

Quantification des ellagitanins dans le bois de chêne et les eaux-de-vie de cognac

Article prenant sa source de l'article de recherche "Validation of a Mass Spectrometry Method to Identify and Quantify Ellagitanins in Oak Wood and Cognac during Aging in Oak Barrels." (Food Chem., 2020)¹.

>>> Les ellagitanins sont les principaux composés phénoliques extractibles du bois de chêne. Ces composés sont responsables de la durabilité élevée du bois et peuvent contribuer à la qualité organoleptique des vins et spiritueux (couleur, astringence et amertume). Malgré leur importance, leur présence et leurs formes dans les spiritueux ne sont pas bien connues. Ainsi, le but de cette étude était de développer et valider une méthodologie pour quantifier les ellagitanins dans le bois de chêne et dans les eaux-de-vie de Cognac. <<<

En raison de leurs propriétés, les fûts de chêne font depuis longtemps partie intégrante de la production de vins et spiritueux. Ils offrent une bonne isolation thermique, une imperméabilité remarquable et contribuent principalement à la qualité organoleptique des vins et spiritueux. Lors du vieillissement en fûts de chêne, la composition des vins et spiritueux change en raison de la libération de composés du bois qui affectent ses propriétés organoleptiques, telles que les arômes et la couleur, ainsi que les sensations et le goût, telles que l'astringence et l'amertume². Parmi ces composés, les ellagitanins (tanins hydrolysables) sont responsables de la grande durabilité du bois³, ils présentent une activité antioxydante⁴ et ils ont un impact sur l'amertume et sur la sensation d'astringence⁵. Jusqu'à présent, huit ellagitanins ont été identifiés (figure 1). Ces composés ont été largement étudiés dans les vins rouges⁶, mais très rarement dans les spiritueux, notamment les eaux-de-vie de Cognac. En raison de leur réactivité élevée et de leurs similitudes structurales, il est difficile de détecter et de quantifier les ellagitanins dans les spiritueux. L'objectif de notre étude était donc d'identifier et de quantifier ces composés dans le bois de chêne et les spiritueux, en utilisant une méthode rapide et ensuite de la valider.

■ Méthode de quantification des ellagitanins

Le défi de ce travail était de développer une méthode simple et reproductible pour quantifier les ellagitanins individuels dans le bois de chêne et l'eau-de-vie avec une sélectivité élevée. La combinaison chromatographie liquide haute performance-triple quadrupôle LC-QQQ semble être une technique puissante pour les composés phénoliques¹.

Pour caractériser les ellagitanins dans les bois de chêne et les eaux-de-vie de Cognac, une méthode de spectrométrie de masse a été mise en place.

L'analyse du bois de chêne a été réalisée sur des échantillons de merrains conservés à l'extérieur pendant 36 mois. Pour l'analyse des eaux-de-vie du Cognac, 20 échantillons d'eaux-de-vie ayant vieilli 6 mois en fûts de chêne ont été utilisés.

Toutes les concentrations ont été exprimées en équivalent vescalagine. La quantification des ellagitanins individuels a été réalisée en mode négatif et ces derniers ont été identifiés à partir des masses suivantes: les (-)-vescalagine et (-)-castalagine, monomères et isomères avec un

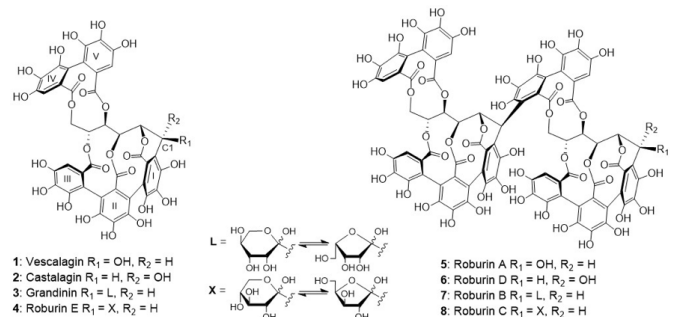


Figure 1. Structures chimiques des ellagitanins 1-8. L et X correspondent respectivement au Lyxose et au Xylose (adapté de Gadrat *et al.*)¹.

rapport m/z identique de 933,0634 (C₄₁H₂₅O₂₆); les (-)-grandinine et (-)-roburine E, monomères glycosylés de structures similaires et d'un rapport m/z identique de 1065,1057 (C₄₆H₃₃O₃₀); de même, les roburines A et D, deux dimères avec un rapport m/z identique de 1849,1241 (C₈₂H₄₉O₅₁), mais étant des molécules bi-chargées, elles sont plus facilement observables en spectrométrie de masse à un rapport m/z de 924,5620; enfin, les roburines B et C, deux dimères glycosylés avec un rapport m/z identique de 1981,1664 (C₈₇H₅₇O₅₅), mais comme les roburines A et D sont également bi-chargées, elles sont plus observables au rapport m/z de 990,5831.

Des observations ont été faites pour les huit ellagitanins du bois de chêne dans tous les échantillons, et toutes les concentrations ont été mesurées en utilisant la courbe d'étalonnage de la vescalagine. La figure 2 montre les huit chromatogrammes d'ellagitanins selon leur forme et leur temps de rétention trouvés dans les extraits de bois de chêne analysés (figure 2a) et dans l'eau-de-vie de Cognac (figure 2b). La méthode de quantification a été validée¹ en termes de limites de détection (LOD), et limites de quantification (LOQ), sensibilité, linéarité dans la plage de travail, répétabilité et précision intra journalière. Pour déterminer la précision intra journalière, cinq réplicats de deux concentrations intermédiaires (2 mg/L et 20 mg/L) de la courbe d'étalonnage ont été injectées successivement. La répétabilité intra journalière (RSD) était <2 % à 2 mg/L et <1% à 20 mg/L, assurant ainsi une bonne répétabilité de la méthode.

■ Détermination de la concentration en ellagitanins dans les échantillons de bois de chêne

Pour doser les ellagitanins dans le bois de chêne, 9 douelles de différentes positions sur une palette en bois ont été étudiées : 3 échantillons en bas, 3 au milieu et 3 en haut de la palette¹. Toutes les concentrations ont été exprimées en milligrammes d'équivalent vescalagine par gramme de bois sur la base du facteur de dilution. Les concentrations individuelles totales d'ellagitanins variaient de 10,37 à 18,77 mg/g d'équivalents vescalagine.

L'analyse statistique ANOVA a montré que la teneur en ellagitanins dépendait de la position du bois sur la palette.

La teneur en ellagitanins totaux est significativement différente ($p < 0,05$) selon la position du merrain dans la palette : la teneur augmente du haut (11,27 mg/g de bois en équivalent vescalagine) vers le bas de la palette (16,72 mg/g de bois en équivalent vescalagine) (Figure 3). C'était également le cas pour la castalagine et la roburine D. Pour les autres ellagitanins individuels, les différences observées étaient soit moindres, soit non significatives. Cette étude préliminaire a permis d'optimiser l'échantillonnage des morceaux de bois pour obtenir une bonne représentativité des concentrations en ellagitanins dans le bois de chêne.

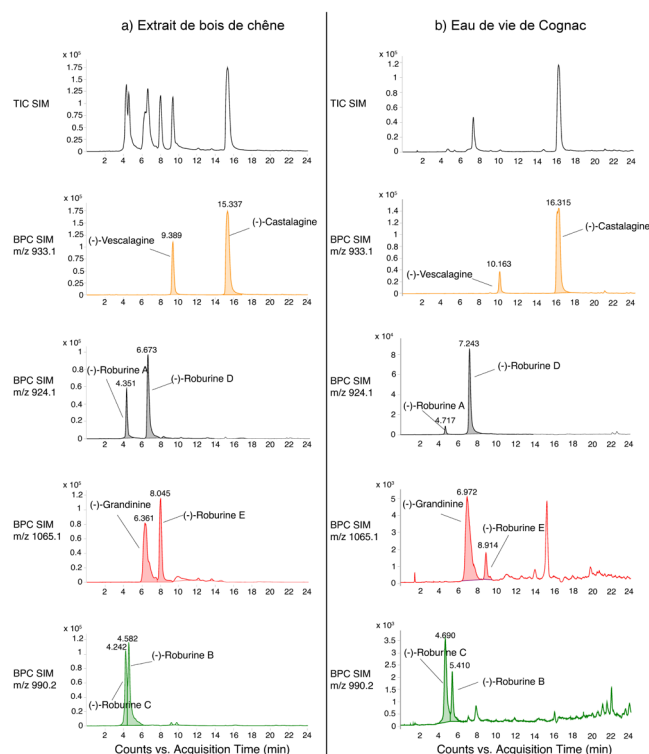


Figure 2. LC-QQQ en mode négatif a) d'un extrait de bois de chêne et b) d'une eau-de-vie de cognac correspondant aux ions $[M-H]^-$ d'ellagitanins (adapté de Gadrat *et al.* 2020¹).

■ Détermination de la concentration en ellagitanins dans les échantillons d'eaux-de-vie

La méthode développée dans cette étude a également été appliquée pour quantifier les ellagitanins dans le Cognac. Vingt échantillons de jeunes eaux-de-vie de Cognac vieilles en fûts ont été analysés à l'aide de quatre réplicats pour chaque eau-de-vie. Les ellagitanins ont été détectés dans tous les échantillons. Les résultats ont montré que les jeunes eaux-de-vie contenaient les huit ellagitanins. Cependant, chaque ellagitanin individuel avait son propre modèle d'extraction. La castalagine représentait environ 40 à 70% du total des ellagitanins extraits. Ce monomère est l'ellagitanin majoritaire dans le bois de chêne et il est plus stable que son isomère, la vescalagine, en raison de la position de l'hydroxyle sur le carbone 1. Le dimère roburine D et le monomère glycosylé grandinine sont les ellagitanins les plus extractibles après la castalagine. En général, la concentration totale en ellagitanin variait de 1,9 à 9,3 mg/L en équivalents vescalagine. Les concentrations en ellagitanins individuels dans le cognac n'ayant jamais été démontrées avant cette étude, les valeurs observées ici sont les premières à être rapportées pour les spiritueux de Cognac. Dans les eaux-de-vie, la somme de la vescalagine et de la castalagine se situerait entre 9 et 12 mg/L d'ellagitanins en équivalents d'acide gallique⁷. Dans un vin rouge français de Cabernet Sauvignon, la somme des concentrations individuelles en ellagitanins variait de 0,6 à 15,5 mg/L en équivalents

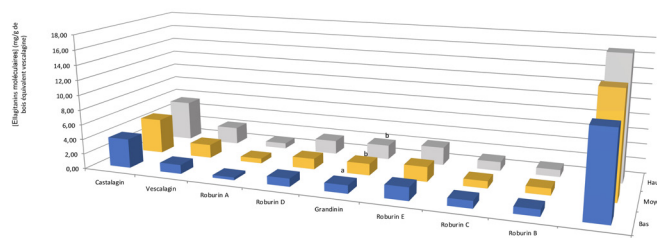


Figure 3. Contenu des huit principaux ellagitanins de bois prélevés sur des merrains à trois niveaux différents (bas, moyen, haut) dans la palette ; a-c montre les différences significatives entre les différentes positions ($p < 0,05$) (adapté de Gadrat *et al.*, 2020¹).

castalagine pendant six et douze mois de vieillissement en fûts de chêne respectivement. Les vins de Cabernet Sauvignon italiens et américains ont présenté une somme de 0,5 à 5,76 mg/L et 0,6 à 12,4 mg/L en équivalents castalagine après six et douze mois de vieillissement respectivement. Comme dans le vin rouge, la castalagine est le composé le plus abondant dans l'eau-de-vie et représente 68 à 79 % de la fraction totale des ellagitanins⁸.

■ Conclusion

Pour la première fois, les ellagitanins du bois de chêne ont été quantifiés avec précision dans les eaux-de-vie de Cognac grâce à une méthode de spectrométrie rapide et précise. Cette méthode validée a été appliquée avec succès à la détection et à la quantification des huit principaux ellagitanins du chêne dans différents échantillons de bois de chêne et d'eaux-de-vie. ■

Mathilde Gadrat^{1,2}, Joel Lavergne², Catherine Emo², Pierre-Louis Teissedre¹, Kleopatra Chira¹
 1 Unité de recherche CEnologie, EA 4577, USC 1366 INRAE, ISVV, Univ. Bordeaux, Bordeaux INP, F33882 Villenave d'Ornon France
 2 Courvoisier SAS, 2 places du château, 16200 Jarnac, France

- Gadrat, M.; Lavergne, J.; Emo, C.; Teissedre, P.-L.; Chira, K. Validation of a Mass Spectrometry Method to Identify and Quantify Ellagitanins in Oak Wood and Cognac during Aging in Oak Barrels. *Food Chem.* 2020, 128223. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128223>.
- Li, S.-Y.; Duan, C.-Q. Astringency, Bitterness and Color Changes in Dry Red Wines before and during Oak Barrel Aging: An Updated Phenolic Perspective Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019, 59 (12), 1840–1867. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1431762>.
- Scalbert, A.; Monties, B.; Dupouey, J. L.; Becker, M. Polyphénols Extractibles Du Bois de Chêne : Variabilité Interspécifique, Interindividuelle et Effet de La Duraminisation. *Bull. Liaison Groupe Polyphenol* 1986, No. 13, 617–619.
- Alañón, M. E.; Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M. C.; Gordon, M. H.; Pérez-Coello, M. S. A Study of the Antioxidant Capacity of Oak Wood Used in Wine Ageing and the Correlation with Polyphenol Composition. *Food Chem.* 2011, 128 (4), 997–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.005>.
- Chira, K.; Teissedre, P.-L. Chemical and Sensory Evaluation of Wine Matured in Oak Barrel: Effect of Oak Species Involved and Toasting Process. *Eur. Food Res. Technol.* 2015, 240 (3), 533–547. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2352-3>.
- González-Centeno, M. R.; Chira, K.; Teissedre, P.-L. Comparison between Malolactic Fermentation Container and Barrel Toasting Effects on Phenolic, Volatile, and Sensory Profiles of Red Wines. *J. Agric. Food Chem.* 2017, 65 (16), 3320–3329. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05497>.
- Canas, S.; Casanova, V.; Pedro Belchior, A. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Portuguese Wine Aged Brandies. *J. Food Compos. Anal.* 2008, 21 (8), 626–633. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.07.001>.
- González-Centeno, M. R.; Chira, K.; Teissedre, P.-L. Ellagitanin Content, Volatile Composition and Sensory Profile of Wines from Different Countries Matured in Oak Barrels Subjected to Different Toasting Methods. *Food Chem.* 2016, 210, 500–511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.139>.