

Interprétation chimique de la couleur des vins rouges

par

P. RIBÉREAU-GAYON

Der Chemismus der Rotweinfärbung

Zusammenfassung. — Untersuchungen an Modellösungen ließen eine Beeinflussung der Rotweinfärbung sowohl durch Anthocyane als auch durch Tannine erkennen. Die Oxydation der Tannine, katalysiert durch Fe^{+++} -Ionen, ruft eine ziegelrote Färbung hervor, die in erster Linie die Farbe alter Rotweine bedingt. Unter den gleichen Bedingungen werden die Anthocyane nicht verändert; andererseits verschwinden diese Pigmente im Gemisch mit den Tanninen schnell. Somit besteht kein Zweifel am Vorhandensein einer Reaktion zwischen beiden phenolischen Verbindungen. Gleichermaßen kann man annehmen, daß die Anthocyane durch Reduktion zu instabilen Flavonen entfärbt und nur teilweise reoxidiert werden.

Es wird eine ausführliche Beschreibung aller chemischen Vorgänge gegeben, die in diesem Zusammenhang möglicherweise eine Rolle spielen. Die Anthocyane können durch bestimmte Reagentien reversibel entfärbt, aber auch irreversibel verändert werden. Kondensationsreaktionen der Flavanmoleküle verändern die Struktur, die Farbe und die organoleptischen Eigenschaften der Tannine; die Anthocyane können an solchen Kondensationen teilnehmen.

Introduction

On connaît l'importance en oenologie des composés phénoliques (anthocyanes et tanins en particulier), responsables des différences essentielles entre vins blancs et vins rouges. La complexité de ces substances a rendu difficile le progrès des connaissances dans ce chapitre de la chimie du vin. Bien que des résultats appréciables aient été acquis concernant l'identification des composés phénoliques présents (RIBÉREAU-GAYON 1959, 1964, 1968, 1972 a), de nombreux aspects de ce problème restent à éclaircir, par exemple l'interprétation précise de la couleur des vins blancs.

Dans le domaine de la couleur des vins rouges, des recherches, à la fois théoriques et pratiques, ont été effectuées à Bordeaux par nous-même et nos collaborateurs, STONESTREET (1965), MILHÉ (1969), et GLORIES (1971); elles ont montré le rôle des tanins, à côté des anthocyanes, plus particulièrement dans le cas des vins vieux et, plus récemment (RIBÉREAU-GAYON 1971), la nécessité de faire intervenir l'existence d'une forme colorée et d'une forme incolore des pigments, indépendantes du pH et de la présence d'acide sulfureux libre dont on connaît déjà l'influence sur la couleur des anthocyanes. Par conséquent, la considération des teneurs en anthocyanes et en tanins n'est pas suffisante pour interpréter l'intensité de la coloration.

Sur ce même sujet, des travaux originaux ont été effectués en Australie par SOMERS (1966, 1968, 1971) qui a réussi à isoler un véritable «pigment du vin» qui résulterait d'une association anthocyanes-tanins.

Compte tenu de la nécessité d'approfondir les connaissances dans ce domaine, nous décrivons dans la première partie de cet article des expériences, réalisées en solution modèle, ayant pour but de préciser le rôle respectif des anthocyanes et des tanins dans la couleur du vin rouge; également les transformations que ces substances sont susceptibles de subir en solution, avec modification de leur couleur, en fonction de la présence éventuelle d'oxygène et de Fe^{+++} .

Dans la deuxième partie, nous avons rassemblé et discuté les réactions chimiques dans lesquelles les anthocyanes et les tanins peuvent être impliqués et par conséquent susceptibles, d'une part d'interpréter les observations précédemment décrites, d'autre part d'intervenir au cours de la vinification et de la conservation en modifiant la couleur des vins.

Première Partie — Etude Expérimentale

I. Intervention des anthocyanes et des tanins dans la couleur des vins rouges

I.1. Conditions de l'expérience

Le but de cette expérience est de comparer le comportement de solutions modèles contenant, soit des anthocyanes seules, soit des tanins seuls, soit le mélange des deux.

On opère dans un milieu synthétique ayant une composition physicochimique voisine de celle du vin: 10^0 d'alcool, 5 g par litre d'acide tartrique, ajusté à pH 3 avec de la soude concentrée.

Dans ce même milieu on prépare:

1. Une solution à 10 g par litre de tanins, à partir d'un échantillon de leucoanthocyane peu polymérisée extrait de l'écorce de pin maritime, selon la technique du Professeur MASQUELIER. Ce produit est préparé par les laboratoires GUYNE (8 rue Dubessan, Bordeaux).

2. Une solution à 1 g par litre de diglucoside-3,5 malvidine (Fluka).

3. Une dilution contenant $1,1 \text{ cm}^3$ d'une solution concentrée à 26% de FeCl_3 dans 100 cm^3 , soit 1 g par litre de fer.

Tableau 1

Intervention des anthocyanes et des tanins dans la coloration des solutions modèles. Conditions de l'expérience

Beteiligung der Anthocyane und Tannine an der Färbung der Modellösungen. Versuchsbedingungen

	Solution synthétique (cm ³)	Solution de tanins (cm ³)	Solution d'anthocyanes (cm ³)	Solution de fer (cm ³)	Présence d'air
1 A f ⁺ o ⁺	10	0	10	0,1	+
2 T f ⁺ o ⁺	10	10	0	0,1	+
3 M f ⁺ o ⁺	0	10	10	0,1	+
4 A f ⁺ o ⁻	10	0	10	0,1	—
5 T f ⁺ o ⁻	10	10	0	0,1	—
6 M f ⁺ o ⁻	0	10	10	0,1	—
7 A f ⁻ o ⁺	10	0	10	0	+
8 T f ⁻ o ⁺	10	10	0	0	+
9 M f ⁻ o ⁺	0	10	10	0	+
10 A f ⁻ o ⁻	10	0	10	0	—
11 T f ⁻ o ⁻	10	10	0	0	—
12 M f ⁻ o ⁻	0	10	10	0	—

A = anthocyanes; T = tanins; M = anthocyanes + tanins.

f⁺ ou f⁻ = présence ou absence de Fe⁺⁺⁺;

o⁺ ou o⁻ = présence ou absence d'oxygène.

A partir des solutions précédentes, on réalise les conditions indiquées sur le Tableau 1, correspondant aux concentrations approximatives de ces corps dans le vin:

Tanins	5 g par litre
Anthocyanes	0,5 g par litre
Fer	5 mg par litre

Le tannin utilisé dans cette expérience n'est évidemment pas absolument identique aux tanins du raisin et du vin, en particulier il est peu condensé (dimère); néanmoins les connaissances actuelles sur les tanins condensés laissent supposer des propriétés et un comportement voisins. On peut craindre cependant que ces propriétés soient affectées au cours des opérations d'isolement et de purification et cette difficulté se rencontre chaque fois que l'on veut travailler en solution modèle, quelque soit le matériel à partir duquel le tannin est extrait.

D'autre part l'anthocyane est un diglucoside, ou plus exactement un mélange de mono et diglucosides, c'est-à-dire le mélange des pigments des raisins de cépages hybrides; il est peu probable que la présence d'une deuxième molécule de glucose modifie les propriétés de la molécule d'anthocyane.

L'absence d'air est obtenue en maintenant le milieu en expérience dans un tube à essai fermé par un mélange de paraffine et d'huile de vaseline placé au-dessus de la surface du liquide; la présence d'air correspond à des tubes à essai remplis à moitié et munis d'un bouchon en caoutchouc.

I.2. Méthodes analytiques

L'intensité et la teinte de la coloration sont définies à l'aide des indices de SUDRAUD (1958), à partir des absorbances sous un millimètre d'épaisseur, à 420 et 520 nm:

$$I = D_{420} + D_{520}; \quad T = \frac{D_{420}}{D_{520}}$$

Les anthocyanes sont dosées à l'aide de la méthode utilisant leur décoloration par le bisulfite de sodium (RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET 1965); les résultats sont confirmés à l'aide de la méthode utilisant la variation de la couleur en fonction du pH. Ces résultats sont exprimés à l'aide de la courbe étalon donnée par les auteurs précédents; elle ne correspond pas au produit utilisé dans cette expérience; par conséquent les chiffres possèdent exclusivement une valeur relative, qui est la plus importante puisqu'on veut effectuer des comparaisons.

L'indice de phénols totaux représente l'intensité de la coloration avec le réactif de FOLIN-CIOCALTEU (RIBÉREAU-GAYON 1970).

Les tanins sont dosés par la transformation des leucoanthocyanes en anthocyanes (RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET 1966). Un indice de condensation des tanins est donné par le rapport V/LA, dans lequel V représente l'intensité de la réaction de ces corps avec la vanilline et LA la transformation des leucoanthocyanes en anthocyanes (RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET 1966). En première approximation, ce rapport diminue quand la condensation des tanins augmente (HILLIS et SWAIN 1959).

I.3. Interprétation des résultats

Les résultats sont rassemblés sur le Tableau 2; ils correspondent à des déterminations analytiques effectuées deux mois après la mise en route de l'expérience.

Solution contenant des anthocyanes seules

Les tubes correspondants, A, possèdent des colorations roses-violettes très différentes de celles des vins rouges, même des vins jeunes. Les valeurs analytiques cor-

Tableau 2

Intervention des anthocyanes et des tanins dans la coloration des solutions modèles. Résultats analytiques

Beteiligung der Anthocyane und Tannine an der Färbung der Modellösungen. Analytische Befunde

Conditions	Couleur		Anthocya- nes (mg/l)	Indices de phé- nols totaux	Tanins (g/l)	Indice de condensa- tion des tanins (V/LA)
	Teinte	Intensité				
1 A f ⁺ o ⁺	0,44	0,15	350	5	0	
2 T f ⁺ o ⁺	1,92	0,50	25	55	4,4	2,5
3 M f ⁺ o ⁺	1,96	0,74	60	62	4,8	2,4
4 A f ⁺ o ⁻	0,32	0,15	375	6	0,2	
5 T f ⁺ o ⁻	1,94	0,21	20	65	5,1	3,2
6 M f ⁺ o ⁻	0,96	0,36	135	70	5,5	3,0
7 A f ⁻ o ⁺	0,31	0,15	355	6	0,2	
8 T f ⁻ o ⁺	2,03	0,29	20	60	4,5	3,4
9 M f ⁻ o ⁺	1,85	0,51	70	70	5,4	2,6
10 A f ⁻ o ⁻	0,27	0,15	375	6	0,2	
11 T f ⁻ o ⁻	1,95	0,19	10	62	5,2	3,1
12 M f ⁻ o ⁻	0,93	0,34	135	68	5,2	2,9

A = anthocyanes; T = tanins; M = anthocyanes + tanins.

f⁺ et f⁻ = présence et absence de Fe⁺⁺⁺;o⁺ et o⁻ = présence ou absence d'oxygène de l'air.

respondant à ces quatre tubes 1, 4, 7, 10, sont très voisines, traduisant une faible réactivité de ces corps en fonction des conditions propres de l'expérience.

Cependant la présence d'air entraîne dans tous les cas, c'est-à-dire avec ou sans fer, une légère diminution de la teneur en anthocyane; on comparera à ce sujet les tubes 1 et 4 d'une part, 7 et 10 d'autre part. Cette transformation n'affecte pas l'intensité colorante, mais diminue légèrement la teinte, ce qui traduit une augmentation de la couleur jaune par rapport à la couleur rouge. On peut donc envisager une légère oxydation des anthocyanes qui conduisent à des produits jaunes ou brun-jaunes, peut-être également la formation de xanthylum discutée dans la Deuxième Partie. La modification de la teinte étant plus importante en présence de fer, cet ion intervient dans cette transformation des anthocyanes, soit comme catalyseur d'oxydation, soit par formation de complexes (RIBÉREAU-GAYON 1968 et 1972 a).

La teneur maximum en anthocyanes (375 mg par litre), observée à l'abri de l'air (tubes 1 et 4), correspond vraisemblablement à la totalité des pigments ajoutés (500 mg par litre); la différence entre ces deux valeurs provient de la nature différente de l'échantillon mis en oeuvre dans cette expérience et de celui ayant servi à établir la courbe de référence utilisée pour le dosage. On remarque enfin que les solutions d'anthocyanes donnent une légère réponse avec la méthode utilisée pour le dosage des tanins, liée à des impuretés du produit utilisé.

Solution contenant des tanins seuls

A l'abri de l'air, les tubes T correspondants, 5 et 11, sont jaune-doré; cette couleur évolue vers le brun dans les tubes maintenus à l'air, particulièrement en pré-

sence de fer (tubes 2 et 8). La teneur en tanins totaux est plus faible à l'air qu'à l'abri de l'air bien que l'intensité colorante soit la plus élevée en présence d'oxygène; les différences sont les plus accusées en présence de fer.

Ces faits traduisent une oxydation des tanins, catalysée par la présence de fer, responsable de l'apparition de la coloration brune; elle est caractérisée par l'augmentation de l'intensité colorante et la diminution du taux de tanins.

L'aération entraîne une diminution sensible du rapport V/LA en présence de fer exclusivement; par conséquent l'oxydation provoque une condensation des tanins, résultat conforme à la théorie de la polymérisation des flavanes dans la structure des tanins condensés (RIBÉREAU-GAYON 1968, 1972 a).

On note enfin une certaine réaction des tanins avec le réactif servant au dosage des anthocyanes; on confirme ainsi l'artéfact déjà signalé dans ce dosage (RIBÉREAU-GAYON et STONESTREET 1965).

Solutions contenant un mélange d'anthocyanes et de tanins

Cette expérience apporte de nombreux faits nouveaux qui présentent un intérêt certain pour l'interprétation de la couleur des vins rouges.

Au moment de la mise en oeuvre de cet essai, les tubes M, contenant anthocyanes et tanins, possèdent tous une coloration rouge-pourpre rappelant celle des vins jeunes. Au cours du temps, cette coloration est peu modifiée dans les tubes 6 et 12 maintenus à l'abri de l'air, par contre elle évolue vers une teinte orangé-tuilée, rappelant celle des vins vieux, dans les tubes 3 et 9 qui sont aérés; cette transformation de la couleur par oxydation est accélérée en présence de Fe^{+++} .

Par comparaison avec la coloration rose-violette des échantillons contenant exclusivement des anthocyanes, on confirme le rôle primordial des tanins dans la couleur des vins rouges, jeunes et vieux, qui n'avait jamais été démontré d'une manière aussi caractéristique.

Ces observations sont confirmées par la considération des caractéristiques physiques de la couleur. L'intensité colorante est la plus élevée dans les milieux aérés, tout particulièrement en présence de fer; on comparera à cet effet les tubes 3 et 6 d'une part, 9 et 12 d'autre part. Cette augmentation porte essentiellement sur la couleur jaune, puisque la valeur de la teinte est beaucoup plus élevée en présence d'air; l'importance relative plus grande de la couleur jaune par rapport à la couleur rouge est responsable de l'apparition de la teinte tuilée caractéristique des échantillons conservés à l'air.

Sur le plan de la composition chimique, l'indice de phénols totaux représente approximativement la somme des indices des solutions contenant les anthocyanes seules d'une part, les tanins seuls d'autre part. En présence de fer exclusivement, l'aération conduit à un indice plus faible, traduisant une oxydation des tanins, phénomène déjà observé dans les tubes T, contenant les tanins seuls. La même différence, en fonction de la présence de Fe^{+++} , se retrouve dans les teneurs en tanins et dans l'évolution de leur indice de condensation. On peut donc conclure que l'évolution de ces corps est du même type, en solution pure ou en présence d'anthocyanes.

Un des points les plus caractéristiques concerne les teneurs en anthocyanes, toujours nettement plus faibles que dans les échantillons contenant ces pigments seuls; ces valeurs passent de 375 à 135 mg par litre à l'abri de l'air et de 350 à 60—70 mg par litre dans le cas d'une oxydation par l'oxygène de l'air. Ce fait constitue une démonstration de l'existence d'une réaction des anthocyanes avec les tanins qui avait été pressentie, en particulier par SOMERS (1971). On peut supposer qu'il s'agit d'une réaction de copolymérisation entre les molécules d'anthocyanes et les

molécules de flavanes constitutives des tanins condensés; les processus chimiques mis en jeu seront envisagés dans la deuxième partie de cet article.

L'importance prépondérante des tanins, par rapport aux anthocyanes, dans la coloration de ces milieux est confirmée par la considération des intensités colorantes, plus élevées dans les tubes 3 et 9 par rapport aux tubes 6 et 12, bien que ces derniers soient les plus riches en anthocyanes. Néanmoins les produits de transformations des anthocyanes interviennent dans cette coloration, tout au moins en présence d'oxygène; en effet l'intensité colorante du tube 3 ($M f^{+o+}$) est supérieure à la somme des intensités colorantes des tubes 1 ($A f^{+o+}$) et 2 ($T f^{+o+}$), bien que contenant beaucoup moins d'anthocyanes que le tube 1. Dans les deux séries à l'abri de l'air par contre, la somme des intensités colorantes des tubes A et T est égale à celle du tube M.

Les transformations observées dans cette expérience rappellent tout à fait celles qui accompagnent la conservation des vins. Les milieux maintenus à l'abri de l'air correspondent aux vins jeunes; l'aération provoque rapidement les transformations lentes du vieillissement, en particulier l'apparition de la teinte orangé-tuilée. Cependant, la rapidité des phénomènes laisse supposer qu'ils ne sont pas absolument identiques à ceux observés naturellement dans le vin; les mécanismes fondamentaux des transformations des anthocyanes et des tanins doivent rester néanmoins les mêmes.

II. Etude de la réaction chimique entre les anthocyanes et les tanins

II.1. Conditions de l'expérience et méthodes analytiques

L'expérience précédente montrait indiscutablement l'existence d'une réaction entre les anthocyanes et les tanins, ou tout au moins la forme de tanins peu condensés mis en oeuvre dans cet essai. Cette réaction a pour première conséquence de faire perdre aux anthocyanes leur couleur et leurs propriétés caractéristiques. Néanmoins, le complexe tanins-anthocyanes obtenu intervient dans la couleur; il possède une teinte orangé-tuilée qui rappelle celle des vins vieux. L'importance pratique pour l'oenologie de ce résultat justifiait une étude plus détaillée.

Dans une autre expérience, réalisée dans des conditions identiques à celles de la précédente, nous avons suivi les caractéristiques physiques et la composition chimique en fonction du temps, dans des milieux maintenus à l'air en présence de Fe^{+++} et contenant respectivement:

A: anthocyanes seules,

T: tanins seuls,

M: mélange d'anthocyanes et de tanins.

Ces trois solutions correspondent aux conditions $A f^{+o+}$, $T f^{+o+}$ et $M f^{+o+}$ du Tableau 2; par rapport à la première expérience, elles ont été préparées à partir d'une solution mère d'anthocyanes plus concentrée et d'une solution mère de tanins moins concentrée. Le volume initial était de 100,5 cm³ au lieu de 20,1, mais les mélanges ont été réalisés dans les mêmes proportions. Les solutions sont maintenues pendant deux mois dans des fioles de 200 cm³ bouchées, mais sans aucune protection vis-à-vis de l'oxygène de l'air contenu dans la fiole; des analyses sont effectuées régulièrement. Les méthodes analytiques mises en oeuvre sont celles précédemment signalées. Les caractéristiques spectrales sont définies par les absorbances, sous 1 mm, à 420 nm et à 520 nm et non par la somme (intensité) et le rapport (teinte) de ces valeurs.

Tableau 3
 Evolution, en fonction du temps, de différentes solutions modèles
 Veränderungen verschiedener Modellösungen in Abhängigkeit von der Zeit

Temps	Absorbance à 520 nm sous 1 mm			Absorbance à 420 nm sous 1 mm			Anthocyanes (g/l)			Indice de phénols totaux			Tanins (g/l)			Indice de condensation des tanins (V/LA)		
	A	T	M	A	T	M	A	T	M	A	T	M	A	T	M	A	T	M
0 jour	0.14	0.04	0.26	0.05	0.08	0.12	0.44	0.00	0.48	5	76	81	0,5	4.3	4.4	—	3.7	3.7
3 jours	0.08	0.04	0.18	0.04	0.09	0.11	0.44	0.00	0.44	—	—	—	0.3	4.1	4.4	—	3.4	3.7
7 jours	0.09	0.06	0.19	0.04	0.13	0.13	0.44	0.04	0.40	4	74	77	0.2	4.1	4.2	—	3.8	3.9
14 jours	0.09	0.10	0.20	0.03	0.17	0.19	0.43	0.01	0.29	4	72	71	0.0	4.5	4.5	—	3.3	3.6
23 jours	0.09	0.13	0.23	0.04	0.24	0.25	0.42	0.02	0.22	—	—	—	0.0	4.8	4.6	—	3.2	3.2
28 jours	0.10	0.14	0.24	0.04	0.26	0.28	0.42	0.01	0.18	4	74	69	0.0	4.1	4.1	—	3.3	3.5
35 jours	—	0.13	0.22	0.02	0.28	0.31	0.40	0.01	0.16	5	74	73	0.0	4.1	4.1	—	2.4	2.9
42 jours	0.10	0.18	0.24	0.04	0.33	0.33	0.40	0.01	0.13	—	—	—	0.0	3.9	4.2	—	2.7	2.8
56 jours	0.09	0.20	0.28	0.04	0.39	0.42	0.36	0.01	0.10	4	58	65	0.0	3.8	4.1	—	2.6	2.9

A = anthocyanes; T = tanins; M = anthocyanes + tanins.

II.2. Interprétation des résultats

Les résultats sont rassemblés dans le Tableau 3. L'évolution des tanins seuls (tube T) est identique à celle décrite dans la première expérience. On observe une légère diminution de leur taux, accompagnée d'une augmentation de la polymérisation (diminution du rapport V/LA); ces transformations oxydatives provoquent un brunissement de la couleur qui se traduit par une augmentation simultanée des absorbances à 420 et 520 nm, correspondant à une invariance de la teinte observée sur le Tableau 2 en présence ou en absence d'oxygène (comparer T f⁺o⁺ et T f⁺o⁻ d'une part, T f⁻o⁺ et T f⁻o⁻ d'autre part).

Mais les faits les plus significatifs concernent l'évolution des anthocyanes. Lorsque ces pigments sont en solutions pures (A), leur taux diminue régulièrement mais d'une façon très lente; en mélange avec les tanins (M) par contre, la diminution est beaucoup plus rapide et beaucoup plus importante.

Dans ces tubes M, l'absorbance à 520 nm varie peu parce que la diminution due à la disparition des anthocyanes est compensée par l'augmentation provoquée par la transformation des tanins; ce dernier phénomène est responsable de l'augmentation de l'absorbance à 420 nm et par conséquent de l'augmentation de la teinte en présence d'air observée sur le Tableau 2 (comparer M f⁺o⁻ et M f⁺o⁺ d'une part, M f⁻o⁻ et M f⁻o⁺ d'autre part).

A l'issue d'une cinquantaine de jours, les absorbances à 420 et 520 nm du tube M correspondent à peu près aux sommes de ces absorbances dans les tubes A et T, bien que la teneur en anthocyanes soit plus faible en M par rapport à A. Les spectres de ces trois milieux au quarante-cinquième jour sont représentés sur la Fig. 1; celui de M représente approximativement la somme de ceux de A et T.

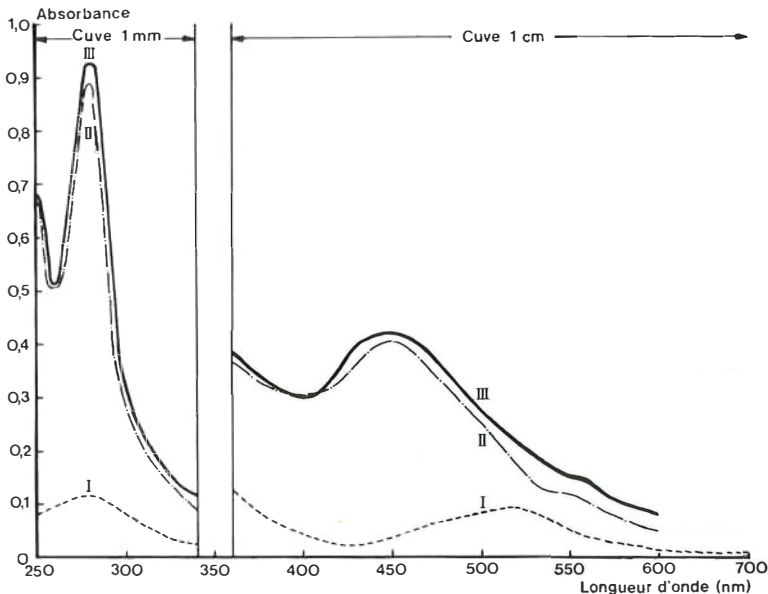


Fig. 1: Spectres d'absorption de différentes solutions modèles conservées à l'air: I. anthocyanes, II. tanins, III. anthocyanes + tanins.
Absorptionspektren verschiedener Modellösungen bei Luftzutritt: I. Anthocyanen, II. Tannine, III. Anthocyanen + Tannine.

On confirme donc que, même après réaction avec les tanins et perte de leurs propriétés caractéristiques, les molécules d'anthocyanes participent à la coloration des solutions; cependant les tanins jouent alors le rôle le plus important dans cette coloration.

III. Influence de l'état physico-chimique des pigments sur la couleur des vins

Les expériences précédentes ont mis en évidence le rôle respectif des anthocyanes et des tanins dans la couleur des vins vieux, mais aussi dans celle des vins jeunes. D'autre part il est prouvé la possibilité de réaction l'un sur l'autre de ces deux types de pigments.

Nous voulons montrer dans ce paragraphe que la couleur des vins rouges ne dépend pas exclusivement de la teneur en anthocyanes et en tanins et que l'état physico-chimique de ces pigments influe également. Bien entendu on sait que l'évolution de la coloration au cours du vieillissement comporte des modifications de la structure des pigments et nous avons vu dans les paragraphes précédents comment l'oxydation accroît la couleur brune des tanins. Il s'agit en l'occurrence de montrer que des vins de type voisin, en particulier d'âge identique, sont susceptibles d'avoir des couleurs qui ne peuvent pas être interprétées uniquement par la considération des teneurs en anthocyanes et en tanins.

Parmi les observations que nous avons faites sur ce sujet, nous citons les analyses rassemblées sur le Tableau 4. Il s'agit de vins d'une cave du Médoc dont on considérera plus particulièrement le millésime 1969. Dans les mois qui suivent la vinification, la cave effectue des assemblages, de manière à constituer des lots homogènes, correspondant à des qualités et à des types différents; les lots sont ensuite répartis dans des cuves de 300 hectolitres. Mais, la cave conserve dans un chai particulier quelques barriques des différents lots qui sont destinées à faciliter la dégustation et l'échantillonnage. Sur les vins des millésimes 1969 et 1970, nous avons analysé, huit mois après la récolte, un même lot conservé en fûts et en cuves.

Tableau 4

Analyse des vins, provenant d'une même cave du Médoc, des millésimes 1969 et 1970, conservés en cuves en ciment ou en fûts de bois (analyses faites huit mois après la récolte)

Analysenergebnisse von Weinen aus einem Keller im Médoc, Jahrgänge 1969 und 1970, die in Zementbehältern oder Holzfässern gelagert waren. (Die Analysen wurden acht Monate nach der Ernte vorgenommen.)

	Teinte	Intensité colorante	Anthocyanes (g/l)	Tanins (g/l)
Récolte 1969				
cuve 1	0,72	0,41	0,18	3,0
cuve 2	0,73	0,40	0,18	3,2
cuve 3	0,70	0,39	0,18	3,2
barrique	0,70	0,50	0,16	3,1
Récolte 1970				
cuve 1	0,65	0,75	0,35	3,8
cuve 2	0,66	0,76	0,36	3,8
cuve 3	0,66	0,81	0,36	3,9
barrique 1	0,64	0,81	0,34	3,9
barrique 2	0,66	0,83	0,34	3,6

Les quatre échantillons de la récolte 1969 possèdent des teneurs en tanins du même ordre, mais la teneur en anthocyanes est sensiblement plus faible dans le vin en fûts; cependant l'intensité colorante de ce dernier est sensiblement plus élevée. Cette observation ne peut pas être expliquée par une intervention des tanins; d'une part leurs taux sont du même ordre, d'autre part une modification de structure entraînerait une augmentation de la couleur jaune, donc de la teinte, dont la valeur est en réalité la plus faible dans le vin en barriques. Par conséquent, l'intensité colorante plus élevée du vin conservé en barriques, ne peut être interprétée que par une structure différente des molécules d'anthocyanes. Plus particulièrement les anthocyanes seraient réduites sous forme de flavènes incolores (voir deuxième partie) pendant la fermentation; la réoxydation, et donc la recoloration, se ferait plus rapidement en fûts de bois qu'en cuves de grande capacité, grâce à une meilleure pénétration d'oxygène. Mais aussi cette oxydation s'accompagnerait d'une destruction des molécules d'anthocyanes; dans le cas cité, l'influence de la réoxydation étant plus grande que celle de la destruction, l'intensité de la couleur du vin conservé en barriques est la plus élevée malgré une plus faible teneur en anthocyanes.

Le même phénomène, bien qu'un peu moins significatif, s'observe également sur les vins du millésime 1970. On remarque surtout les différences caractéristiques entre les vins des deux millésimes; si les teneurs en tanins n'accusent pas de variations importantes, les anthocyanes varient du simple au double. Les composés phénoliques sont les constituants du raisin les plus affectés par les conditions climatologiques de l'année, beaucoup plus que ne le sont le taux de sucre ou l'acidité par exemple (RIBÉREAU-GAYON 1972 b).

Deuxième Partie — Interprétation Théorique

IV. Les mécanismes de transformation des anthocyanes

Deux types de réactions sont susceptibles de modifier la structure des anthocyanes et par conséquent leur intervention dans la couleur des solutions; d'une part la formation de dérivés incolores correspondant à des transformations physico-chimiques réversibles qui diminuent la couleur des solutions sans affecter la teneur totale en anthocyanes, d'autre part des réactions qui conduisent à la destruction irréversible des molécules d'anthocyanes.

Les réactions du premier type, les mieux connues, sont schématisées sur la Fig. 2 et décrites dans ce paragraphe; les réactions du second type seront envisagées dans le prochain paragraphe.

IV.1. Influence du pH

Il existe d'abord, en milieu acide, un équilibre bien connu entre la forme flavylium rouge (1) et un dérivé incolore (2) connu sous le nom de pseudobase; la position de l'équilibre dépend du pH et, déjà à pH 3, la proportion de forme incolore est importante. Dans une expérience en milieu synthétique (RIBÉREAU-GAYON 1959), la coloration d'une solution d'anthocyanes est de 36 en milieu très acide, 6 à pH 2,9 et 1 à pH 3,9. On explique ainsi l'augmentation de l'intensité colorante des vins rouges par acidification, également la diminution de l'intensité après la fermentation malolactique qui diminue l'acidité. Les aglycones d'une part, les hétérosides qui possèdent toujours une molécule de sucre en position 3 d'autre part, se comportent différemment. Après décoloration par diminution de l'acidité, dans le second cas exclusivement on régénère intégralement la coloration initiale par acidification: pour expliquer ce fait, on peut envisager la formation irréversible, possible dans

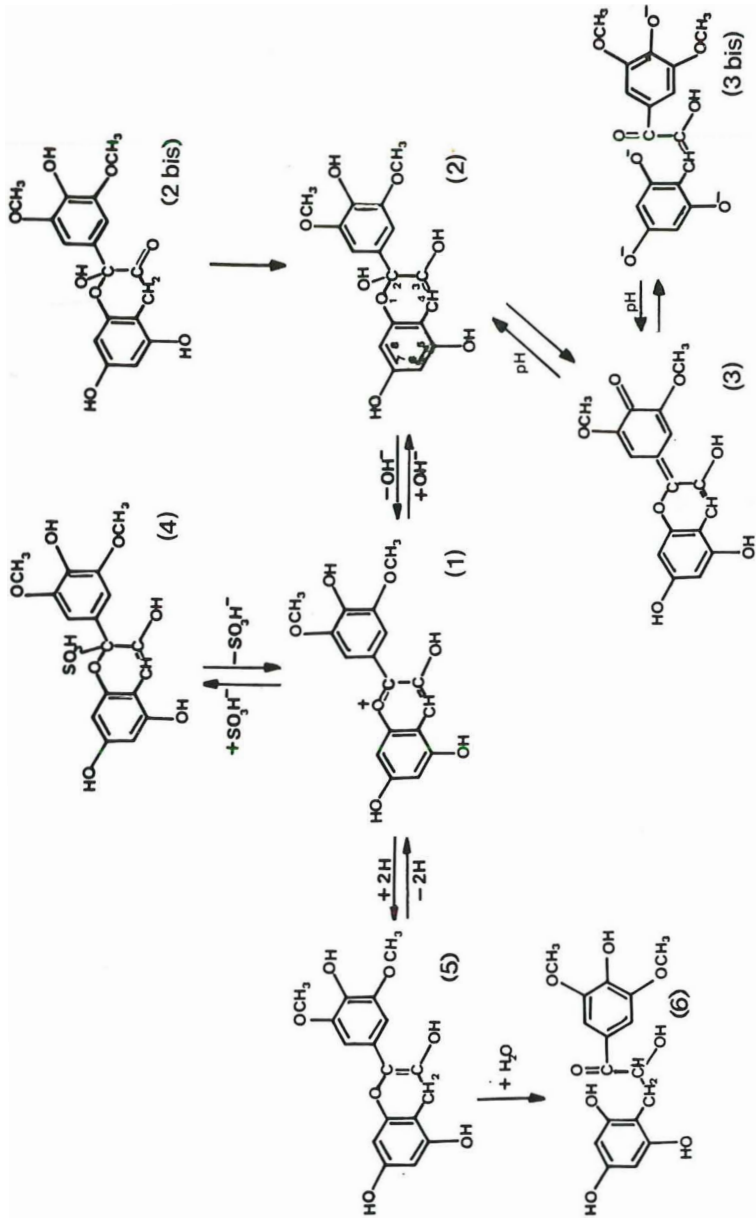


Fig. 2: Les différents états de la molécule d'anthocyane. Formule (1): malvidine (flavylium); formule (2): pseudobase (forme énol); formule (2 bis): pseudobase (forme cétone); formule (3): base anhydre; formule (3 bis): base anhydre (forme chalcone); formule (4): combinaison bisulfitique; formule (5): flavène-2; formule (6): dihydrochalcone.

Die verschiedenen Zustände des Anthocyanmoleküls. Formel (1): Malvidin; Formel (2): Pseudobase (Enolform); Formel (2 bis): Pseudobase (Ketoform); Formel (3): Anhydridform; Formel (3 bis): Chalkonform; Formel (4): Bisulfit-Verbindung; Formel (5): Flaven-2; Formel (6): Dihydrochalkon.

le cas des aglycones exclusivement, d'une forme cétone (2 bis) peu stable. On expliquerait ainsi l'instabilité des aglycones anthocyaniques et la nécessité de la glucosidification en 3 des pigments naturels.

Au voisinage de la neutralité, il apparaît une forme bleue (3) correspondant à une base anhydre à structure quinone; il est d'ailleurs possible que cette forme apparaisse pour des pH inférieurs à la neutralité et qu'elle soit alors masquée par la forme rouge; d'après SOMERS (1971) elle interviendrait à partir de pH 3,5, par conséquent dans la zone de pH du vin. Dans ce cas également la réaction est réversible; mais en milieu alcalin, les phénols, plus particulièrement les ortho-diphénols, sont facilement oxydables. La coloration, qui apparaît au cours de l'addition de soude nécessaire à la détermination de l'acidité totale du vin rouge, est bleue dans le cas des vins jeunes riches en anthocyanes, mais elle possède une dominante verte dans les vins plus vieux pour lesquels les tanins jouent un rôle important dans la coloration.

En milieu fortement alcalin, les fonctions phénols sont neutralisées et ionisées. Enfin, dans ces conditions, la base anhydride se transforme spontanément en chalcones (3 bis) correspondant à l'ouverture de l'hétérocycle. Cette transformation est d'autant plus rapide que le pH est élevé; dans ce cas encore la réaction est réversible, dans la mesure où il n'y a pas destruction par oxydation.

IV.2. Influence de l'anhydride sulfureux

La décoloration des anthocyanes, donc du vin rouge, par l'anhydride sulfureux est un phénomène bien connu des praticiens. Il est lié à la formation d'une combinaison incolore (4); d'après JORD (1964), le réactif qui intervient est l'ion SO_3H^- , dont la concentration est d'autant plus grande que le pH est élevé. Néanmoins, entre pH 2,8 et 3,8, la fraction d'acide sulfureux sous forme de bisulfite varie approximativement entre 90 et 99% de l'acide sulfureux libre du vin; par conséquent, dans le cas du vin, l'acidité ne doit pas avoir une influence prépondérante sur l'effet décolorant de l'acide sulfureux. Il n'en est pas de même lorsque le pH varie de 1 à 3.

A titre d'exemple, BARBET et IRRMANN (1972) indiquent, dans le cas d'un vin nouveau du Beaujolais, des intensités colorantes de 536, 470 et 432 avec respectivement 8, 18 et 28 mg par litre de SO_2 libre. La réaction est réversible, c'est-à-dire que la disparition, au cours de la conservation, du SO_2 libre, s'accompagne d'un déplacement de l'équilibre vers la forme (1), donc d'une augmentation de la couleur. L'existence de cette combinaison intervient dans les difficultés de la détermination du SO_2 libre dans les vins rouges; on peut aussi ajouter qu'elle met en cause la définition même de la notion d'acide sulfureux libre.

On sait d'autre part que les vins vieux sont moins sensibles à l'effet décolorant de l'acide sulfureux parce que ce ne sont pas les anthocyanes qui jouent le rôle primordial dans la couleur, mais les tanins qui ne réagissent pas avec l'acide sulfureux. SOMERS (1971) envisage la formation, au cours du vieillissement, d'une combinaison anthocyanes-tanins dans laquelle la molécule d'anthocyane, toujours sous sa forme flavylium normale, ne réagirait plus avec l'anhydride sulfureux, parce qu'elle serait substituée en position 4. Le mécanisme de cette combinaison est envisagé ultérieurement dans cet article.

IV.3. Influence du fer

Les anthocyanes possédant deux OH en ortho donnent des complexes colorés en bleu ou en vert avec l'ion Fe^{+++} ; la malvidine (Fig. 2) n'entre pas dans cette caté-

gorie. Cette propriété est commune à tous les composés phénoliques ortho-dihydroxylés dont les tanins représentent, dans le vin, la fraction la plus importante.

Cette formation de complexes entre le fer et tous les polyphénols est responsable de la casse ferrique des vins rouges, mais les anthocyanes ne jouent pas un rôle prépondérant dans ce phénomène.

Nous avons vu en outre, dans l'expérience décrite au début de cet article, que le fer intervient également sur la couleur comme catalyseur d'oxydation; mais, dans ce cas également, la réaction est la plus importante avec les tanins.

IV.4. Influence des phénomènes d'oxydoréduction

La possibilité de réduction de la molécule d'anthocyanane de structure flavylum rouge (1) a été souvent signalée; ce phénomène s'accompagne d'une décoloration de la substance. RIBÉREAU-GAYON et GARDRAT (1956) ont montré que les hétérosides anthocyaniques sont de véritables systèmes oxydoréducteurs réversibles. Les expériences en solutions modèles précédemment décrites montrent que cette propriété intervient vraisemblablement dans le vin. Au cours de la vinification, la fermentation, phénomène réducteur, entraîne une décoloration des anthocyanes qui reprennent, tout au moins partiellement, leur coloration à l'issue des aérations qui ac-

Aucune tentative n'a été faite pour expliquer la transformation chimique caractéristique de la réduction et la forme incolore qui en résulte. Par analogie avec un mécanisme classique en biochimie, notamment pour la réduction de nucléotides de la nicotinamide (NAD), nous proposons, à titre d'hypothèse, la formation par ré-

compagnent la conservation, à l'occasion des soutirages en particulier. réduction d'une flavène-2 (5). JURD (1967) a étudié les propriétés de certains de ces corps et montré qu'ils se comportent différemment selon les conditions de milieu; en solution aqueuse ils sont hydrolysés irréversiblement en dihydrochalcones (6) et en milieu non aqueux ils sont oxydables en sels de flavylum (anthocyanes). On ne dispose d'aucun résultat concernant le comportement des anthocyanes du raisin; mais on pourrait expliquer ainsi, dans le cas du vin, que les anthocyanes réduites pendant la fermentation ne sont que partiellement régénérables par réoxydation au cours de la conservation, une fraction passant irréversiblement sous forme de dihydrochalcone.

Dans une autre publication (1968), JURD a réduit des sels de flavylum synthétiques, non hydroxylés en 3, en dimères formés par deux molécules de flavènes reliées par leur carbone 4.

V. Les mécanismes de destruction des anthocyanes

Indépendamment des réactions précédentes et des réactions de condensation, décrites dans un prochain paragraphe, les anthocyanes peuvent être engagées dans des mécanismes qui conduisent à une destruction de la molécule.

La destruction chimique des anthocyanes des produits naturels, au cours de leur conservation ou par chauffage, est connue depuis longtemps et a surtout été étudiée dans le cas du jus de fraises (LUKTON *et al.* 1956). L'intervention des peroxydes, plus particulièrement de l'eau oxygénée, est mise en évidence par l'accélération de cette réaction, en milieu aérobie, par l'acide ascorbique en présence d'ion Cu^{++} (SONDHEIMER et KERTESZ, 1953) et probablement également d'ion Fe^{+++} ; on sait que l'oxydation catalytique de l'acide ascorbique par l'oxygène de l'air est justement susceptible de produire de tels peroxydes.

Les mécanismes intervenant dans cette réaction ont été beaucoup moins étudiés. A titre d'hypothèse, on peut envisager la formation de dérivés du type de la mal-

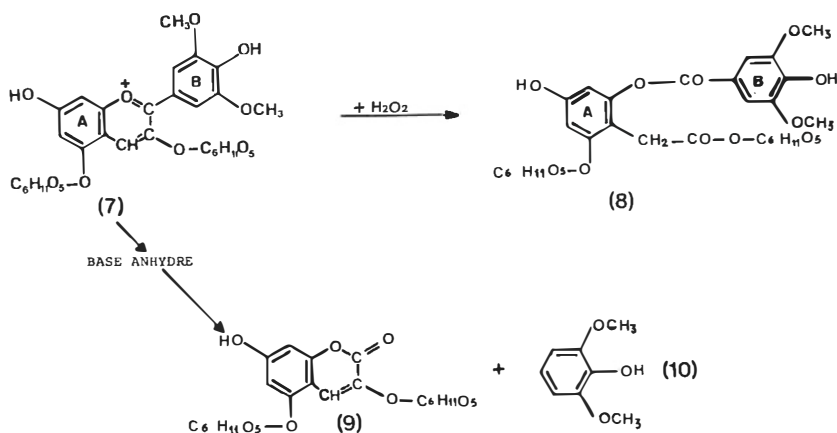


Fig. 3: Mécanismes de l'oxydation de la malvine. Formule (7): malvine; formule (8): malvone; formule (9): coumarine.

Mechanismen der Malvin-Oxydation. Formel (7): Malvin; Formel (8): Malvon; Formel (9): Cumarin.

vone [Fig. 3, formule (8)], obtenue par KARRER et DE MEURON (1932) par oxydation de la malvine (7), en présence d'eau oxygénée; la libération d'acide syringique à partir du cycle B de la malvine peut être envisagée. Les différents anthocyanes se comportent de façon particulière; les aglycones sont particulièrement sensibles et les faibles quantités d' H_2O_2 formées, en milieu aqueux au contact de rayonnement lumineux, suffisent à provoquer leur disparition.

LUKTON *et al.* (1956) ont constaté la destruction des anthocyanes du jus de raisin par chauffage, à 45° C pendant plusieurs jours, de solutions tampons de pH différents, à l'air ou à l'abri de l'air; le phénomène n'est donc pas exclusivement oxydatif. Ces auteurs ont mis en évidence la formation d'un précipité brun-rouge, sans doute liée au phénomène de condensation entre les molécules d'anthocyanes, avec ou sans intervention des tanins, que nous envisagerons dans un paragraphe ultérieur.

HRAZDINA (1971) a montré la formation d'une coumarine (9) et du phénol diméthoxylé (10), en solutions aqueuses de malvine, de pH compris entre 3 et 7. Cette réaction est totalement différente des précédentes car elle ne fait pas intervenir des phénomènes oxydatifs ou de condensation. Elle est liée à la formation de la base anhydre (3) qui se décompose simultanément en chalcone (3 bis) et en coumarine. L'intervention de cette réaction dans le vin est hypothétique, car elle se produit d'autant mieux que le pH est élevé; à pH 7 il faut 4 jours à température ordinaire et 2 heures à 90° C.

Enfin, la possibilité de destruction enzymatique des anthocyanes est connue depuis les travaux de HUANG (1955) qui a mis le premier en évidence l'existence d'anthocyanases chez certaines moisissures. Ces enzymes ont été identifiées par la suite dans plusieurs tissus de végétaux supérieurs; SEGAL et SEGAL (1969) ont extrait du raisin une préparation de polyphénol-oxydase qui détruit les anthocyanes de la baie. En outre, *Botrytis cinerea*, secrète une oxydase qui détruit les anthocyanes et est responsable de la casse oxydasique des vins rouges de vendanges pourries.

Plusieurs mécanismes d'action enzymatique semblent possibles; HUANG envisage un phénomène non oxydatif comprenant l'hydrolyse de l'hétéroside, suivie de la destruction de l'aglycone instable, par l'intermédiaire d'une dihydrochalcone (6).

Pour SAKAMURA *et al.* (1965), l'anthocyanase de l'aubergine agirait par oxydation et s'apparenterait aux polyphénols-oxydases; dans ce cas, l'acide ascorbique protège de l'oxydation et par conséquent empêche la décoloration des anthocyanes. Il semble donc qu'il n'y ait pas une démarcation bien nette entre anthocyanases et polyphénols-oxydases.

VI. Les mécanismes de condensation des tanins

Les tanins du raisin et du vin sont des tanins condensés, résultant de la polymérisation de plusieurs molécules de flavanes. Au cours de la conservation et du vieillissement, des modifications de l'état de condensation influent sur la couleur des tanins en solutions et aussi sur leurs caractères organoleptiques. Cet état de condensation peut être apprécié par la détermination de la masse moléculaire moyenne des tanins qui varie entre 500 à 700 pour les vins jeunes et 2000 à 3000 pour les vins vieux.

Les mécanismes chimiques correspondant à cette polymérisation doivent entrer en ligne de compte dans l'interprétation de la couleur des vins rouges. Parmi les hypothèses formulées, le principe du mécanisme le plus vraisemblable est schématisé par la Fig. 4. On sait qu'un alcool benzylique (10) donne facilement, en milieu

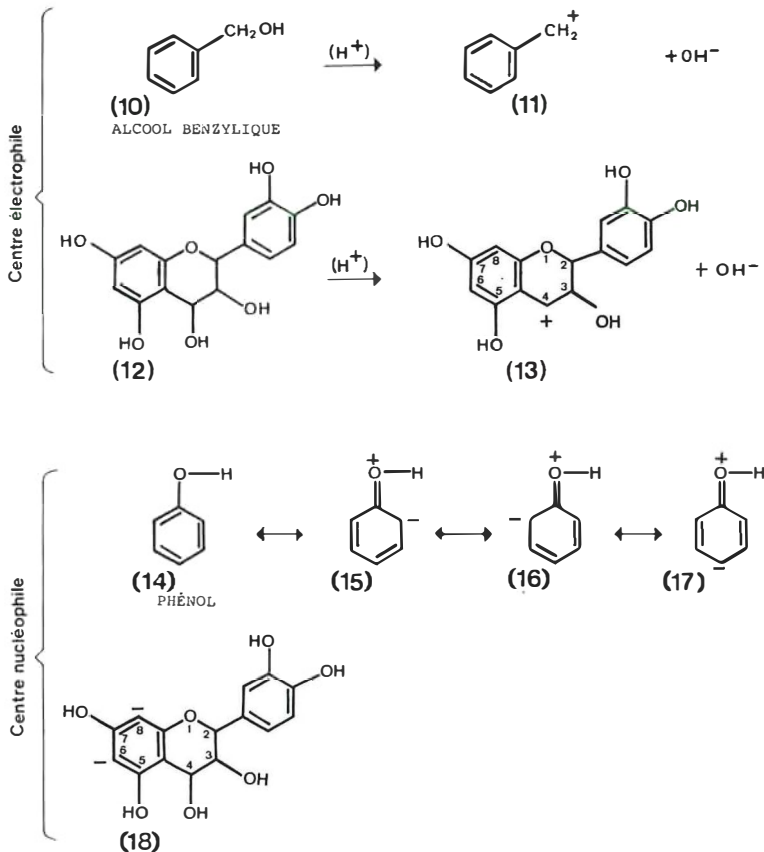


Fig. 4: Mécanisme de la réaction de condensation des molécules de flavanes.
Mechanismus der Kondensation der Flavanmoleküle.

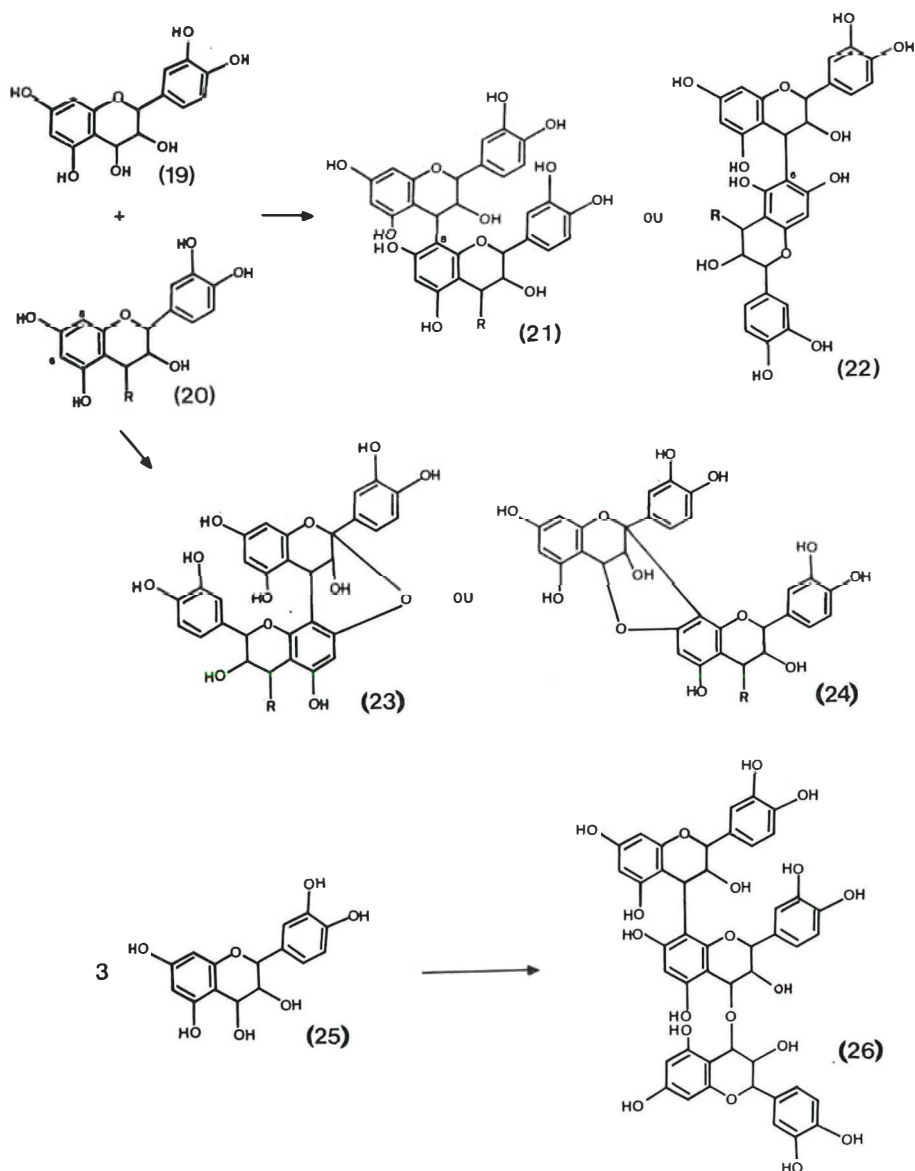


Fig. 5: Condensation des molécules élémentaires de flavanes: Formation de proanthocyanidines (2 ou 3 molécules élémentaires) ou de flavanolanes (3 à 10 molécules élémentaires); les flavanolanes sont les constituants des tanins condensés. [Formule (19): leucoanthocyanidine]. [Formule (20): a: R = OH, leucoanthocyanidine; b: R = H, catéchine]. [Formules (21) et (22): a: R = OH, la condensation se poursuit, on obtient un flavanolane à 3, 4, . . . molécules élémentaires; b: R = H, la condensation s'arrête au stade du dimère (proanthocyanidine)]. [Formules (23) et (24): R = H, la condensation s'arrête au stade du dimère (proanthocyanidine)]. [Formule (25): leucoanthocyanidine]. [Formule (26): condensation de (21a) avec une troisième molécule de leucoanthocyanidine. La condensation s'arrête au stade du trimère (proanthocyanidine)].

Kondensation der Grundmoleküle von Flavanen: Bildung von Proanthocyanidinen (2 oder 3 Grundmoleküle) oder Flavanolanen (3 bis 10 Grundmoleküle); die Flavanolane sind

acide, un réactif électrophile [Fig. 4, formule (11)]; une molécule de leucoanthocyane (12) possède une telle fonction en position 4, par conséquent est susceptible de donner le réactif (13). Par ailleurs on sait que la fonction phénol possède une structure mésomère faisant intervenir les formules limites (14, 15, 16, 17) qui montrent l'existence de centres nucléophiles (chargés négativement) en ortho et para de la fonction phénol; des centres analogues se retrouvent sur les sommets 6 et 8 d'une molécule de leucocyanidine (18). On conçoit donc la possibilité d'établissement d'une liaison covalente entre le carbone 4 de la formule (13) et les carbones 6 ou 8 de la formule (18); cette liaison correspond à l'élimination d'une molécule d'eau.

JURD (1969) a décrit les réactions les plus vraisemblables (Fig. 5) basées sur ce principe. Une molécule de leucocyanidine (19) réagit avec une autre molécule de flavane (20) pour donner des dimères (21) ou (22). Si la deuxième molécule de flavane est également la leucocyanidine ($R = OH$), le dimère possède à nouveau un OH alcool benzylique et la condensation peut se poursuivre. Par contre si cette deuxième molécule est la catéchine ($R = H$), la condensation ne peut pas dépasser le stade du dimère qui constitue une proanthocyanidine dont l'existence dans les tissus végétaux a été souvent signalée. Des structures (23) et (24) sont également admises pour un tel dimère (WEINGES *et al.*, 1969 a). En outre BHATIA *et al.* (1968) ont identifié dans les pépins de raisins blancs une proanthocyanidine (26) constituée de trois molécules de leucocyanidine (25).

Il faut remarquer enfin que WEINGES *et al.* (1969 a et 1969 b) ont émis l'hypothèse de la formation des dimères des types (21) ou (22), (23) ou (24), directement à partir des catéchines, sans intervention des flavanediols-3,4 (leucoanthocyanidines) qui effectivement n'ont jamais été caractérisées directement dans les fruits en général, dans le raisin et dans le vin en particulier; seuls les dimères (proanthocyanidines) ont été identifiés avec certitude, par la formation de catéchines et d'anthocyanidines au cours de l'hydrolyse acide. D'après ces auteurs, la formation de dimères résulterait de l'oxydation enzymatique de deux molécules de catéchines [Fig. 5, formule (20 b)]; le mécanisme de la réaction hétérolytique décrit sur la figure 3 n'interviendrait pas. L'apparition des anthocyanes, par chauffage en milieu acide du dimère et par extension de toutes les flavolanes constitutives des tanins, proviendrait de la formation, dans de telles conditions, de flavanediols-3,4 qui néanmoins n'interviendraient pas dans la synthèse de ces structures. Il faut remarquer cependant que la théorie de WEINGES *et al.* est basée essentiellement sur le fait que les flavanediols-3,4, susceptibles d'intervenir dans les dimères, n'ont jamais été identifiées dans la nature, sous forme de monomères. Cet argument n'est peut-être pas suffisant; en effet ces corps, lorsqu'ils ont été synthétisés au laboratoire (MICHAUD et MASQUELIER 1968), ont montré une grande instabilité et une grande aptitude à la condensation et il pourrait en être de même dans la plante.

Une autre possibilité de condensation des molécules de flavanes, faisant intervenir des processus oxydatifs, est envisagée par HATHWAY et SEAKINS (1957). Ces au-

die Bausteine der kondensierten Tannine. [Formel (19): Leukoanthocyanidin]. [Formel (20): a: $R = OH$, Leukoanthocyanidin; b: $R = H$, Catechin]. [Formeln (21) und (22): a: $R = OH$, die Kondensierung setzt sich fort und ergibt ein Flavolan mit 3, 4, ... Grundmolekülen; b: $R = H$, die Kondensierung hört mit der Bildung des Dimers (Proanthocyanidin) auf]. [Formeln (23) und (24): $R = H$, die Kondensierung hört mit der Bildung des Dimers (Proanthocyanidin) auf]. [Formel (25): Leukoanthocyanidin]. [Formel (26): Kondensierung von (21 a) mit einem dritten Molekül Leukoanthocyanidin. Die Kondensierung hört mit der Bildung des Trimers (Proanthocyanidin) auf].

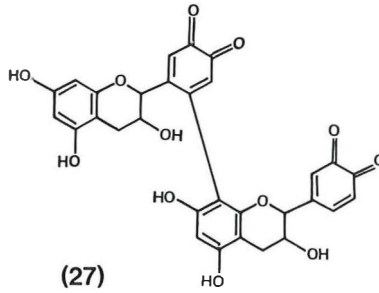


Fig. 6: Condensation oxydative des flavonols-3.
Oxydative Kondensation von Flavonol-3.

teurs ont montré en effet que l'oxydation de la catéchine par l'oxygène de l'air ou par la polyphénol-oxydase conduit à un polymère à structure quinoïde, comportant l'établissement d'une liaison entre les carbones 6' d'une molécule et 6 ou 8 de l'autre [Fig. 6, formule (27)]. Ces polymères possèdent une coloration jaune-brun d'autant plus intense que la condensation est plus importante. Même si cette réaction n'intervenait pas dans la constitution des tanins naturels du raisin, son intervention au cours de la conservation du vin rouge semble tout à fait possible; elle pourrait en outre expliquer le brunissement de la couleur des vins blancs.

Cette réaction doit rendre compte du rôle du Fe^{+++} , agissant comme catalyseur d'oxydation, mentionné dans l'expérience effectuée en solution modèle et relatée au début de cet article. En outre le fer peut agir sur les tanins par formation de complexes avec les ortho-diphénols. Ces deux phénomènes interviennent probablement, peut être simultanément, dans la casse ferrique des vins rouges. En outre tous les mécanismes de la condensation des tanins sont à la base de la précipitation des matières colorantes constatée au cours du vieillissement.

La formation de xanthylum est une autre transformation possible des flavanes et de leurs produits de condensation. JURD et SOMERS (1970) ont montré que le chauffage en milieu acide du produit synthétique [(28), Fig. 7], obtenu par condensation, selon le mécanisme de la Fig. 4, d'une molécule de leucocyanidine avec une molé-

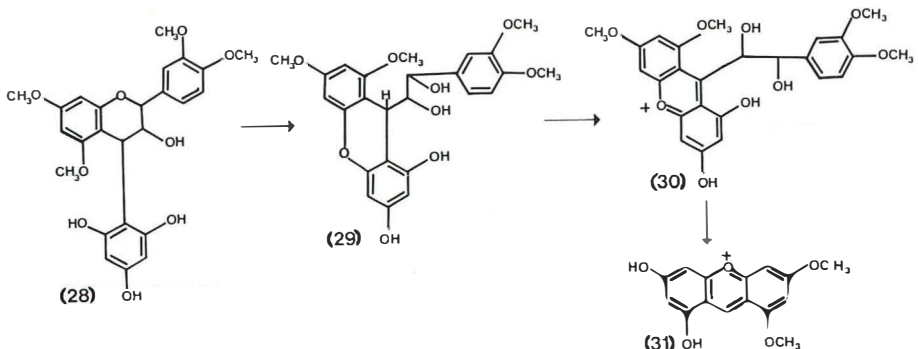


Fig. 7: Formation de xanthylum par condensation du phloroglucinol sur les flavanediols-3,4. Formule (31): dihydroxy-1,3 diméthoxy-6,8 xanthylum.

Bildung von Xanthylum durch Kondensation von Phloroglucinol an Flavandioli-3,4. Formel (31): Dihydroxi-1,3 dimethoxy-6,8 xanthylum.

cule de phloroglucinol, conduit à un pigment jaune, le dihydroxy-1,3 diméthoxy-6,8 xanthylum (31); (29) et (30) sont des intermédiaires possibles dans cette transformation. Si on chauffe dans l'acide acétique dilué, il y a formation exclusive de xanthylum; en milieu acide minéral il y a simultanément formation de xanthylum d'une part et de cyanidine, selon la réaction classique des leucoanthocyanes, d'autre part. Bien entendu la même réaction doit pouvoir se produire à partir des flavolanes résultant de la condensation des leucoanthocyanes, qui contiennent elles-mêmes un noyau phloroglucinol.

Nous verrons ultérieurement que cette même réaction peut également faire intervenir les anthocyanes à la place des flavanediols-3,4, donc des tanins.

VII. Les mécanismes de condensation faisant intervenir les anthocyanes

Il est tout à fait vraisemblable d'envisager une copolymérisation des anthocyanes et des flavanes intervenant dans la structure des flavolanes constitutives des tanins condensés. La possibilité d'une telle condensation, entre les dérivés à structure flavylum et le noyau phloroglucinol, a été étudiée par JURD et WAISS (1965); également des travaux importants ont été faits sur ce sujet par SOMERS (1971) qui a apporté des arguments en faveur de l'existence d'une telle combinaison dans le vin. L'expérience relatée au début de cet article, consistant à étudier la variation de la coloration dans des solutions modèles d'anthocyanes, de tanins et du mélange des deux, a montré, de façon indiscutable, l'existence de cette réaction, puisque les anthocyanes sont plus stables à l'état pur qu'en mélange avec les tanins. Ces combinaisons sont en outre responsables des traînées que l'on observe sur la ligne de départ des chromatogrammes obtenus à partir de la matière colorante des vins rouges.

Le mécanisme d'une telle condensation peut s'expliquer par les réactions de la Fig. 8 inspirée des travaux de JURD (1967). L'hétérocycle central des anthocyanes est électrophile et sa charge positive peut être localisée, soit sur l'oxygène (32) donnant un ion oxonium, soit sur le carbone 4 (33) donnant un ion carbonium; une liaison peut donc être formée entre ce carbone 4 et les positions 6 ou 8 d'une molécule de flavane (34), conformément au mécanisme de la Fig. 4; on obtient le dimère (35) dans lequel l'anthocyane est sous forme flavène, oxydable en flavylum pour donner le produit final (36) qui est en équilibre, en fonction du pH, avec une base anhydre (37) rappelant la base des anthocyanes (Fig. 2, formule 3); si $R = OH$ la polymérisation peut se poursuivre pour conduire à une flavolane constitutive des tanins condensés.

Il reste cependant à préciser l'intervention éventuelle de cette condensation des anthocyanes avec les tanins sur la couleur des vins rouges. D'après SOMERS (1971) ce phénomène conduirait à un véritable «pigment du vin», ayant la structure (36) dans laquelle la fraction anthocyane est responsable de la couleur; ce pigment pourrait être séparé des anthocyanes proprement dites par extraction de ces substances par l'acool isoamylique. D'autre part, par rapport aux anthocyanes, la couleur de ce pigment serait stabilisée, vis à vis des variations de pH et du sulfitage en particulier, par la substitution sur le carbone 4 (SOMERS 1971). Cependant, les solutions modèles que nous avons étudiées dans la première partie de cet article, montrent, en présence des anthocyanes, une modification limitée de la couleur apparaissant au cours de la condensation oxydative des tanins. D'autre part, nous pouvons citer une observation faite à l'Institut du vin de Porto dont les laboratoires conservent des échantillons de vins de Porto d'âges différents. On constate, au cours du vieillissement, une évolution des couleurs qui prennent, à l'issue de plusieurs dizai-

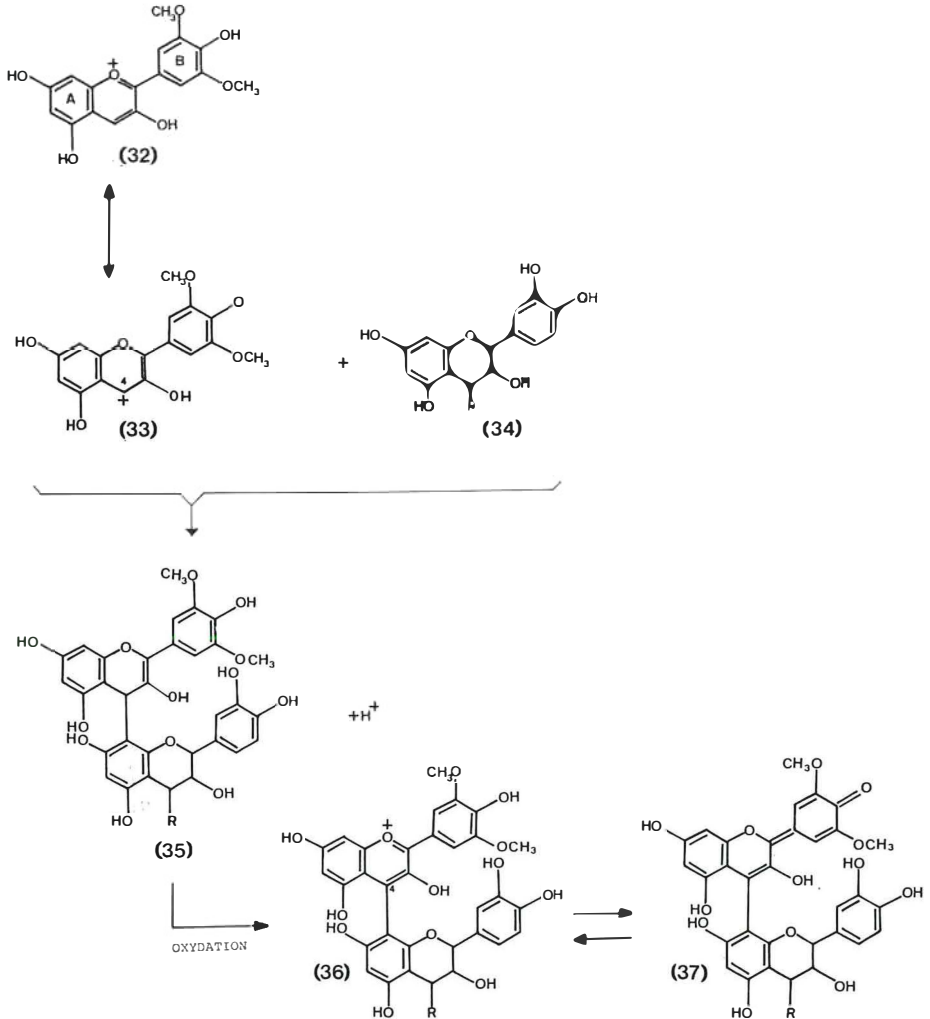


Fig. 8: Condensation des anthocyanes avec les flavanes. Le dimère obtenu (36) est coloré en rouge, mais la position 4 de l'anthocyanane étant substituée, il ne réagit pas avec les bisulfites et sa couleur ne varie pas avec le pH.

Kondensation der Anthocyanen mit Flavanen. Das entstandene Dimer (36) ist rot gefärbt; bei Substitution des Anthocyanins in Stellung 4 reagiert es jedoch nicht mit Bisulfit, und seine Farbe wird durch das pH nicht beeinflusst.

nes d'années, une teinte orangée-brune très voisine, sinon identique, dans les vins blancs et dans les vins rouges.

Un autre phénomène, différent mais faisant également intervenir la condensation des anthocyanes, peut être envisagé, toujours en s'inspirant des travaux de JURD (1967); il s'agit (Fig. 9) d'une condensation d'une molécule d'anthocyanane sous forme oxonium (38) et d'une autre sous forme de pseudo-base (40). Comme précédem-

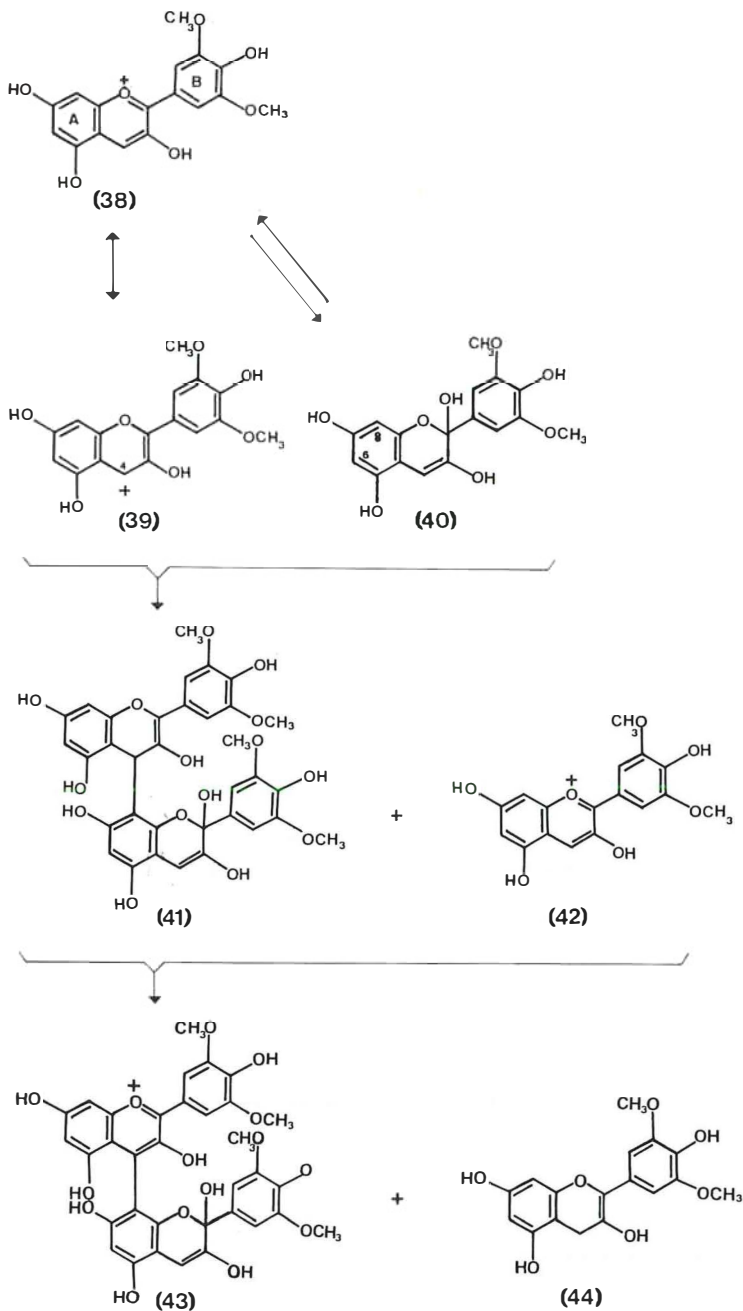


Fig. 9: Copolymérisation des anthocyanes. La réaction s'accompagne d'une diminution de la couleur; en effet elle fait intervenir deux molécules de flavylium rouge et il n' y en a plus qu'une seule à la fin.

Mehrfach-Kondensation der Anthocyane. Die Reaktion ist mit einer Abschwächung der Farbe verbunden; daran sind zwei Moleküle des roten Flavylium beteiligt, von denen nach der Reaktion nur noch eines erhalten ist.

ment la charge positive de l'anthocyane peut être localisée sur l'oxygène (38) ou sur le carbone 4 (39). Ce carbone 4 peut établir une liaison avec les sommets 6 ou 8 d'une molécule d'anthocyane sous forme de pseudo-base (40) conformément aux mécanismes décrits sur la Fig. 4. La liaison entre deux molécules d'anthocyanes sous forme oxonium [Fig. 9, formule (38)] ne peut pas se faire, parce que les charges négatives des sommets 6 ou 8 sont dans ce cas neutralisées par la charge positive de l'hétérocycle. La réaction de (39) et (40) donne le dimère (41) dans lequel une molécule d'anthocyane est sous forme flavène facilement oxydable, en particulier par une autre molécule d'anthocyane (42). Le dimère (43) obtenu possède alors une structure oxonium et une teinte rouge, mais il n'est pas décolorable par l'acide sulfureux parce que son sommet 4 est substitué. La molécule de flavène-2 (44) est facilement oxydable en dihydrochalcone (Fig. 2) qui peut elle-même réagir avec une autre molécule d'anthocyane à la place de la pseudo-base (40) et permettre à la réaction de se poursuivre en chaîne. Cette réaction qui reste hypothétique s'accompagnerait d'une diminution de l'intensité colorante, puisqu'une molécule d'anthocyane sur deux seulement est colorée, mais aussi d'une stabilisation de la couleur.

La dernière transformation des anthocyanes, faisant intervenir une condensation, est la formation de dérivés à structure xanthylum, selon le mécanisme précédemment décrit [formules (28) à (31), Fig. 7] mais, dans lequel une molécule de flavane serait remplacée par une molécule d'anthocyane, sous forme d'ion carbonium en 4 (39), réagissant avec le noyau phloroglucinol d'une autre molécule de flavane, engagée elle-même dans la structure des tanins. HRAZDINA et BORZELL (1971) ont identifié un glucoside du tétrahydroxy-1,3,6,8 xanthylum [(45), Fig. 10] dans un jus de raisin

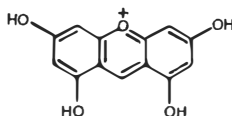


Fig. 10: Tétrahydroxy-1,3,6,8 xanthylum.

rouge Seibel 9549 conservé deux ans à 4° C; la glucosidification semble indiquer l'intervention des anthocyanes dans cette formation. Les dérivés du type xanthylum sont des pigments jaunes bien caractérisés ($\lambda_{\text{max}} = 440 \text{ nm}$ dans HCl aqueux à 1%); leur intervention dans le vin rouge paraît possible. Sur des chromatogrammes effectués il y a plusieurs années, nous avons observés un spot jaune à l'emplacement signalé par HRAZDINA et BORZELL.

Résumé et Conclusions

Dans la première partie de ce mémoire, l'intervention spécifique des anthocyanes et des tanins sur la couleur des vins rouges est étudiée en solutions modèles:

1. Les anthocyanes seules ne possèdent pas une couleur identique à celle des vins rouges que l'on trouve dans les mélanges d'anthocyanes et de tanins.

2. En présence d'air, les tanins subissent une transformation de nature oxydative, accélérée par la présence d'ions Fe^{+++} , qui conduit à une coloration brun-orangé-tuilé qui rappelle la couleur des vins vieux.

3. Dans les mêmes conditions, les anthocyanes en solution pure sont peu modifiées. Par contre ces pigments, en mélange avec les tanins, disparaissent rapidement et la coloration est alors peu différente de celle des solutions de tanins. On démontre donc d'une manière indiscutable l'existence d'une réaction entre ces deux types de pigments.

4. On peut admettre que ces transformations reproduisent approximativement les modifications lentes de la couleur au cours de la conservation et du vieillissement. On confirme ainsi le rôle prépondérant des tanins, par rapport aux anthocyanes, dans la couleur des vins vieux.

5. Certains faits laissent supposer que les anthocyanes peuvent être réduites sous forme de flavènes incolores dont la réoxydation n'est que partielle. Cette réaction interviendrait au cours de la vinification, phénomène réducteur, et influe sur la couleur du vin.

Dans la deuxième partie on a cherché à décrire les mécanismes chimiques susceptibles d'interpréter les faits précédemment signalés; certains sont bien démontrés, d'autres sont des hypothèses de travail sur lesquelles sont basées les recherches actuellement en cours dans ce domaine important de l'oenologie des vins rouges:

1. Les anthocyanes sont décolorées par diminution de l'acidité, addition de bisulfite ou réduction; dans certaines conditions ces phénomènes sont réversibles.

2. Indépendamment de son intervention comme catalyseur d'oxydation, l'ion Fe^{++} donne des complexes colorés en bleu-vert avec les anthocyanes et surtout avec les tanins dont la concentration dans les vins rouges est beaucoup plus importante; ce phénomène est responsable de la casse ferrique des vins rouges.

3. Plusieurs transformations, chimiques ou enzymatiques, oxydatives ou non, provoquent une destruction irréversible des anthocyanes.

4. Différentes réactions de condensation des molécules de flavanes conduisent aux proanthocyanidines (dimères ou trimères) et aux flavolanes (oligomères) constituants des tanins condensés. Ces transformations influent sur la coloration des tanins, donc du vin, et sont responsables de la couleur brun-tuilé des vins vieux; elles interviennent aussi dans le développement des caractères organoleptiques propres au vieillissement et la précipitation de la matière colorante des vins rouges.

5. La disparition des anthocyanes en présence de tanins peut s'interpréter par une réaction de condensation qui fait perdre à la molécule d'anthocyane ses propriétés, sans destruction de cette molécule. On peut envisager également la formation d'un pigment jaune du type xanthylum.

Bibliographie

- BARBET, J. et IRRMAN, R., 1972: Le traitement précoce des nouveaux vins spécialement des Beaujolais Primeurs. 3ème Symp. Internatl. d'Oenol., Le Cap, Afrique du Sud 21, 10 p.
- BHATIA, V. K., MADHAV, R. et SESHADRI, T. R., 1968: A note on the proanthocyanidins of white grapes. *Curr. Sci. (Inde)* 37, 582—583.
- GLORIES, Y., 1971: Essais de détermination de l'état de condensation des tanins des vins rouges. Thèse doctorat 3ème cycle, Bordeaux, 75 p.
- HATHWAY, D. E. et SEAKINS, J. W. T., 1957: Enzymic Oxydation of catechin to a polymer structurally related to some phlobatannins. *Biochem. J.* 67, 239—245.
- HILLIS, W. E. et SWAIN, T., 1959: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. — II. The analysis of tissues of the Victoria plum tree. *J. Sci. Food Agricult.* 10, 135—144.
- HRAZDINA, G., 1971: Reactions of the anthocyanidin-3,5-diglucosides: Formation of 3,5-Di-(O- β -D-Glucosyl)-7-hydroxy coumarin. *Phytochem.* 10, 1125—1130.
- — et BORZELLI, A. J., 1971: Xanthylum derivatives in grape extracts. *Phytochemistry* 10, 2211—2213.
- HUANG, N. J., 1955: Decolorization of anthocyanins by fungal enzymes. *J. Agricult. Food Chem.* 3, 141—146.
- JURD, L., 1964: Reactions involved in sulfite bleaching of anthocyanins. *J. Food Sci.* 29, 16—19.
- — , 1967: Anthocyanidins and related compounds. XI. Catechin flavylum salt condensation reactions. *Tetrahedron Letters* 23, 1057—1064.
- — , 1968: Reductive dimerization of flavylum salts by metals. *Tetrahedron Letters* 24, 2801.

- 1969: Review of polyphenol condensation reactions and their possible occurrence in the aging of wines. *Amer. J. Enol. Viticult.* **20**, 191—195.
- — et SOMERS, T. C., 1970: The formation of xanthylium salts from proanthocyanidins. *Phytochemistry* **9**, 419—427.
- — et WAISS, A. C., 1965: Anthocyanins and related compounds. — Flavylium salt. Phloroglucinol condensation products. *Tetrahedron Letters* **21**, 1471.
- KARRER, P. et DE MEURON, G., 1932: Pflanzenfarbstoffe. — XL. Zur Kenntnis des oxydativen Abbaus der Anthocyane. Konstitution des Malvons. *Helv. Chim. Acta* **15**, 507—512.
- LUKTON, A., CHICHESTER, C. O. et MACKINNEY, G., 1956: The breakdown of strawberry anthocyanin pigment. *Food Technol.* **10**, 425—432.
- MICHAUD, J. et MASQUELIER, J., 1968: Synthèse du leucocyanidol monomère. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **50**, 1346—1348.
- MILHÉ, J. C., 1969: Recherches technologiques sur les composés phénoliques des vins rouges. Thèse doctorat 3ème cycle, Bordeaux, 78 p.
- RIBÉREAU-GAYON, J. et GARDRAT, J., 1956: Titration potentiométrique des anthocyanes du raisin. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. (Paris)* **243**, 788—790.
- RIBÉREAU-GAYON, P., 1959: Recherches sur les anthocyanes des végétaux. Application au genre *Vitis*. *Libr. Gen. Enseignement, Paris*, 106 p.
- 1964: Les composés phénoliques du raisin et du vin. INRA, Paris, 80 p.
- — , 1968: Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.
- — , 1970: Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chimie Anal.* **52**, 627—631.
- — , 1971: Recherches technologiques sur les composés phénoliques des vins rouges. — III. Influence du mode de logement sur les caractères chimiques. *Conn. Vigne Vin* **5**, 87—97.
- — , 1972 a: Plant phenolics. Oliver and Boyd, Edinbourg, 254 p.
- — , 1972 b: Evolution des composés phénoliques au cours de la maturation du raisin. — II. Discussion des résultats obtenus en 1969, 1970 et 1971. *Conn. Vigne Vin* **6**, 161—175.
- — et GLORIES, Y., 1971: Détermination de l'état de condensation des tanins du vin rouge. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. (Paris)* **273 D**, 2369—2371.
- — et STONESTREET, E., 1965: Le dosage des anthocyanes. *Bull. Soc. Chim.* **9**, 2649—2652.
- — et — — , 1966: Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie Anal.* **48**, 188—196.
- SAKAMURA, S., WATANABE, S. et OBATA, Y., 1965: Anthocyanase and anthocyanin occurring in Eggplant (*Solanum melangena* L.). — III. Oxidative decolorization of the anthocyanin. *Agric. Biol. Chem.* **29**, 181—190.
- SEGAL, B. C. et SEGAL, R. M., 1969: Dégradation enzymatique des anthocyanes des raisins. *Rev. Ferment. Ind. Aliment. (Brüssel)* **1**, 22—24.
- SINGLETON, V. L. et ESAU, P.,: Phenolic substances in grapes and wine and their significance. *Acad. Press, New York*, 282 p.
- SOMERS, T. C., 1966: Wine Tanins: Isolation of condensed flavonoid pigments by gel filtration. *Nature* **209**, 368—370.
- — , 1968: Pigment profiles of grapes and of wines. *Vitis* **7**, 303—320.
- — , 1971: The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry* **10**, 2175—2186.
- SONDHEIMER, E. et KERTESZ, Z. I., 1952: Kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. *Food Res.* **17**, 288—298.
- — et — — , 1953: Participation of ascorbic acid in the destruction of anthocyanin in strawberry juice and model systems. *Food Res.* **18**, 475—479.
- SUDRAUD, P., 1958: Interprétation des courbes d'absorption des vins rouges. *Ann. Technol. Agric.* **7**, 203—208.
- STONESTREET, E., 1965: Contribution à l'étude des tanins et de la matière colorante des vins rouges. Thèse doctorat 3ème cycle, Bordeaux, 77 p.
- WEINGES, K., GORISSEN, H. et LONTIE, R., 1969: Les procyanidines dimères naturelles. *Ann. Physiol. Vég.* **11**, 67—82.
- — , WILD, R. et KALTENHÄUSER, W., 1969: Über Struktur, Entstehung und Bedeutung der Polyphenole in Früchten und Fruchtsäften. *Z. Lebensm.-Untersuch. u. -Forsch.* **140**, 129—134.

Eingegangen am 3. 10. 1972

Prof. Dr. P. RIBÉREAU-GAYON
 Univ. de Bordeaux II
 Inst. d'Oenologie
 351 Cours de la Libération
 Talence 33405
 France