

RÉSOLUTION OENO 12/2002

TANINS OENOLOGIQUES

L'ASSEMBLEE GENERALE,

VU l'Article 5, alinéa 4 de la Convention internationale d'unification des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins du 13 octobre 1954,

SUR PROPOSITION de la Sous-Commission des méthodes d'analyse et d'appréciation des vins,

DECIDE de remplacer dans le Codex œnologique international, la monographie existante par la monographie suivante:

TANINS OENOLOGIQUES

N° SIN : 181

1. OBJET, ORIGINE ET DOMAINE D'APPLICATION

Les tanins oenologiques sont extraits soit de la noix de galle, soit d'un bois riche en tanin : châtaignier, chêne, bois exotiques, etc.... soit des pépins et de pellicules de raisins. Les tanins sont composés d'un mélange de glucosides soit de l'acide gallique (gallotanins), soit de sa dilactone, l'acide ellagique (ellagitanins), (tanins hydrolysables) ou bien d'un mélange de proanthocyanidines (tanins condensés).

Les tanins sont utilisés pour faciliter la clarification des moûts et des vins. Ils ne doivent pas modifier les propriétés olfactives et la couleur des vins.

2. ETIQUETAGE

La nature du solvant d'extraction (eau ou alcool), l'origine botanique ainsi que l'estimation des phénols totaux doivent figurer sur l'étiquette.

3. CARACTERES

Le tanin oenologique est d'une couleur allant du blanc jaunâtre au marron rougeâtre, de saveur astringente, partiellement soluble dans l'acétate d'éthyle et soluble dans l'eau, l'éthanol et le méthanol pour les tanins condensés et insoluble dans la plupart des solvants organiques à l'exception de l'éthanol et du méthanol pour les tanins

hydrolysables.

4. CARACTÈRES D'IDENTITÉ

4.1. La solution aqueuse de tanin donne, avec les sels de fer(III), un précipité bleu noir entre pH 3 et 5. Ce précipité disparaît par addition d'une petite quantité d'acide fort.

4.2. La solution aqueuse de tanin condensé précipite la gélatine, l'albumine du blanc d'oeuf, du sérum sanguin, etc. à pH compris entre 3 et 6. Les tanins précipitent les alcaloïdes (quinine, strychnine, etc.) entre pH 4 et 6.

5. CARACTERISATION

Il est possible de caractériser l'origine botanique à l'aide de plusieurs critères : spectre d'absorption en ultraviolet, teneur en flavanols, proanthocyanidines, acide digallique, scopolétine (voir l'annexe).

6. ESSAIS

6.1. Matières étrangères

Le tanin doit être presque entièrement soluble dans l'eau et la teneur en substances insolubles inférieure à 2 p. 100, après agitation pendant 15 minutes de 10 g de tanin dans un litre d'eau.

6.2. Perte à la dessiccation

Déterminée jusqu'à poids constant, sur une prise d'essai de 2 g, la perte de poids à l'étuve à 100- 105 °C, pendant 2 heures, doit être inférieure à 10 p. 100.

Toutes les limites fixées ci-dessous sont rapportées au produit sec.

6.3. Cendres

Incinérer progressivement, sans dépasser 550 °C, le résidu laissé dans la détermination de la perte à la dessiccation.

Le poids de cendres doit être inférieur à 4 p. 100

6.4. Préparation de la solution pour essais

Reprendre les cendres de 2 g de tanin par 1 ml d'acide chlorhydrique dilué (R) et une goutte d'acide nitrique concentré (R). Chauffer sur un bain d'eau à 100 °C quelques instants pour préciser la dissolution. Transvaser dans une fiole jaugée de 50 ml en

rinçant la capsule avec de l'eau distillée, et compléter au trait de jauge.

6.5. Arsenic

Sur 0,25 g de tanin, rechercher l'arsenic par la méthode décrite au Chapitre II par spectrophotométrie d'absorption atomique, après destruction de la matière organique par la méthode par voie humide.

La teneur en arsenic doit être inférieure à 3 mg/kg.

6.6. Fer

A 10 ml de solution pour les essais préparée selon 6.4, ajouter 2 ml de solution de thiocyanate de potassium à 5 p. 100 (R) et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (R). La coloration obtenue ne doit pas être plus intense que celle d'un témoin préparé avec 2 ml d'une solution de sel de fer(III) à 0,010 g de fer par litre (R), 8 ml d'eau et les mêmes volumes des mêmes réactifs.

La teneur en fer doit être inférieure à 50 mg/kg. Il est également possible de doser le fer par spectrométrie d'absorption atomique.

6.7. Plomb

Sur la solution pour les essais préparée selon 6.4 doser le plomb selon la méthode figurant dans le Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts par spectrophotométrie d'absorption atomique.

La teneur en plomb doit être inférieure à 5 mg/kg.

6.8. Mercure

Doser le mercure selon la méthode décrite au Chapitre II par spectrométrie d'absorption atomique.

La teneur en mercure doit être inférieure à 1 mg/kg.

6.9. Estimation des phénols totaux

Sur une solution aqueuse de tanins à 1 g/l diluée au 1/100ème, mesurer l'absorbance à 280 nm sur un parcours optique de 1 mm. La teneur en phénols totaux est donnée en équivalents acide gallique/g et transformée en p. 100 de poudre de tanin.

Pour les phénols totaux, les résultats doivent être supérieurs à 65 %.

6.10. Nature des tanins

6.10.1. Les tanins proanthocyanidiques sont estimés par la méthode aux DMACH :

mélanger 5 ml de réactif (100 mg de diméthylaminocinnamaldéhyde + 10 ml d'HCl 12 M; après solubilisation compléter avec du méthanol à 100 ml) à 1 ml de solution aqueuse de tanins (1g/l). Après 10 minutes, lire l'absorbance à 640 nm sur 1 mm de parcours optique. Les résultats sont donnés en équivalents catéchine.

Pour les tanins condensés, le résultat doit être supérieur à 10 mg/g.

6.10.2. Pour estimer les ellagitanins il faut utiliser la méthode à l'acide nitreux. Mélanger à 1 ml de solution aqueuse de tanins (1 g/l), 1 ml de méthanol et 160 µl d'acide acétique à 6 p. 100 (m/v), chasser l'oxygène par barbotage d'azote durant 10 minutes, ajouter enfin 160 µl de nitrite de sodium à 6 p. 100 (m/v) suivi d'un bref barbotage d'azote (1 mn), le tube est bouché hermétiquement et la réaction se développe en 60 mn dans un bain d'eau à 30°C. L'intensité de la couleur développée est mesurée par l'absorbance à 600 nm. Les résultats sont estimés en mg/g d'équivalents castalagine (ϵ_{600nm} : 983 g⁻¹).

Pour les tanins hydrolysables de type ellagique, le résultat doit être supérieur à 20 mg/g.

6.10.3. Les tanins hydrolysables de nature gallique correspondent aux autres catégories de produits répondant négativement aux tests 6.10.1 et 6.10.2.

6.11. Mode d'extraction

6.11.1. Indice de solubilité IS

Il exprime le pourcentage de solubilité de 5 g de tanin dans 100 ml du mélange éther diéthylique/éthanol (9/1, v/v).

Pour des tanins extraits à l'eau exclusivement, le résultat doit être inférieur à 5

6.11.2. Indice d'extractibilité IEx :

$$\bullet \text{ IEx} = (\text{D.O.}_{370 \text{ nm}} \times 2) - (\text{D.O.}_{350 \text{ nm}} + \text{D.O.}_{420 \text{ nm}}).$$

Lorsque IEx est supérieur à 0,05, les produits sont issus d'une extraction exclusivement à l'eau.

7. CONSERVATION

Les tanins oenologiques doivent être conservés dans des emballages hermétiquement clos.

Déclaration du Danemark :

« Lorsqu'il existent des différences dans des spécifications de pureté, des définitions

ou des méthodes d'analyse entre l'OIV et les autres organisations intergouvernementales compétentes, comme le Codex Alimentarius ou l'Union Européenne, le Danemark pense que tous les efforts possibles doivent être réalisés pour identifier les raisons de ces différences et pour les atténuer autant que possible, afin d'éviter l'existence de réglementations internationales différentes sur un même sujet. »

ANNEXE

MISE EN EVIDENCE DE L'ORIGINE BOTANIQUE DES TANINS OENOLOGIQUES

MATERIELS ET METHODES

Principe

La reconnaissance de l'origine botanique des tanins oenologiques nécessite des observations à réaliser dans l'ordre suivant :

1. Présence de tanins condensés tirés des raisins,
2. Présence de tanins issus de noix de galle,
3. Présence de tanins issus de bois exotiques,
4. Différenciation du tanin de chêne du tanin de châtaignier.

Les tanins de raisins se caractérisent par une forte teneur en flavanols exprimée en (+) catéchine.

Les tanins de noix de galle possèdent des teneurs en acide digallique importantes.

Le spectre dans l'ultraviolet des tanins issus de bois exotiques présente un pic spécifique.

Les tanins de chêne sont plus riches en coumarines et plus particulièrement en scopolétine que les tanins de châtaignier.

Appareillages et conditions analytiques

Verrerie de laboratoire.

Agitateur magnétique.

Spectrophotomètre d'absorption UV / visible double faisceau.

Cuve de 1 cm de parcours optique visible

Cuve de 1 cm de parcours optique en quartz,

Bain d'eau à 100°C (facultatif)

Evaporateur rotatif chauffant

Système chromatographique composé (à titre d'exemple):

- D'une pompe à gradient pour mélanges binaires
- D'un injecteur muni d'une boucle de 20 µl
- D'un détecteur spectrophotométrique à longueur d'onde fixe 280 nm
- D'un détecteur fluorimétrique

Colonne de type phase inverse (C18) diamètre des particules 5µm, dimensions de la colonne : 20 cm X 4.6 mm pour doser l'acide digallique et la scopolétine.

pH mètre.

Réactifs et solutions étalons

- Para-[diméthylamino]cinnamaldéhyde
- Acide chlorhydrique en solution concentrée (R)
- (+) catéchine
- Acide digallique
- Éthanol absolu
- Acétate d'éthyle
- Hydroxyde de sodium en solution concentrée (R)
- Méthanol
- Éther éthylique
- Acétonitrile
- Acide acétique
- Scopolétine
- Ombelliférone

- Eau distillée ou déminéralisée et ultrafiltrée.

Préparation des réactifs

Solution de p-[diméthylamino]cinnamaldéhyde (p-DACA)

100 mg de p-DACA sont mis en solution dans 10 ml d'acide chlorhydrique 12 M et 90 ml de méthanol.

Solvants d'élution de l'acide digallique

- Solvant A: méthanol pur
- Solvant B: solution d'acide perchlorique dans l'eau à pH 2,5

Solvants d'élution de la scopolétine

- Solvant A: eau distillée contenant 3 % d'acide acétique
- Solvant B: acétonitrile contenant 3 % d'acide acétique

Préparation des solutions étalons

Solution de (+) catéchine

Mettre en solution 10 mg de (+) catéchine dans 1 l d'eau distillée

Solution d'acide digallique à 100 mg / litre d'eau distillée

Solution de scopolétine à 20 µg / litre d'eau distillée.

Modes opératoires

Mise en évidence de la présence de tanins de raisins, 2 méthodes possibles:

Dosages des flavanols totaux.

5 ml de réactif à la p-DACA sont additionnés de 1 ml de solution aqueuse à 200mg / l de tanin.

Après 10 mn, l'absorption du mélange placé dans une cuve en verre dont le trajet optique est de 10 mm est mesurée à 640 nm.

Les valeurs de l'absorbance sont ensuite rapportées à une courbe étalon obtenue à partir d'une gamme de concentrations croissantes en (+) catéchine analysée dans les mêmes conditions.

Dosage des tanins proanthocyaniques, 4 ml de solution à 200 mg/l de tanin sont additionnés de 2 ml d'eau distillée et de 6 ml d'acide chlorhydrique 12 M dans un tube à hydrolyse. Ce tube est porté à 100 °C pendant 30 mn puis refroidi dans un bain d'eau

glacée.

Un second tube contenant le même mélange reste à température ambiante pendant le même temps.

Ensuite, les deux tubes reçoivent 1 ml d'éthanol puis les valeurs des deux absorbances sont mesurées à 550 nm.

La différence des 2 absorbances est multipliée par 380 pour donner la teneur en tanins proanthocyaniques.

Mise en évidence des tanins de noix de galle

20 ml de solution aqueuse de tanin à 50 mg/l sont amenés à pH 7 à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium concentrée (R).

Une première série d'extractions effectuées avec 3 fois 20 ml d'acétate d'éthyle permet d'éliminer les substances neutres.

Dans un second temps, la phase aqueuse est amenée à pH 2 par addition de solution concentrée d'acide chlorhydrique (R) puis extraite par une nouvelle série de 3 extractions à l'acétate d'éthyle.

Après évaporation de l'acétate d'éthyle, le résidu est repris par 20 ml de méthanol puis analysé par chromatographie dans les conditions suivantes (à titre d'exemple) :

Volume injecté: 20 µl d'extrait ou de solution standard d'acide digallique

Détection à 280 nm

Composition du gradient d'élution:

- De 10 à 20 % de solvant A en 35 mn
- De 20 à 40 % de solvant A en 15 mn
- De 40 à 98 % de solvant A en 20 mn

Débit de la phase mobile: 0,8 ml / mn.

Mise en évidence de tanins issus de bois exotiques

Préparer une solution aqueuse de tanin telle que, placée dans une cuve en quartz de 1 cm de parcours optique, cette solution possède une absorbance mesurée à 280 nm comprise entre 1 et 1,5.

Effectuer en continu sur cette solution des mesures d'absorbance comprises entre 250 et 300 nm.

Relever la présence ou l'absence d'un pic maximum d'absorption.

Mise en évidence de tanins de chêne ou de châtaignier.

La scopolétine contenue dans 20 ml de solution aqueuse de tanin à 5 g/l est extraite par 3 fois 20 ml d'éther éthylique.

Après récupération complète et évaporation de la phase étherée, l'extrait est repris par 50 ml d'eau puis analysé par chromatographie dans les conditions suivantes (à titre d'exemple):

- Volume injecté: 20 µl d'extrait ou de solution étalon de scopolétine.
- Détection fluorimétrique:
- Longueur d'onde d'excitation: 340 nm,
- Longueur d'onde d'émission: 425 nm

Composition du gradient d'élution:

- 94 % de solvant A pendant 10 mn
- De 94 à 85 % en 20 mn
- De 82 à 67 % en 5 mn
- De 37 à 42 % en 5 mn.

Débit de la phase mobile : 1 ml/mn

CONCLUSION

Un tanin est reconnu issu de raisin lorsque sa teneur en flavanols totaux, exprimée en (+) catéchine est supérieure à 50 mg/g ou sa teneur en tanins proanthocyaniques est supérieure à 0,5 mg/g.

Un tanin est reconnu issu de noix de galle lorsque sa teneur en acide digallique est comprise entre 4 et 8 mg/g.

Un tanin est reconnu issu de bois exotiques lorsque son spectre met en évidence un pic d'absorption entre 270 et 280 nm.

Un tanin est reconnu issu de chêne lorsque sa teneur en scopolétine est supérieure à 4 µg/g.

Un tanin est reconnu issu de châtaignier lorsque sa teneur en scopolétine est égale ou inférieure à 4 µg/g et qu'il n'est pas identifié comme issu d'autre origine.

ORIGINE BOTANIQUE CONCLUSION

