins œnologiques », qui propose une monographie générale,

CONSIDÉRANT la nécessité d'établir des monographies spécifiques pour chaque famille de tanins,

DÉCIDE, sur proposition de la Commission II « Œnologie », d'ajouter la monographie COEI-1-ELLAGI suivante au Codex œnologique international :

TANINS ŒNOLOGIQUES

Monographie spécifique sur les tanins œnologiques contenant des ellagitanins

Les ellagitanins constituent une sous-classe des tanins hydrolysables. Sont inclus dans cette sous-classe les tanins issus du bois de châtaigner et de chêne.

1. Méthode pour la détermination des affiliations aux sous classes

1.1. Caractérisation par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP)

1.1.1. Principe

La présente méthode est conçue pour vérifier la présence d'ellagitanins dans les tanins œnologiques et mesurer leur concentration totale.

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

1.1.2. Réactifs, matériel et appareillage

1.1.2.1. Réactifs

Vescalagine (pureté > 96%) n° CAS 36001-47-5
Eau ultra-filtrée (resistivité : 18,3 MΩ.cm)
Eau (qualité CLHP)
Méthanol (qualité CLHP)
Acide formique (qualité CLHP)

1.1.2.2. Matériel

Fiole en verre borosilicaté de 100 mL
Filtre en cellulose d'une porosité de 0,45 µm
Seringue en plastique de 1 mL

1.1.2.3. Appareillage

Balance technique d'une précision de ± 0,01 g
Balance analytique d'une précision de ± 0,1 mg
Verrerie volumétrique de classe A
Système de chromatographie avec détection par spectrométrie de masse composé de :

- pompe à gradient binaire ou quaternaire,
- injecteur à boucle de 10 µL,
- détecteur spectrophotométrique à longueur d'onde fixe de 280 nm,
- colonne Phenomenex Kinetex (par exemple) : 150 □ 3,0 mm, à particules de 2,6 µm,
- source ionisation ESI-SIM (ElectroSprayIonisation – SingleIon Monitoring)
- détecteur du spectromètre de masse : triple quadrupôle.-temps de vol (Q-Tof)

1.1.3. Préparation des échantillons et des étalons

Échantillons : peser environ 0,5 g de tanins œnologiques sur la balance analytique et noter le poids. Dissoudre les tanins œnologiques dans 100 mL d'eau ultra-filtrée dans

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

une fiole en verre borosilicaté de 100 mL et mélanger soigneusement.

Préparations des solutions d'étalonnage : mettre 10 mg de vescalagine en solution dans 50 mL d'eau ultra-filtrée, soit une concentration de 200 mg/L. Procéder ensuite à des dilutions dans de l'eau ultra-filtrée pour obtenir des concentrations de 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 40, 50 et 100 mg/L en vue de la gamme d'étalonnage.

Solvant A : eau (qualité CLHP) contenant 0,1 % d'acide formique (qualité CLHP).

Solvant B : méthanol contenant 0,1 % d'acide formique (qualité CLHP).

1.1.4. Mode opératoire

Filtrer les solutions de tanin œnologique et étalon sur un filtre d'une porosité de 0,45 µm et les analyser par chromatographie dans les conditions suivantes données à titre d'exemple :

Volume d'injection : 10 µL de solution d'échantillon ou de solution étalon de vescalagine

Détection à 280 nm

Composition du gradient d'élution (temps, % de solvant A) :

0 min, 99,0 % ; 2 min, 98,0 % ; 5 min, 97,0 % ; 6 min, 96,5 % ; 7 min, 96,0 % ; 8 min, 95,5 % ; 10 min, 95,0 % ; 14 min, 90,0 % ; 17 min, 85,0 % ; 23 min, 80 % ; 35 min, 1,0 % et 10 min pour l'équilibre

Débit : 0,4 mL/min

Détection et quantification des huit principaux ellagitanins (vescalagine, castalagine, roburines A, B, C, D et E et grandinine) par DAD (UV à 280 nm) ou balayage ESI-SIM et détection Q-Tof par exemple, qui permet une détection et une quantification plus précise.

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

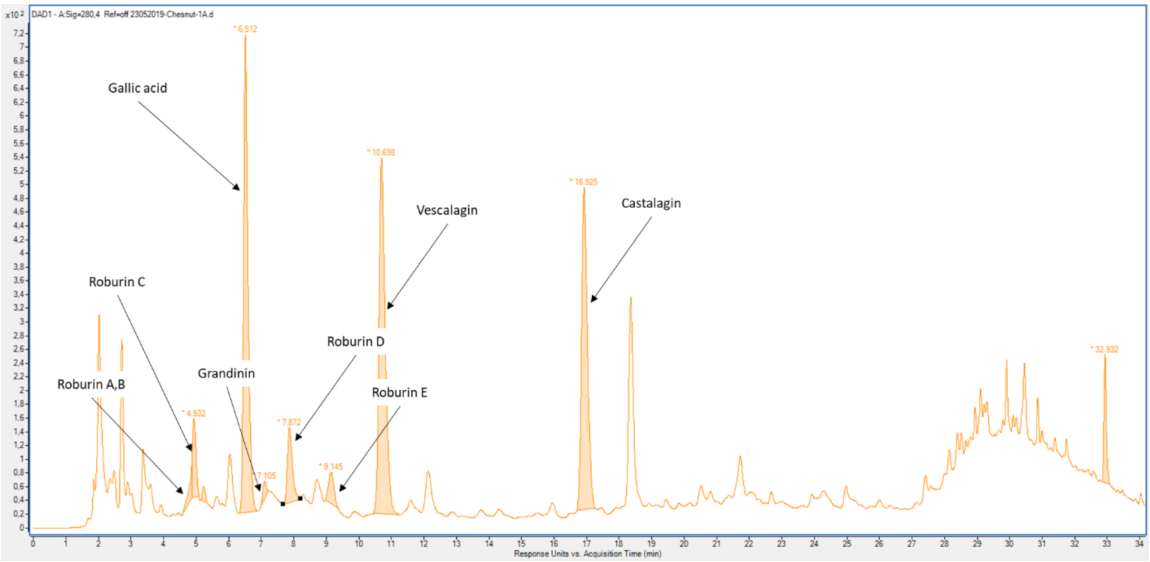


Figure 1. Exemple de chromatogramme des ellagitanins à 280 nm

1.2. Conclusion

Un tanin œnologique est identifié comme un ellagitanin (ou tanin ellagique) lorsque :

- sa teneur en polyphénols totaux est supérieure à 65 % (méthode gravimétrique en annexe 1 de la monographie générale OIV-OENO 624-2022),
- sa teneur en ellagitanins est supérieure à 200 mg équivalent acide gallique par gramme de tanins œnologiques évaluée par la méthode CLHP

2. Méthode de mesure des propriétés et fonctionnalités

Les méthodes et critères de conformité ci-après ne sont applicables que lorsque la propriété/fonctionnalité est revendiquée sur la préparation de tannins.

2.1. Aptitude antioxydante

2.1.1. Principe

Détermination de l'aptitude antioxydante des ellagitanins à contribuer à la protection des moûts et des vins de l'oxydation.

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

2.1.2. Produits

2.1.2.1. Capacité antioxydante

DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) : MM = 394,32
Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique) : MM = 250,29,
Méthanol à 99,9 % vol
Lecteur de plaques de 96 puits (FLUOstar Omega - BMG Labtech, par exemple)

2.1.2.2. Consommation directe d'oxygène (OCR)

Éthanol à 96 % vol, N°CAS 64-17-5
Acide tartrique : MM = 150,09, N° CAS 87-69-4
Chlorure de fer (III) hexahydraté : MM = 270,30, N° CAS 7705-08-0
Sulfate de cuivre (II) pentahydraté : MM = 249,68, N°CAS 7758-98-7
Bouteilles en verre transparent avec pastilles intégrées de capacité ~~0.75 cLl~~ 0,75 L
Oxymètre NomaSense (par exemple).

2.1.3. Modes opératoires

2.1.3.1. Capacité antioxydante (test DPPH)

Solution de tanins œnologiques à 0,15 g/L : dissoudre 37,5 mg de tanins œnologiques dans 500 mL de solution de vin modèle (eau distillée, 12 % vol. d'éthanol, 4 g/L d'acide tartrique et pH ajusté à 3,5). Une dilution de la solution de tanins œnologiques peut être nécessaire si la mesure de l'absorbance s'avère supérieure à 1 unité (dans ce cas, la dilution doit être prise en compte dans le calcul).
Solution de Trolox à 1 mM : dissoudre 125 g de Trolox dans 500 mL de solution de vin modèle (eau distillée, 12 % vol. d'éthanol, 4 g/L d'acide tartrique et pH ajusté à 3,5).
Gamme d'étalonnage : dissoudre 1, 0,8, 0,6, 0,4, 0,2 et 0,1 mL de solution de Trolox à 1 mM dans 0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 0,9 mL de solution de vin modèle. Ces quantités correspondent respectivement à des concentrations finales de Trolox de 1, 0,8, 0,6, 0,4, 0,2 et 0,1 mM.
Solution de DPPH à 6.10^{-5}M : dissoudre 2,36 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. La solution doit être fraîchement préparée.

2.1.3.2. Consommation directe d'oxygène (OCR)

Solution de tanins œnologiques à 1 g/L : dissoudre 0,75 g de tanins œnologiques dans 750 mL de solution de vin modèle.

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA
© OIV 2022

Solution de vin modèle : dissoudre 4 g d'acide tartrique, 2,25 mg de chlorure de fer (III) hexahydraté et 0,225 mg de sulfate de cuivre (II) pentahydraté dans 90 mL d'éthanol et 660 mL d'eau distillée. Ajuster le pH à 3,5.

2.1.4. Essais

2.1.4.1. Capacité antioxydante

Mesurer un blanc contenant uniquement le réactif DPPH (BR) à 515 nm en plaçant 190 µL de solution de DPPH (1.3.1) dans chacun des puits de la plaque. Ajouter ensuite 10 µL de solution de tanins œnologiques (échantillons), d'eau distillée (blanc) ou de solution de la gamme d'étalonnage de Trolox (étalons) dans les puits et mesurer (SM) à 515 nm après 30 min.

Un exemple de remplissage de la plaque est présenté en figure 2.

La formule à appliquer pour le calcul de la capacité antioxydante est la suivante :

$$BR - SM = x$$

$$capacité\ antioxydante\ (mg\ éq.\ Trolox\ par\ g\ de\ tanins) = \frac{250{,}29\ (mg)}{0{,}15\ (g)} \times \frac{x - b}{a}$$

où « a » et « b » correspondent respectivement à la pente et à la constante de la courbe d'étalonnage du Trolox. Absorbance = f ([Trolox]) ▫ Absorbance = ax + b

Dans tous les cas, les ellagitanins (ou tanins ellagiques) doivent présenter une capacité antioxydante, et plus concrètement présenter une teneur supérieure à 600 ± 50 mg d'équivalent Trolox par gramme de tanins (extraits commerciaux).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	T 0.1	T 0.1	T 0.2	T 0.2	T 0.4	T 0.4	T 0.6	T 0.6	T 0.8	T 0.8	T 1	T 1
B	T 0.1	T 0.1	T 0.2	T 0.2	T 0.4	T 0.4	T 0.6	T 0.6	T 0.8	T 0.8	T 1	T 1
C	Blank	OT 1	OT 2	OT 3	OT 4	OT 5	OT 6	OT 7	OT 8	OT 9	OT 10	OT 11
D	Blank	OT 1	OT 2	OT 3	OT 4	OT 5	OT 6	OT 7	OT 8	OT 9	OT 10	OT 11
E	Blank	OT 1	OT 2	OT 3	OT 4	OT 5	OT 6	OT 7	OT 8	OT 9	OT 10	OT 11
F	Blank	OT 1	OT 2	OT 3	OT 4	OT 5	OT 6	OT 7	OT 8	OT 9	OT 10	OT 11
G	Blank	OT 1	OT 2	OT 3	OT 4	OT 5	OT 6	OT 7	OT 8	OT 9	OT 10	OT 11
H	Blank	OT 1	OT 2	OT 3	OT 4	OT 5	OT 6	OT 7	OT 8	OT 9	OT 10	OT 11

T = Trolox OT = Oenological Tannins

Figure 2. Exemple de plaque de 96 puits

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

2.1.4.2. Consommation directe d'oxygène (OCR)

Saturer la solution de vin modèle avec 8 mg/L d'oxygène en réalisant un barbotage d'air pendant 10 min à 20-25 °C. Ajouter ensuite les tanins œnologiques à la solution de vin modèle dans les bouteilles remplies à 0,75 cL. Fermer hermétiquement les bouteilles et agiter pour obtenir une parfaite homogénéisation.

1. Mesurer l'oxygène consommé tous les deux jours en commençant 1 h après le remplissage des bouteilles.
2. Pour déterminer le taux de consommation d'oxygène, suivre la procédure indiquée en figure 2 :

   - représenter la consommation d'oxygène en fonction du temps,
   - représenter ensuite l'inverse de la consommation d'oxygène en fonction de l'inverse du temps,
   - le taux de consommation d'oxygène correspond à l'inverse du coefficient de pente :

OCR t_0 mg de O_2 par L consommé par jour et par g de tanins = 1/A, A étant le coefficient de pente

Dans tous les cas, les ellagitanins (ou tanins ellagiques) doivent présenter une aptitude à consommer directement l'oxygène, et plus concrètement être capables de consommer au moins 0,50 ± 0,05 mg de O_2 par litre, par jour et par gramme de tanins (extraits commerciaux).

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

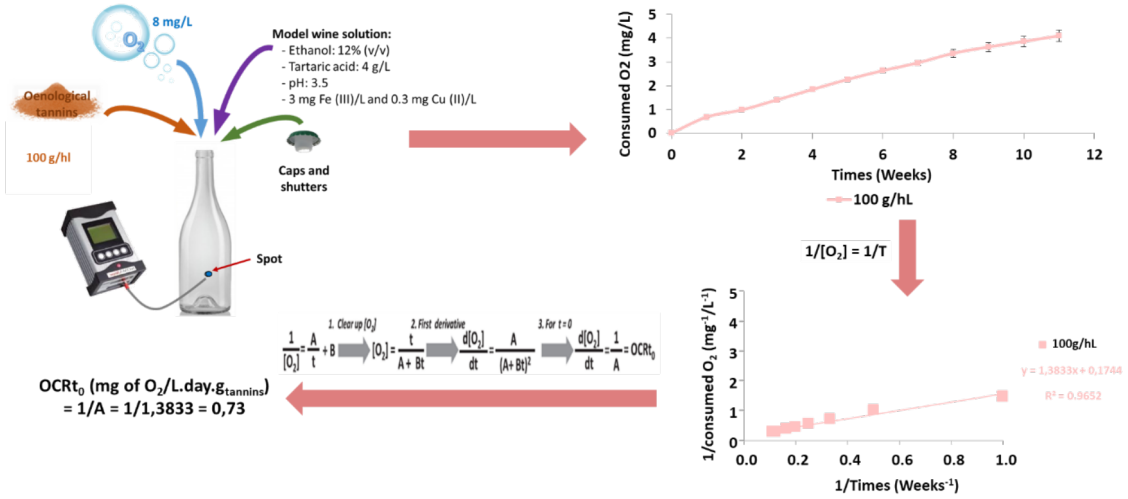


Figure 3. Procédure pour déterminer le taux de consommation d'oxygène

2.2. Aptitude antioxydasique

2.2.1. Principe

Détermination de l'aptitude antioxydasique des ellagitanins à contribuer à la protection antioxydasique par rapport à l'activité laccase des composés du moût et du vin.

2.2.2. Produits

Éthanol à 96 % vol, N° CAS 64-17-5

Acide tartrique : MM = 150,09, N° CAS 87-69-4

Acétate de sodium : MM = 82,03, N° CAS 6131-90-4

Syringaldazine (4-Hydroxy-3,5-diméthoxybenzaldéhyde azine) : MM = 360,36 , N°CAS: 14414-32-5

Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP), N° CAS 25249-54-1

Moût botrytisé avec une activité laccase

Eau distillée (qualité CLHP)

2.2.3. Mode opératoire

Solution de tanins œnologiques à 2 g/L : dissoudre 200 mg de tanins œnologiques dans 100 mL de solution de vin modèle (eau distillée, 12 % vol. d'éthanol, 4 g/L d'acide

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

tartrique et pH ajusté à 3,5).

Solution tampon à 8,2 g/L : dissoudre 410 mg d'acétate de sodium dans 50 mL d'eau distillée.

Solution de syringaldazine à 0,06 g/L : dissoudre 30 mg de syringaldazine dans 500 mL d'éthanol.

2.2.4. Essais

1. Ajouter 4 mL de moût botytrisé à 1 mL de solution de tanins œnologiques dans un tube, la solution obtenue correspondant à l'échantillon.

2. Ajouter 4 mL de moût botytrisé à 1 mL de solution de vin modèle dans un tube, la solution obtenue correspondant au témoin.
3. Après (exactement) 4 minutes, ajouter 0,8 g de PVPP dans chacun des tubes (échantillon et témoin), puis agiter et centrifuger pendant 10 minutes à 8500 tr/minute.
4. Prélever 1 mL du surnageant (aussi bien de l'échantillon que du témoin) dans 1,4 mL de solution tampon et 0,6 mL de solution de syringaldazine. Placer le mélange dans une cuvette en plastique de spectrophotomètre (trajet optique de 10 mm).
5. Mesurer l'absorbance à 530 nm toutes les minutes pendant 5 minutes (temps de référence mesuré à 0 minute inclus).
6. Déterminer ensuite l'activité laccase et l'activité laccase résiduelle au moyen des équations suivantes et de la figure 3 :

$$Activité\ laccase = 46{,}15 \times \Delta A \mu mol.L^{-1}.min^{-1} = 46{,}15 \times \Delta A\ UL$$

$$\%d'activité\ résiduelle = (activité\ laccase\ _{échantillon}/activité\ laccase_{témon}) \times 100$$

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

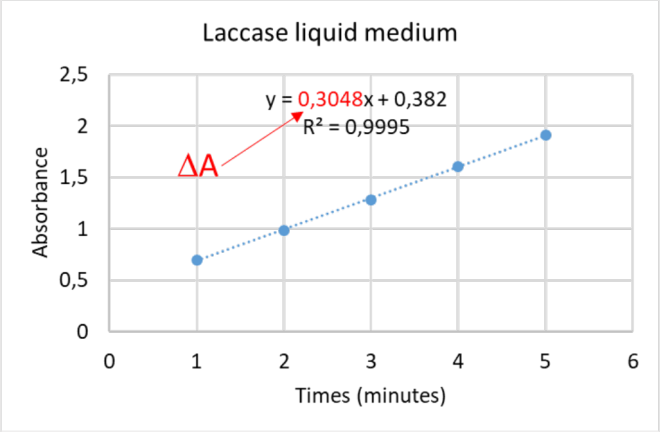


Figure 4. Exemple de détermination de ΔA

Dans tous les cas, les ellagitanins (ou tanins ellagiques) doivent présenter une aptitude antioxydasique, et plus concrètement être capables de réduire l'activité laccase résiduelle d'au moins 40 %. Cette valeur est valide pour les moûts et les vins contenant moins de 5 UL (unités laccase).

2.3. Stabilisation de la couleur

2.3.1. Principe

Détermination des propriétés de stabilisation de la couleur des ellagitanins promouvant l'expression, la stabilisation et la préservation de la couleur dans le moût et le vin rouges.

2.3.2. Produits

Éthanol à 96 % vol., N° CAS 64-17-5

Acide tartrique : MM = 150,09, N° CAS 87-69-4

Malvidine-3-*O*-glucoside : MM = 528,87, N° CAS 18470-06-9

2.3.3. Mode opératoire

Solution de tanins œnologiques à 0,8 g/L : dissoudre 80 mg de tanins œnologiques dans 100 mL de solution de vin modèle (eau distillée, 12 % vol. d'éthanol, 4 g/L d'acide tartrique et pH ajusté à 3,5).

Solution de malvidine-3-O-glucoside à 0,1 g/L : dissoudre 10 mg de malvidine-3-*O*-glucoside dans 100 mL de solution de vin modèle (eau distillée, 12 % vol. d'éthanol,

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

4 g/L d'acide tartrique et pH ajusté à 3,5).

2.3.4. Essais

1. Placer 0,75 mL de solution de tanins œnologiques et 0,75 mL de solution de vin modèle dans tube cônique à bouchon de 2 mL -noté tube- et le maintenir à l'abri de la lumière et à température ambiante. Ce tube est désigné « T0 ».

2. Placer 0,75 mL de solution de malvidine-3-O-glucoside et 0,75 mL de solution de vin modèle dans un tube et le maintenir à l'abri de la lumière et à température ambiante. Ce tube est désigné « M ».
3. Placer 0,75 mL de solution de tanins œnologiques et 0,75 mL de solution de malvidine-3-O-glucoside dans un tube et le maintenir à l'abri de la lumière et à température ambiante. Ce tube est désigné « TM ».
4. Après 7 jours, mesurer l'absorbance des trois tubes (TM, T0 et M) à 450, 520, 570 et 630 nm.
5. Soustraire la valeur de l'absorbance de T0 à celle de TM pour obtenir l'absorbance en évitant les interférences dues à la couleur « naturelle » des tanins œnologiques.

$$A(T_M) - A(T_0) = A(T)$$

6. Déterminer ensuite les coordonnés CIELAB (L*, a* et b*) correspondant à la solution de tanins + malvidine-3-O-glucoside (T) et à la solution de malvidine-3-O-glucoside (M) en utilisant le logiciel gratuit MSCV ou équivalent (https://www.unirioja.es/color/descargas.shtml).

Les formules à appliquer pour le calcul de l'indice de copigmentation sont les suivantes :

$$1)\ \Delta E_{ab}.TS = \sqrt{(L*_T - L*_W) + (a*_T - a*_W) + (b*_T - b*_W)}$$

$$2)\ \Delta E_{ab}.CS = \sqrt{(L*_M - L*_W) + (a*_M - a*_W) + (b*_M - b*_W)}$$

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

$$3) Copigmentation\ Index\ (\%) = 100 \times \frac{\Delta E_{ab}.TS - \Delta E_{ab}.CS}{\Delta E_{ab}.CS}$$

ΔE_{ab}.TS : différence de couleur totale entre la solution de malvidine-3-*O*-glucoside contenant des tanins commerciaux (T) et une solution de couleur blanche pure (W).

ΔE_{ab}.CS : différence de couleur totale entre la solution de malvidine-3-*O*-glucoside (M) et une solution de couleur blanche pure (W).

Les coordonnées CIELAB d'une solution de couleur blanche pure sont : L* = 100,00, a* = 0,00 et b* = 0,00.

Dans tous les cas, les ellagitanins (ou tanins ellagiques) doivent présenter une aptitude à stabiliser la couleur, et plus concrètement présenter un indice de copigmentation supérieur à 10,0 ± 2 % après sept jours.

Remarque : des méthodes de dosage alternatives peuvent être utilisées à la place de toutes les méthodes décrites, à la condition d'avoir fait l'objet d'une validation interne.

3. Bibliographie

1. Sarneckis, C. J., Dambergs, R. G., Jones, P., Mercurio, M., Herderich, M. J. et Smith, P. A., « Quantification of condensed tannins by precipitation with methyl cellulose: development and validation of an optimised tool for grape and wine analysis », Australian Journal of Grape Wine Research, 2006, vol. 12, p.39-49.

2. Vignault, A., González-Centeno, M. R., Pascual, O., Gombau, J., Jourdes, M., Moine, V., Iturmendi, N., Canals, J. M., Zamora, F. et Teissedre, P.-L., « Chemical characterization, antioxidant properties and oxygen consumption rate of 36 commercial oenological tannins in a model wine solution », Food Chemistry, 2018, vol. 268, p. 210-219.

3. Vignault, A., Pascual, O., Jourdes, M., Moine, V., Fermaud, M., Roudet, J., Canals, J. M., Teissedre, P.-L. et Zamora, F., « Impact of enological tannins on laccase activity », OENO One, 2019, vol. 53, p. 27-38.

4. Vignault, A., Pascual, O., Gombau, J., Jourdes, M., Moine, V., Canals, J. M., Teissedre, P.-L. et Zamora, F., « Recent advances of the OIV working group on oenological tannins in the study of the functionalities of oenological », BIO Web of Conferences, 2019, vol. 15, 02015.

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022

5. Vignault, A., Gombau, J., Pascual, O., Jourdes, M., Moine, V., Canals, J. M., Zamora, F. et Teissedre, P.-L., « Copigmentation of Malvidin-3-O-Monoglucoside by Oenological Tannins: Incidence on Wine Model Color in Function of Botanical Origin, pH and Ethanol Content », Molecules, 2019, vol. 24, p. 1-15.
6. Vignault, A., Gombau, J., Jourdes, M., Moine, V., Canals, J. M., Fermaud, M., Roudet, J., Zamora, F. et Teissedre, P.-L., « Oenological tannins to prevent Botrytis cinerea damage in grapes and musts: kinetics and electrophoresis characterization of laccase », Food Chemistry, 2020, vol. 316, 126334.
7. Vignault, A., « Tanins œnologiques : caractéristiques, propriétés et fonctionnalités. Impact sur la qualité des vins », Thèse de doctorat, Université de Bordeaux et Universitat Rovira i Virgili, 2019

Exemplaire certifié conforme Ensenada, 4 novembre 2022
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Pau ROCA

© OIV 2022