



HAL
open science

Fractionnement et analyse chromatographique des tanins condensés de la pomme

Sylvain Guyot

► **To cite this version:**

Sylvain Guyot. Fractionnement et analyse chromatographique des tanins condensés de la pomme. 4^{ème} Journée Thématique du CCOA, Association Francophone des Sciences Séparatives & Club de Chromatographie Ouest Atlantique, Mar 2020, Nantes, France. <hal-03326228>

HAL Id: hal-03326228

<https://hal.inrae.fr/hal-03326228v1>

Submitted on 25 Aug 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

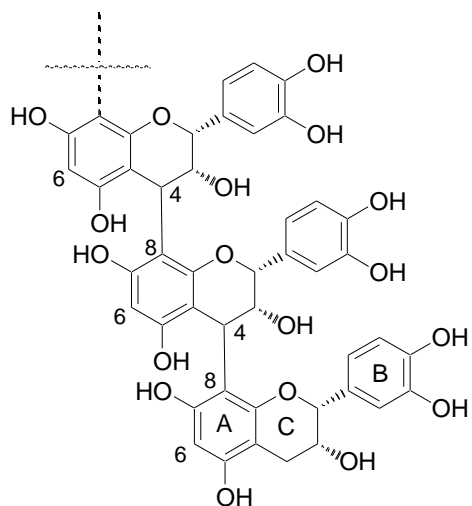
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization



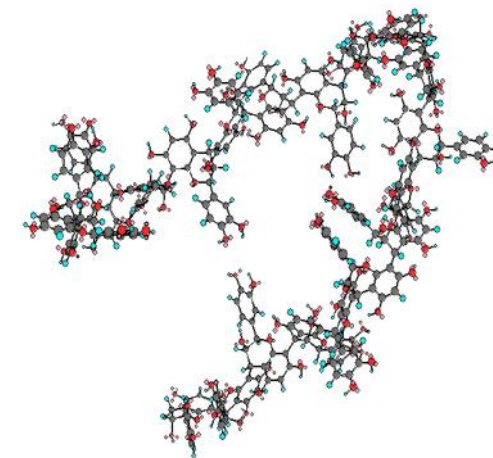
Fractionnement et analyse chromatographique des tanins condensés de la pomme



Sylvain Guyot

Equipe PRP - Polyphénols, Réactivité & Procédés

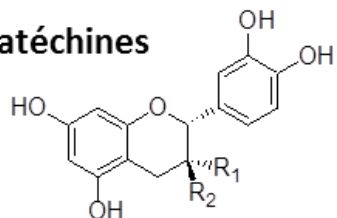
UR1268 BIA, 35653 Le Rheu



Polyphénols & Diversité structurale

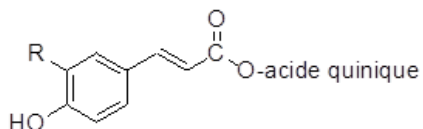


Catéchines



R1=OH, R2 = H : (-)-épicatéchine
R1=H, R2=OH : (+)-catéchine

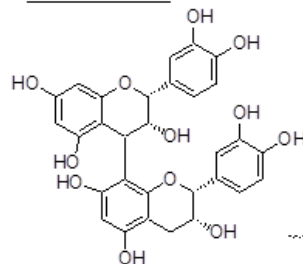
Acides hydroxycinnamiques



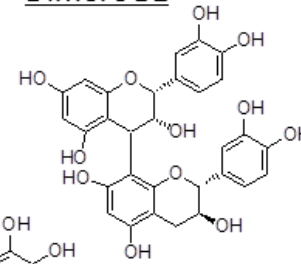
R = OH : acide caféoylquinique
R = H : acide p-coumaroylquinique

Procyanidines et tanins condensés

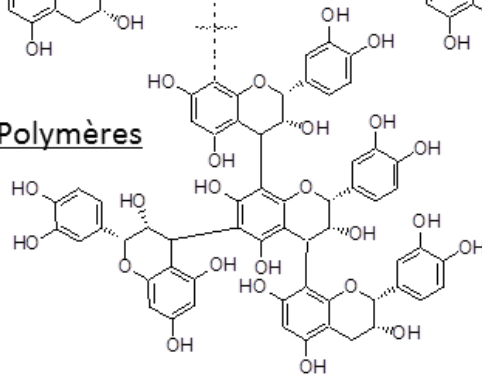
Dimère B2



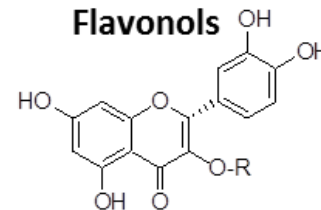
Dimère B1



Polymères

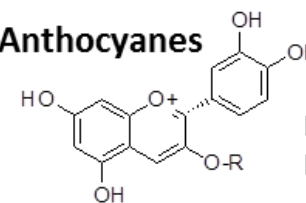


Flavonols



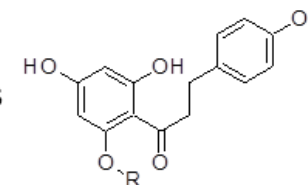
R = H : quercétine
R = rutinosyl : rutine
R = galactosyl : hyperoside
R = glucosyl : isoquercitrine
R = xylosyl : reynoutrine
R = arabinosyl : avicularine
R = rhamosyl : quercitrine

Anthocyanes



R = H : cyanidine
R = galactose : idéaine

Dihydrochalcones

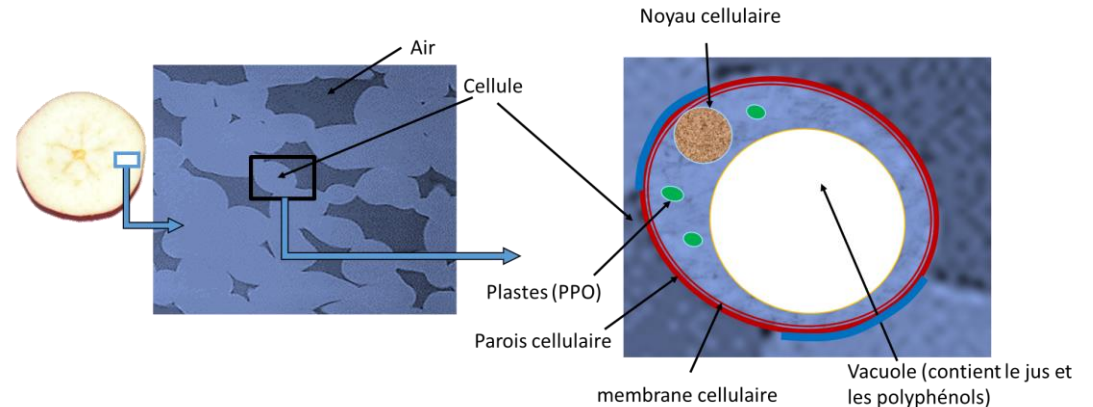


R = glucose : phloridzine
R = xyloglucose : xyloglucoside de phlorétine

Localisation, Rôles et Propriétés des tanins

Localisation des tanins

En moyenne, dans une pomme de 100 grammes



Propriétés dans le végétal:

- Photo-protecteur UV
- Anti-appétant vis-à-vis des insectes
- Régulation redox, protection contre stress oxydant

Propriétés dans les fruits et leurs produits (jus, cidres, vins,...)

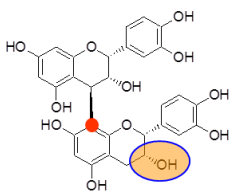
- Amertume
- Astringence
- Stabilité colloïdale
- Aspects nutritionnels (anti/pro)

Et de nombreuses applications alimentaires et non alimentaires (tannage du cuir, agents clarifiants, bases pour substituts de résines époxy, ...)

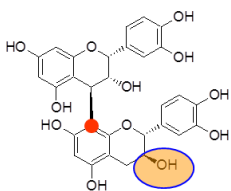
Polymérie et isomérisie des tanins condensés (procyanidines oligo et polymères)

Des oligomères

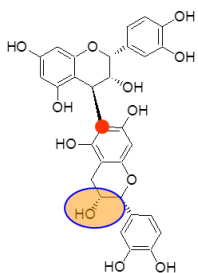
Dimeric procyanidins in apple



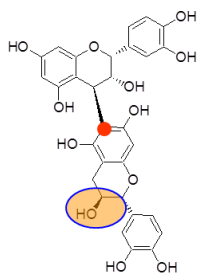
Procyanidin B2



Procyanidin B1



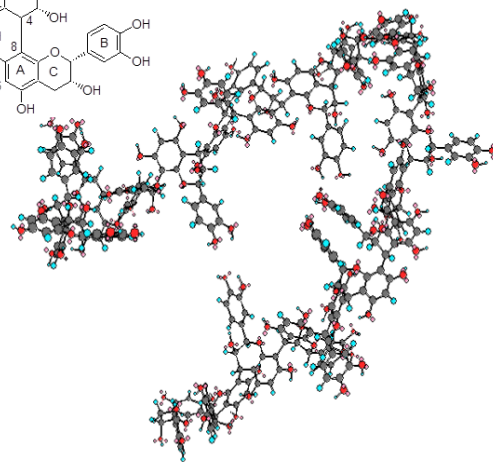
Procyanidin B5



Procyanidin B7

Et des procyanidines polymères (Tanins condensés)

Unité catéchine



Example of a DP₂₀ procyanidin

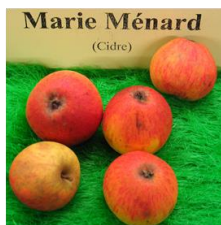
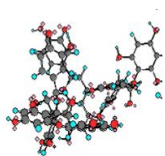
Le degré de polymérisation (DP) :
nombre d'unités catéchines : une caractéristique structurale majeure **en lien avec les propriétés** (capacité tannante: association avec protéines)

DP₂, Mw = 578 Da; DP₅₀, MW = 14.4 kDa ; DP₂₀₀, Mw= 57,8 kDa

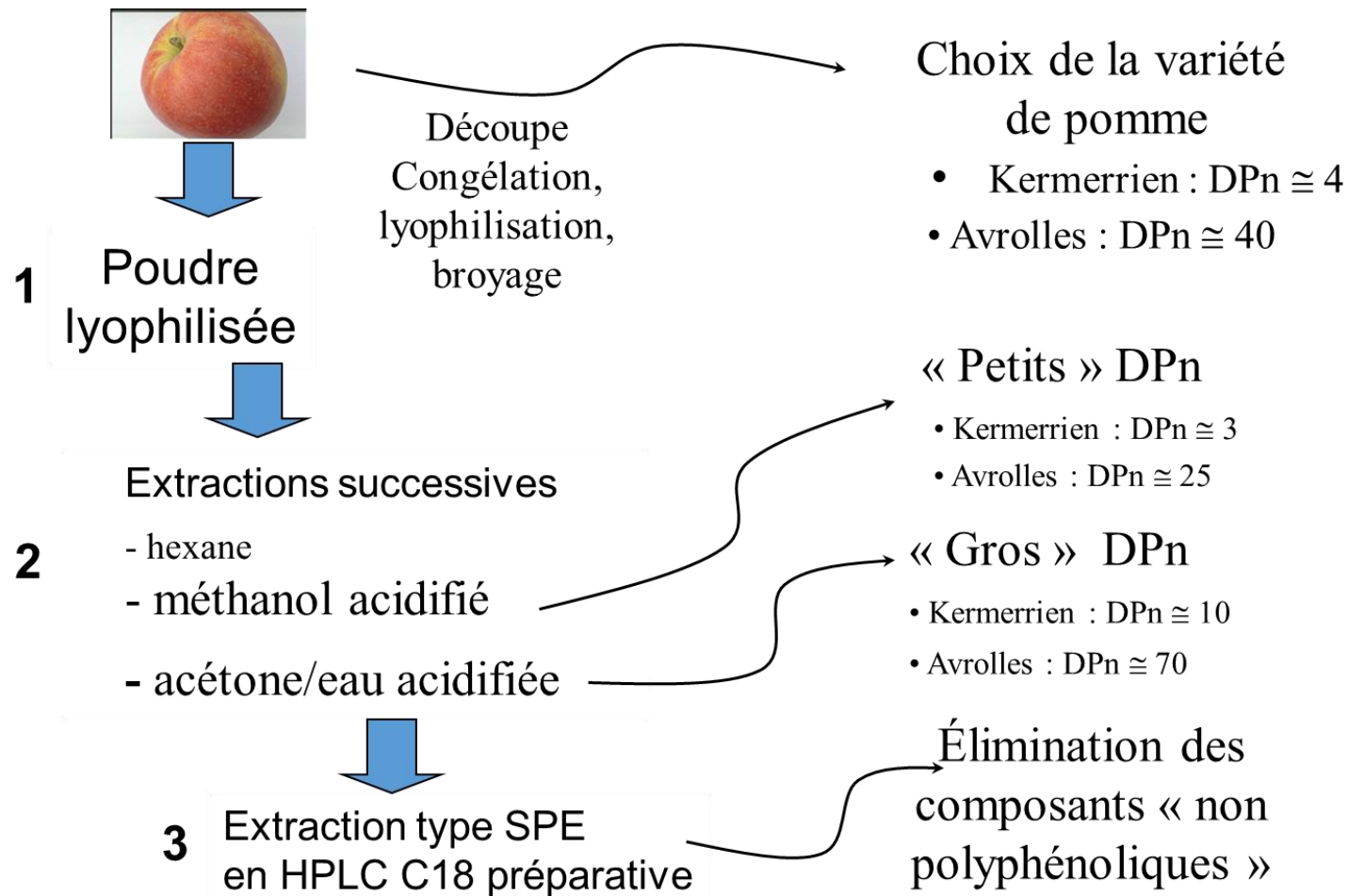
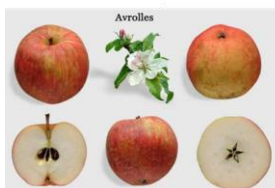
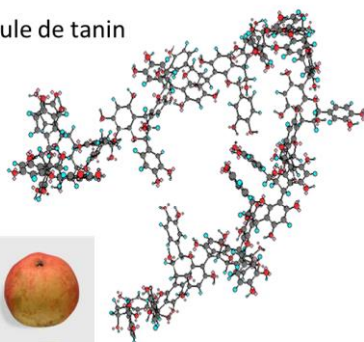
L'extraction des tanins

Les variétés de pommes à cidres

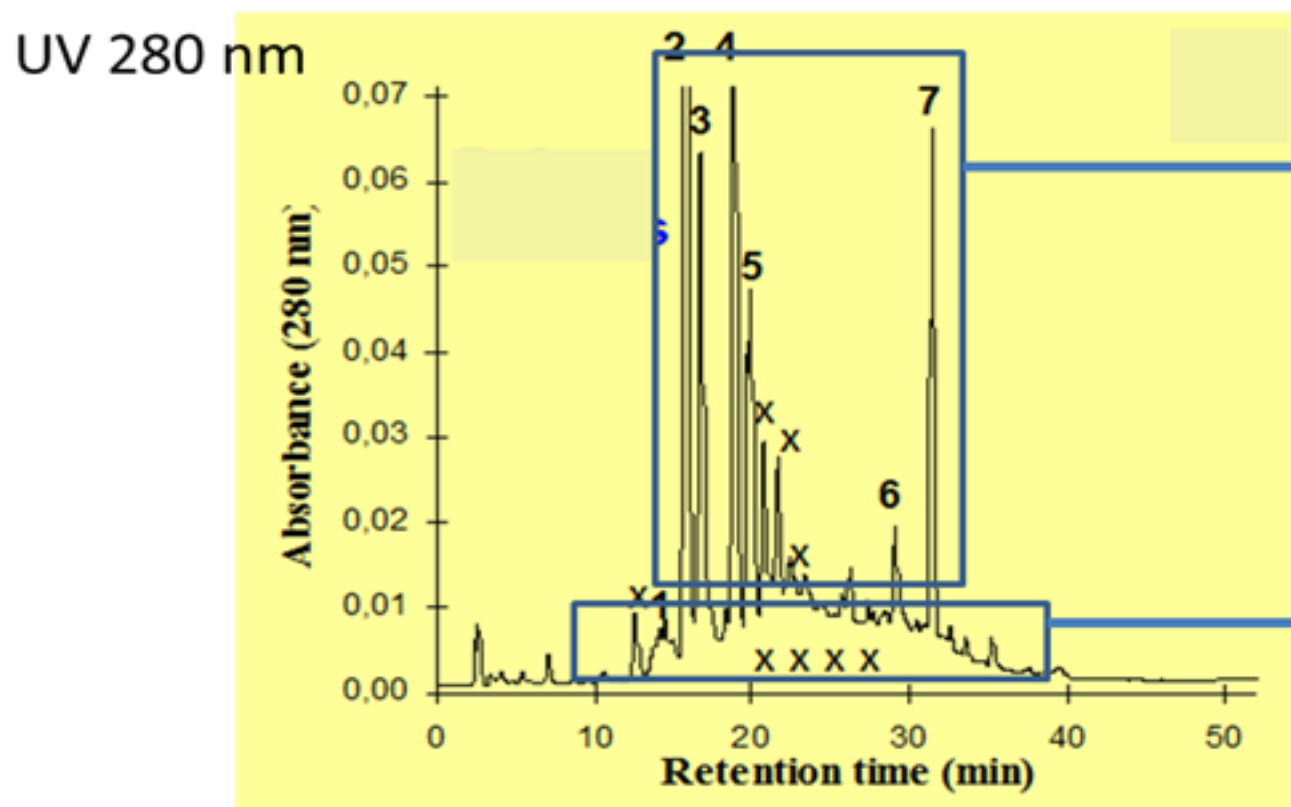
Petite molécule de tanin



Grosse molécule de tanin



Le chromatogramme « classique » en phase inverse (C18) d'un extrait brut de polyphénols de pomme



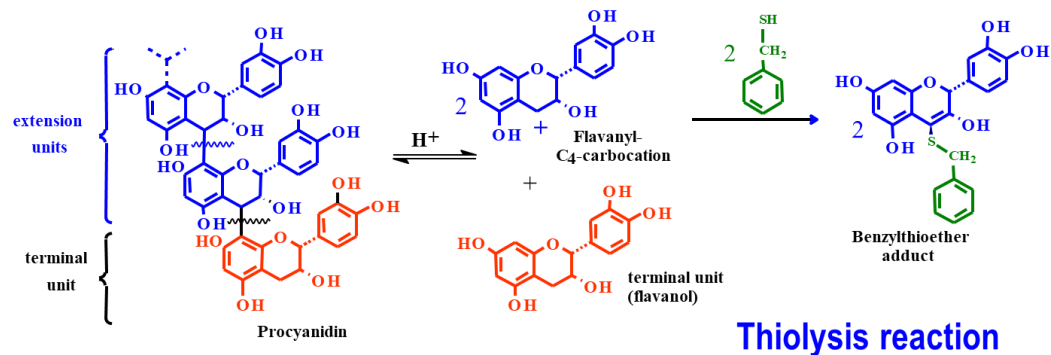
Polyphénols “Simples”
Des pics chromatographiques bien résolus

Tanins (procyanidines oligomères and polymères)
Un “massif” non résolu

Gradient H₂O acidifiée/ACN

Comment avoir accès à la caractérisation et à la quantification des tannins ?

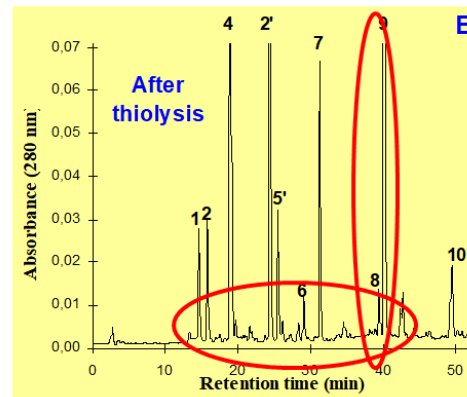
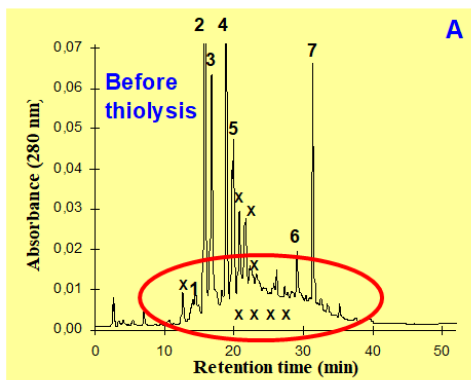
L'acidolyse des tanins condensés en présence d'un nucléophile



(Adapted from Thompson *et al.*, 1972)

Extrait de Guyot *et al.*, 2001, *Meth. Enzymol.* and
Guyot *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2001)

↳ Depolymerisation of procyanidins

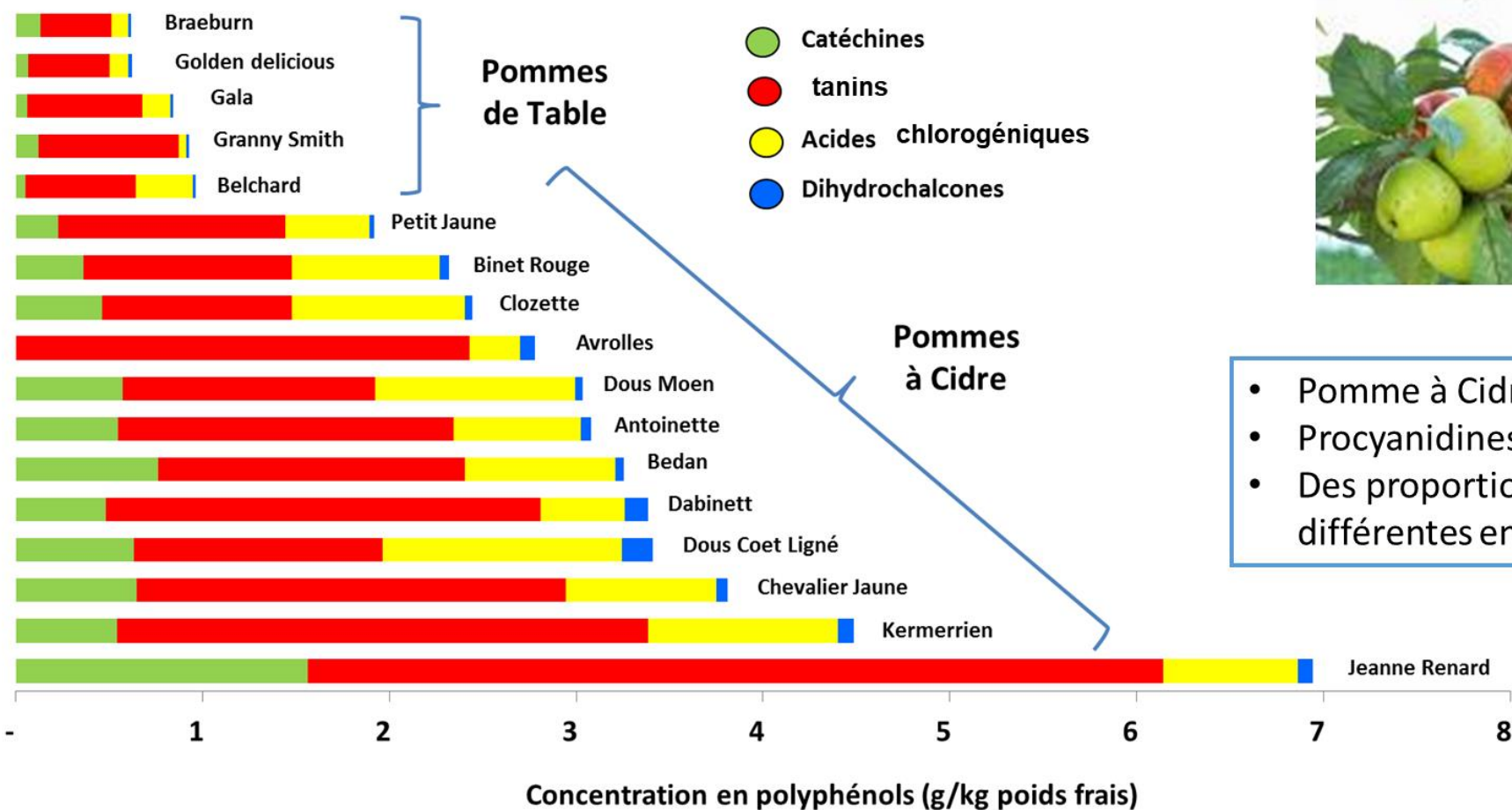


1. Identification des unités catéchines constitutives.

2. Calcul du degré moyen de polymérisation

3. quantification en matrice complexe (pomme, compotes, jus, cidres)

Les polyphénols et la biodiversité variétale



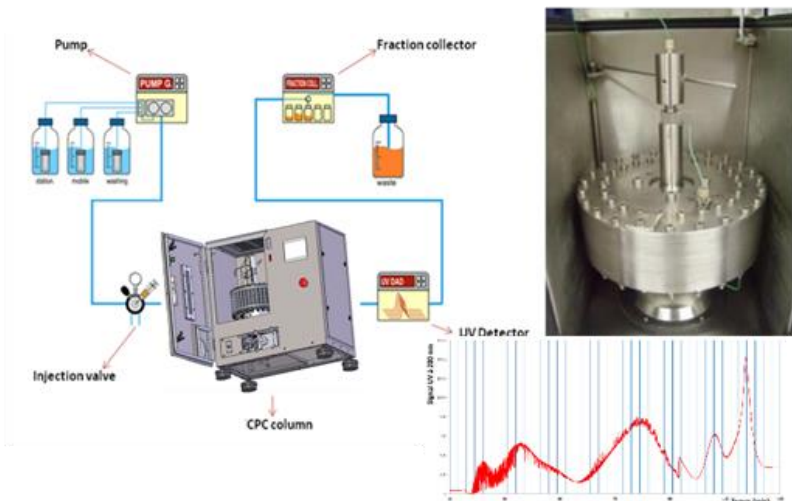
- Pomme à Cidre >> Pommes de Table
- Procyanidines et tanins prépondérants
- Des proportions parfois très différentes entre classes

Sanoner et al., 1999
et Guyot et al., 2002

Séparer les tanins des autres polyphénols

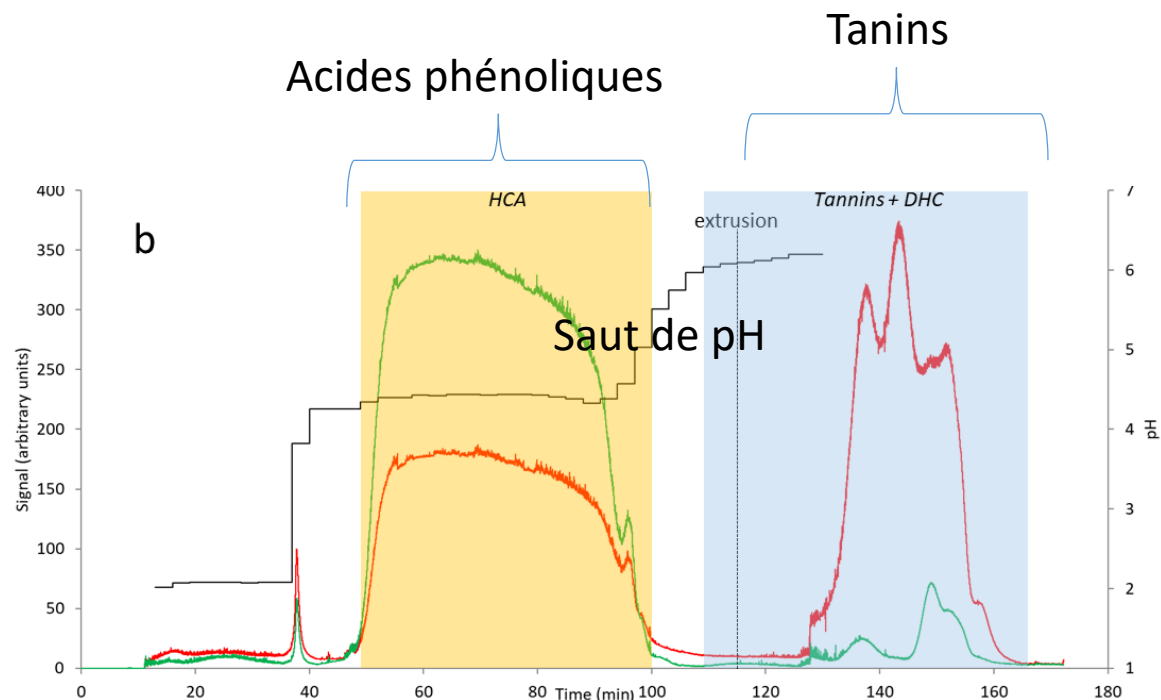
Ex de la CPC (Chromatographie de Partage Centrifuge)

1-3 grammes injectés



CPC: Chromatographie de partage centrifuge

Sur un extrait de polyphénols de la variété Marie Ménars



En rouge: 280 nm

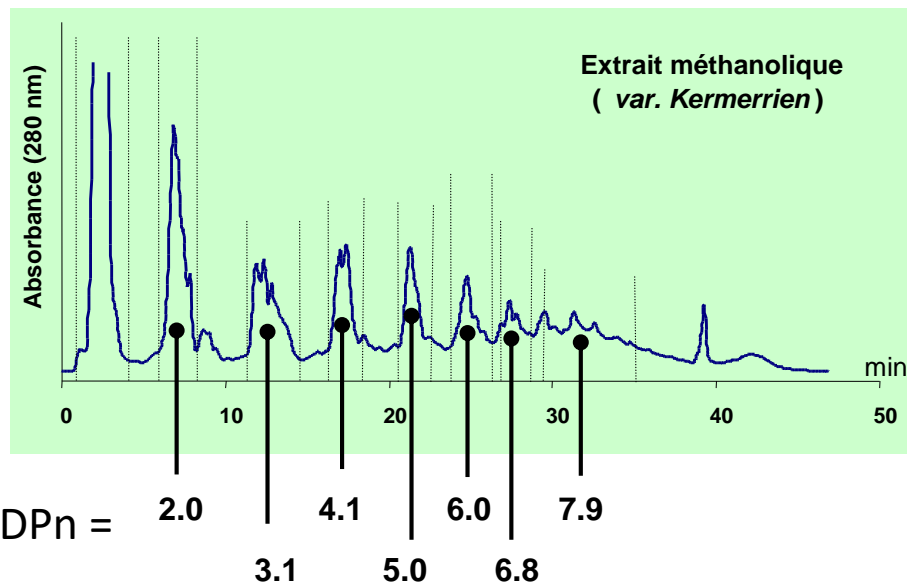
En vert 320 nm (plus spécifique acides phénoliques)

Fractionner les tanins en fonction de leur taille ?

NB: La chromato d'exclusion stérique « classique » ne fonctionne pas....trop de phénomènes d'adsorption avec les gels classiques

La chromatographie en phase normale (Si-OH)

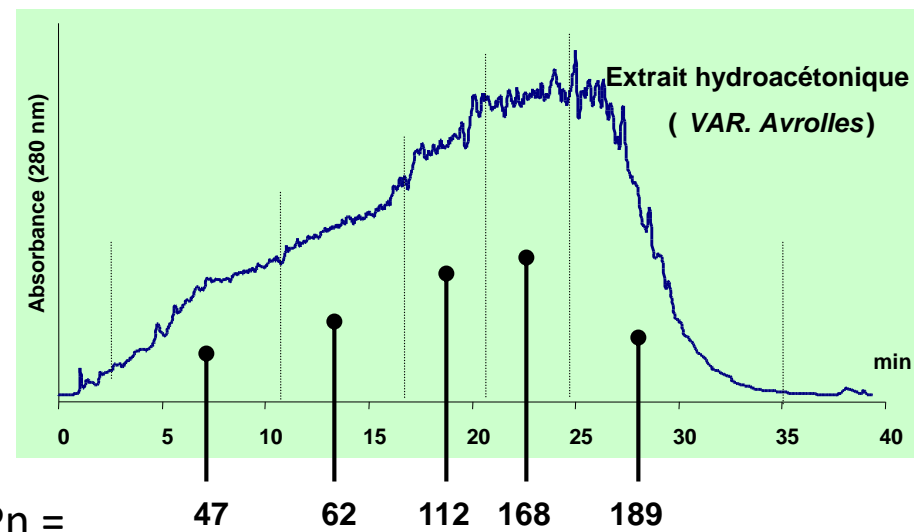
.....pour les oligomères jusqu'à DPn 7-8



Gradient de CH₂CL₂, MeOH, H₂O

La chromatographie en phase inverse (C18)

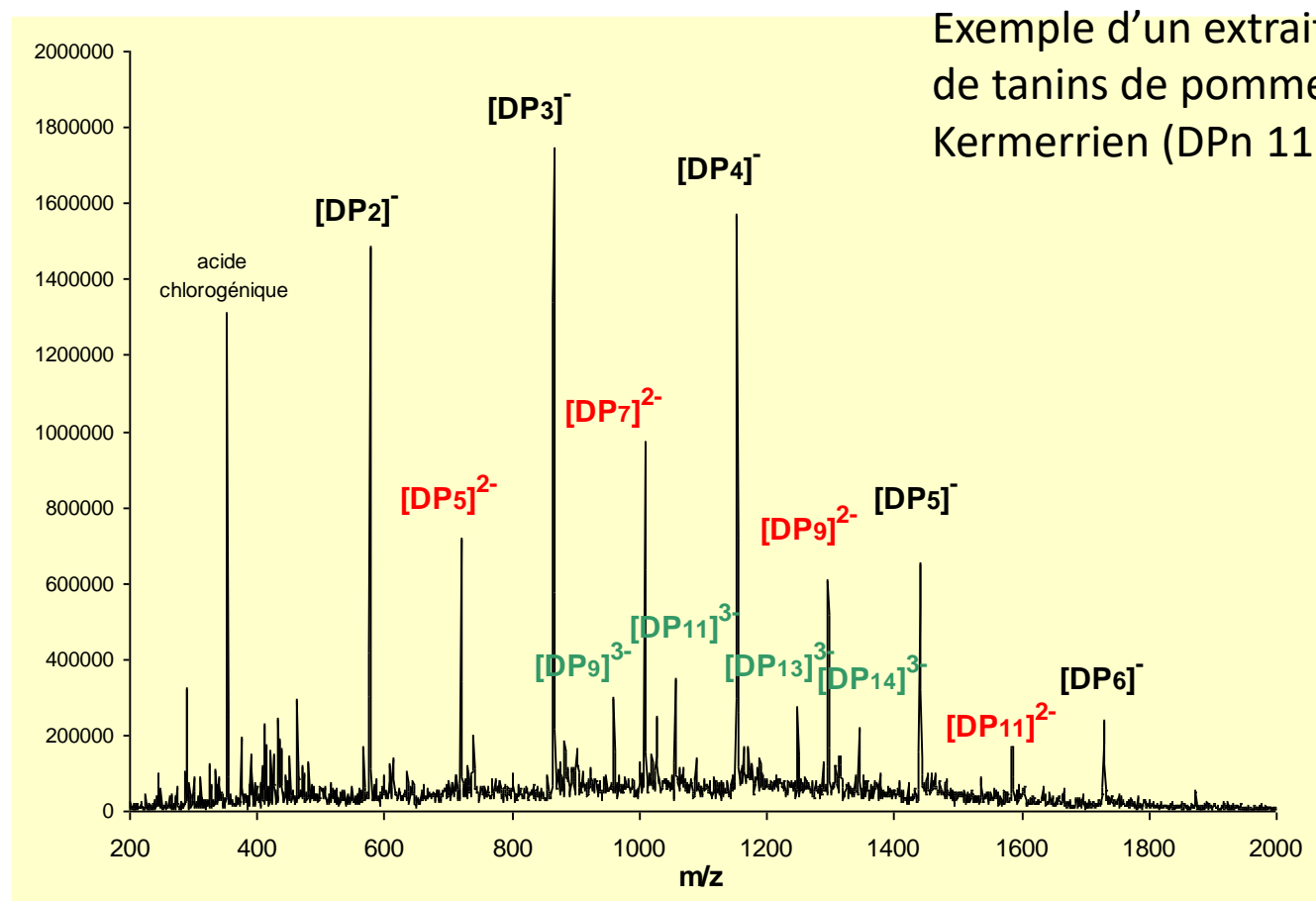
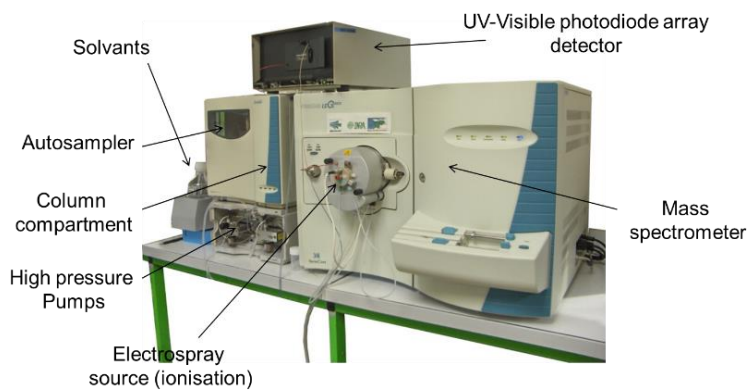
.....pour les polymères jusqu'à...DPn >200



Gradient d'H₂O et ACN

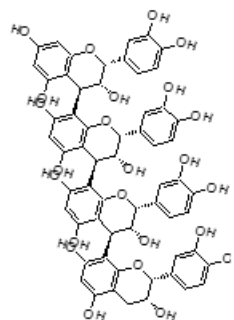
Spectrométrie de masse des tanins condensés

ESI en mode neg.

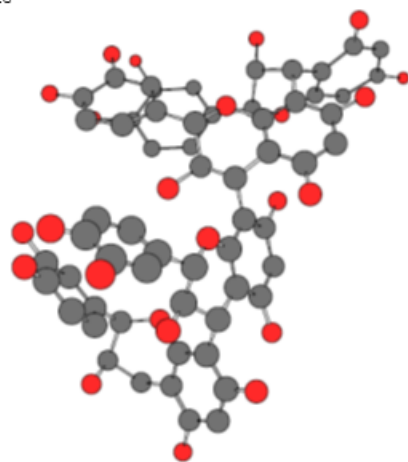


Exemple d'application

Procyanidines, tanins et impact gustatif :
Structure et concentration pour un équilibre entre **amertume** et **astringence**

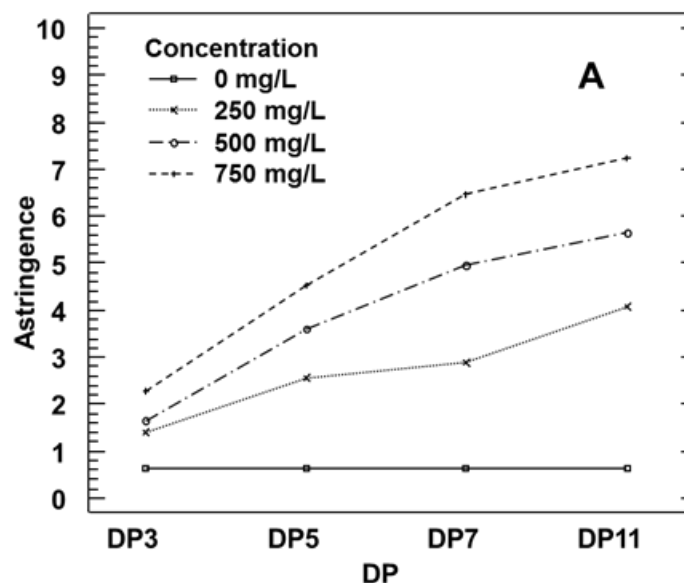


Exemple d'un DP4

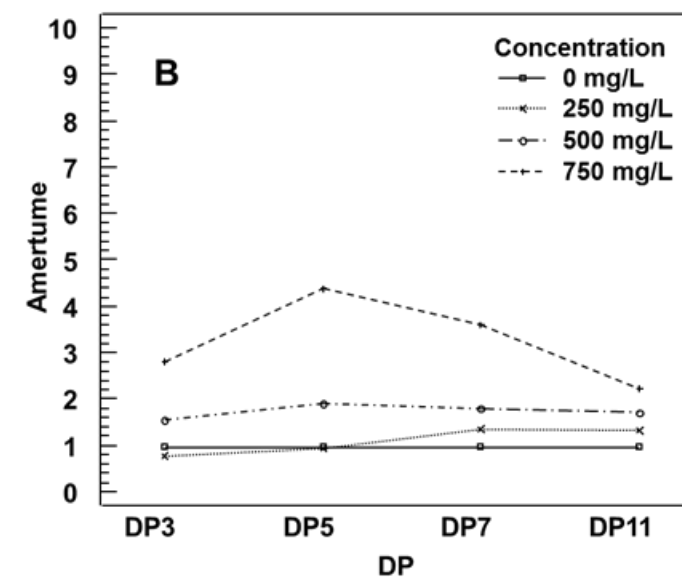


Symoneaux et al., 2014

Astringence



Amertume



Degré de polymérisation des tanins



Merci de votre attention

Autonomous
University of
Coahuila



Biopolymères Interactions Assemblages
Nantes
Unité de Recherche INRA 1268

