

Les enzymes en œnologie  
2<sup>ème</sup> volet : Intérêt dans les opérations pré-fermentaires sur vin rouge

Guérin Laurence (1), Anneraud Charlotte (1), Davaux François (1), Solanet Dominique (1),  
Vinsonneau Emmanuel (1), Chatelet Bertrand (2), Vuchot Patrick (3)  
(1) Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV), (2) SICAREX Beaujolais  
(3) InterRhône

**RESUME :** Face à un nombre important de préparations enzymatiques présentes sur le marché français, la relation éventuelle entre leur profil d'activités enzymatiques et l'effet technologique annoncé et/ou attendu est recherchée. Sept préparations ont été testées sur 42 matières premières différentes, dans le cadre de l'extraction de la couleur, du pressurage, de la clarification, pour les vinifications en rouge. Bien que la relation entre le profil d'activités enzymatiques et l'effet technologique soit difficile à mettre en évidence, l'effet des préparations (aux doses de 3g/hl) sur l'extraction de la couleur est contrasté selon les cépages, les millésimes, et la maturité, malgré que les vins dits enzymés soient perçus plus tanniques ; alors que l'amélioration du rendement total en jus au pressurage et la diminution de la turbidité sont mises en évidence dans tous les cas.

**ABSTRACT:** In front of a significant number of present enzymatic preparations on the French market, the possible relation between their profile of enzymatic activities and the announced and/or expected technological effect is looked for. Seven preparations were tested on 42 different raw materials, within the framework of the extraction of the color, the pressing, the clarification, for the wine makings in red. Although the relation between the profile of enzymatic activities and the technological effect is difficult to bring to light, the effect of the preparations (in the doses of 3g / hl) on the extraction of the color is contrasted according to vines, vintage wines, and maturity, in spite of said enzymes wines are perceived more tannic; while the improvement of the total return in juice in the pressing, and the decrease of the turbidity are revealing in every case.

**MOTS CLES :** préparations enzymatiques, pectinases, activités enzymatiques, effets technologiques, vinification en rouge, pressurage, extraction de la couleur, clarification

**KEYWORDS:** enzymatic preparations, pectinases, relation between enzymatic activities and technologic effects, red wine, color extraction, clarification, pressing

### Introduction générale

#### Qu'est-ce qu'une enzyme

Une enzyme est une protéine permettant d'accélérer les réactions chimiques du métabolisme se déroulant dans le milieu cellulaire ou extracellulaire. Les enzymes agissent à faible concentration ; ce sont des catalyseurs biologiques (ou bio-catalyseurs).

De nombreuses préparations enzymatiques sont actuellement largement utilisées dans la filière vitivinicole, avec des spécificités plus ou moins marquées : extraction de la couleur, clarification, sédimentation...

Ces préparations dites exogènes permettent de palier l'inhibition des enzymes endogènes contenues dans les cellules des baies de raisins, le raisin possédant ses propres activités enzymatiques, variables en fonction du cépage, de la maturité, de l'état sanitaire...

Compte tenu de la diversité de préparations enzymatiques présentes sur le marché, il est apparu que des éléments de réponse devaient être apportés concernant la relation entre l'effet technologique attendu et/ou annoncé de ces préparations et la ou les activités enzymatiques responsables.

En effet, les préparations enzymatiques utilisées en œnologie couvrent les applications suivantes : pressurage, débouillage, clarification, extraction de couleur, filtration et libération d'arômes.

Les « pectinases » ou « enzymes pectolytiques » constituent le groupe le plus important utilisé en vinification et sont représentées par les activités : Pectine Méthyl-Estérase (PME), Polygalacturonase

(PG) et Pectine Lyase (PL) ; ces dernières ont la capacité de dégrader les substances pectiques des baies de raisins (Wightman et *al.* 1997 (1), Laperche et Görtges 2001 (2), Gunata 1995 (3), Canal-Llaubères 2002 (4), Fernandez et *al.* 2005 (5)). Cependant, les mélanges ou formulations d'enzymes contenant, par exemple, des pectinases, cellulases <sup>(1)</sup>, hémicellulases <sup>(2)</sup> et glycosidases <sup>(3)</sup> semblent plus attractifs, car ces produits auraient plus d'une fonction ou d'une application.

Ainsi, très schématiquement, il serait possible de relier le profil d'activités enzymatiques d'une préparation, à l'effet technologique pour lequel elle a été prédéfinie.

<sup>(1)</sup> pouvant être représentées par la mesure de l'endo- $\beta$ -D-1,4-glucanase

<sup>(2)</sup> pouvant être représentées par les mesures de l'endo  $\beta$ -D-1,4-xylanase

<sup>(3)</sup> pouvant être représentées par les mesures de  $\beta$ -D-glucosidase,  $\beta$ -D-galactosidase,  $\beta$ -D-xylosidase,  $\alpha$ -L-rhamnosidase,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase et  $\beta$ -D-apiofuranosidase

Afin de pouvoir établir cette relation, trois axes complémentaires de travail ont été développés :

1. Détermination du profil d'activités enzymatiques des préparations commerciales présentes sur le marché français.
2. Relation entre l'effet technologique annoncé et/ou attendu et le profil d'activité enzymatique déterminé dans l'axe 1.
3. Recherche d'indicateurs liés à la caractérisation de la vendange afin d'optimiser l'emploi des préparations enzymatiques.

Ces différents points sont présentés dans cet article, mais spécifiquement associés aux essais réalisés en vinifications en rouge.

En effet, les vinificateurs en rouge utilisent couramment ces outils biotechnologiques, que sont les enzymes exogènes, afin d'optimiser leurs process et/ou la qualité de leurs produits.

Dans le cadre des essais menés en rouge, l'effet technologique particulièrement étudié a été l'extraction de la couleur, parallèlement à des mesures associées aux composés phénoliques totaux, à la clarification, au rendement de pressurage et à la filtration.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1- Modalités mises en œuvre

L'ensemble des essais est mené en volume pilote (50 à 5000 kg de raisins) afin de contrôler l'homogénéité des lots de vendange et de maîtriser les conditions d'obtention des moûts (température, durée de macération, cycle de pressurage en particulier).

Les essais sont conduits sur trois unités expérimentales de l'Institut Français de la Vigne et du Vin : Bordeaux (33), Gaillac (81), Nîmes (30) et deux autres organismes d'expérimentation que sont InterRhône (84) et la SICAREX du Beaujolais (69). Les essais sont menés de 2002 à 2007 sur 8 matières premières différentes de Gamay, 9 de Grenache, 7 de Merlot, 5 de Cabernet sauvignon, 6 de Duras et 7 de Syrah (42 matières premières différentes au total).

Le tableau 1 présente l'ensemble des modalités étudiées : 7 préparations enzymatiques dont certaines sont répétées plusieurs années sur plusieurs cépages et sites (Vinozym Vintage, Kzym+ et Rapidase Ex-color) ; d'autres ne sont étudiées qu'une fois (Endozym rouge thermo, Vinozym G, Lafase HE, Depectil extraction).

**Tableau 1 :** Bilan des essais menés entre 2002 et 2007 sur 7 préparations enzymatiques et 42 matières premières sur les sites d'expérimentation de Bordeaux (33), Gaillac (81), Nîmes (30), Sicarex du Beaujolais (69) et InterRhône (84) (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

| Préparation enzymatique (Dose)/ Fabricants-Distributeurs | Nombre de moûts / cépage | Nombre de modalités                 | Cépage (origine)       |                        |                        |                        |                        |                    |
|--|--------------------------|-------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
|  |                          |                                     | Gamay                  | Grenache               | Merlot                 | Duras                  | Syrah                  | Cabernet sauvignon |
| Vinozym® Vintage (3g/100Kg)/ Novozymes                   | 2 origines               | 1 date / maturité                   | 2002 (69)              | -                      | 2002 (33)              | -                      | 2002 (30)              | -                  |
|  | 1 origine                | 2 dates / maturité et sur-maturité  | 2003 (69)<br>2004 (69) | 2003 (84)<br>2004 (84) | 2003 (33)<br>2004 (33) | 2003 (81)<br>2004 (81) | 2003 (30)<br>2004 (30) | 2004 (33 ; 30)     |
|  | 2 origines               | 2 dates / maturité et sous-maturité |                        | 2005 (84)<br>2006 (84) |                        |                        |                        |                    |
|  | 1 origine                | 2 dates / maturité et sous-maturité | 2005 (69)<br>2006 (69) |                        | 2005 (33)              | 2005 (81)              |                        |                    |
| 2 volumes 40 Kg et 40 hl                                 |                          | 2005 (69)                           |                        |                        |                        | 2005 (30)              | 2005 (30)              |                    |
| Kzym +® (3g/100Kg)/ ICV                                  | 2 origines               | 1 date / Maturité                   | 2002 (69)              | -                      | 2002 (33)              | -                      | 2002 (30)              | -                  |
|  | 2 origines               | 2 dates / maturité et sur-maturité  | 2003 (69)              | 2003 (84)              | 2003 (33)              | 2003 (81)              | 2003 (30)              | -                  |
| Rapidase® Ex-color (4g/100Kg) (3g/hl)/ DSM               | 2 origines               | 2 dates / maturité et sur-maturité  | 2004 (69)              | 2004 (84)              | 2004 (33)              | 2004 (81)              | 2004 (30)              | 2004 (33 ;30)      |
|  | 1 origine                | 2 dates / maturité et sous-maturité | 2005 (69)              | 2005 (84)              |                        | 2005 (81)              | 2005 (30)              | 2005 (30)          |
|  |                          | 2 volumes / 40 Kg et 40 hL          |                        |                        | 2005 (33)              | 2006 (81)<br>2005 (81) |                        |                    |
|  | 2 origines               | 2 dates / maturité et sous-maturité | 2006 (69)              | 2006 (84)              | -                      | 2006 (81)              | -                      | -                  |
|  | 3 origines               | 1 date / maturité                   | -                      | 2007 (84)              | -                      | -                      | -                      | -                  |
| Vinozym® G (3g/100 hL)/ Novozymes                        | 3 origines               | 1 date / maturité                   | -                      | 2007 (84)              | -                      | -                      | -                      | -                  |
| Lafase® HE (3g/100Kg)/ Laffort                           | 3 origines               | 1 date / maturité                   | -                      | 2007 (84)              | -                      | -                      | -                      | -                  |
| Endozym® Rouge (3g/hL)/ AEB                              | 3 origines               | 1 date / maturité                   | -                      | 2007 (84)              | -                      | -                      | -                      | -                  |
| Depectil® extraction (3g/100Kg)/ Martin Vialatte         | 3 origines               | 1 date / maturité                   | -                      | 2007 (84)              | -                      | -                      | -                      | -                  |

Les préparations enzymatiques sont apportées sur vendange foulée, éraflée pour agir au cours de la macération. L'origine des moûts est la même, quel que soit le millésime, pour un même cépage.

Une modalité non enzymée est systématiquement effectuée et constitue le « Témoin ». Une modalité (témoin ou essai) est répétée sur tous les cas étudiés, de manière à juger de l'écart généré par les conditions opératoires.

## 2.2- Modes de vinification

La vendange est récoltée manuellement pour les minivinifications et mécaniquement pour les plus grands volumes, puis répartie de manière à obtenir autant de lots homogènes que de modalités. La durée de macération est fonction du cépage et du profil de vins recherché. Les éléments liés à la conduite de la macération selon les cépages, sont indiqués dans le tableau n°2.

Après la macération, les jus sont écoulés et le marc est pressé. Des pressoirs à membrane, à cage ouverte sont utilisés. Leur capacité est adaptée aux gros volumes de vendange. Dans tous les cas le cycle de pressurage est identique pour tous les lots. Les jus de goutte et de presse sont assemblés.

**Tableau 2** : Opérations pré-fermentaires et de macération (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

| Cépage                  | Fouillage / Egrappage              | Durée cuvaison (jours) | Remontage                     | Pigeage         | Température cuvaison (°C) |
|-------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------|---------------------------|
| Cabernet sauvignon (33) | Oui                                | 16                     | Oui (quotidien)               | Non             | 28-30                     |
| Cabernet sauvignon (30) | Oui                                | 7                      | Oui (quotidien)               | Oui (quotidien) | 28-30                     |
| Duras                   | Oui                                | 10                     | Oui (quotidien jusque fin FA) | Non             | 25-27                     |
| Gamay                   | Fouillage du 1 <sup>er</sup> quart | 6                      | Oui (quotidien)               | Non             | 26                        |
| Merlot                  | Oui                                | 20                     | Oui (quotidien)               | Non             | 28-30                     |
| Syrah                   | Oui                                | 7                      | Oui (quotidien)               | Oui (quotidien) | 28-30                     |
| Grenache                | Oui                                | 7                      | Oui (quotidien)               | Oui (quotidien) | 25-30                     |

## 2.3- Analyses physico-chimiques

Des mesures permettent d'évaluer les effets technologiques :

- l'extraction de la couleur (anthocyanes (mg/l) (corrigées des taux de SO<sub>2</sub>), tanins (mg/l), IPT (DO280x100), ICM (Intensité Colorante Modifiée = DO420 + DO520 + D0620)) ;
- la clarification-sédimentation ; la turbidité est mesurée en NTU (Nephélometric Turbidity Unity) ;
- la filtrabilité (Vmax), cette mesure correspond à la différence de volumes de vins filtrés à 2 et à 5 minutes [sous 1 bar de pression et sur une membrane d'un diamètre de 25mm et d'une taille de pores de 0,65µm ; le calcul est le suivant :  $(5-2) / [(5/V5) - (2/V2)]$  ;
- volume d'égouttage, volume jus de presse et poids de marc obtenu au pressurage.

Des analyses classiques de suivi et de caractérisation de la matière première sont également mises en œuvre : état sanitaire, potentiel couleur, sucres, pH, AT, AV, TAP, N-assimilable, acide tartrique, acide malique et les suivis de SO<sub>2</sub> (libre et total). Un suivi analytique est réalisé tout au long de l'élaboration des vins et jusqu'à un an après mise en bouteilles.

D'autres mesures sont effectuées, afin d'estimer l'action des enzymes pectolytiques ajoutées :

- pectines, glucanes (évaluations réalisées par tests à l'alcool) ;
- polysaccharides neutres par GC-FIF (méthode des acétates d'alditols).

## 2.4- Analyse sensorielle et analyses statistiques

Les vins sont dégustés en analyse descriptive et en ordre aléatoire, par des techniciens et professionnels au printemps suivant la récolte, de même qu'un an après mise. Les profils olfactifs et gustatifs sont réalisés en verres noirs, pour que les juges ne soient pas influencés dans leur notation par

la couleur des vins. Une analyse de variance et un test de Newman-Keuls ou Duncan sont réalisés sur la moyenne des notes pour l'ensemble des critères.

Ces mêmes outils statistiques ont été utilisés pour déterminer du niveau de significativité des modalités mises en œuvre.

### 3. Résultats et discussion

Les résultats sont présentés sous l'angle de l'effet technologique recherché.

Afin de respecter l'anonymat des résultats liés aux préparations utilisées, ces dernières sont codifiées dans les résultats présentés. Ces codes sont ceux initialement choisis dans la référence bibliographique n°6.

#### 3.1- Profils d'activités enzymatiques

Les méthodes de mesures des activités enzymatiques citées dans l'introduction ont été mises au point par l'Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV), car auparavant, seules des méthodes globales internes aux producteurs existaient (AVJP : Activité Viscosimétrique sur Jus de Pomme, FDU : Ferment Depectinization Units,...). Ainsi, sur le site de l'OIV, il est possible de se procurer les méthodes spécifiques (<http://www.oiv.int>). De même les profils d'activités enzymatiques de 41 préparations commerciales présentes sur le marché français sont disponibles (Guérin et al, 2009 (6)). Les profils des 7 préparations utilisées dans l'expérimentation liée à la vinification en rouge, sont présentés dans les figures 1et 2.

Les activités enzymatiques définies sont exprimées en nanokatal, correspondant à 1 nanomole du produit de la réaction enzymatique, obtenue en une seconde, dans les conditions de mesures.

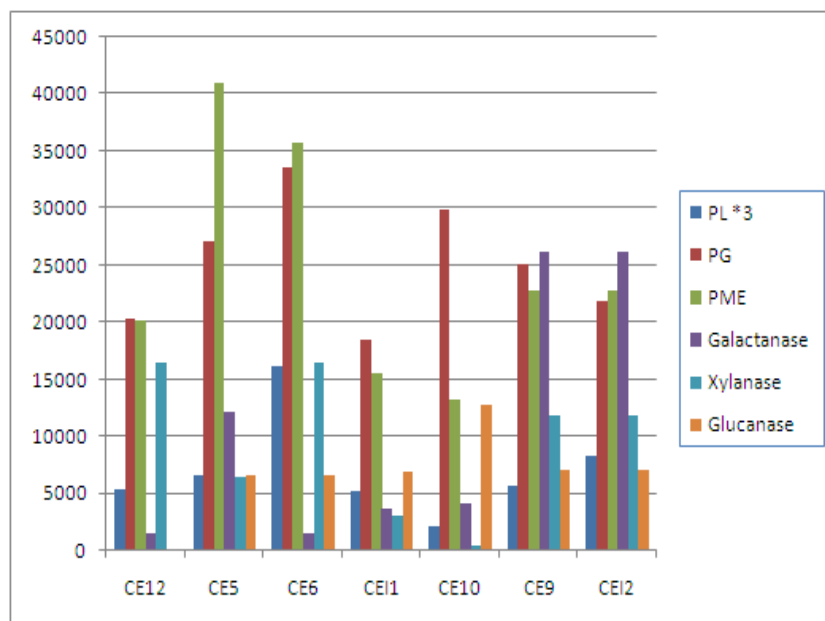


Figure 1 : Activités enzymatiques exprimées en nanokatal/g. préparation, des différentes préparations commerciales utilisées dans le cadre de l'expérimentation menée en vinifications en rouge (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007) (PL = Pectine Lyase – PG = Polygalacturonase – PME = Pectine Methyl Esterase)

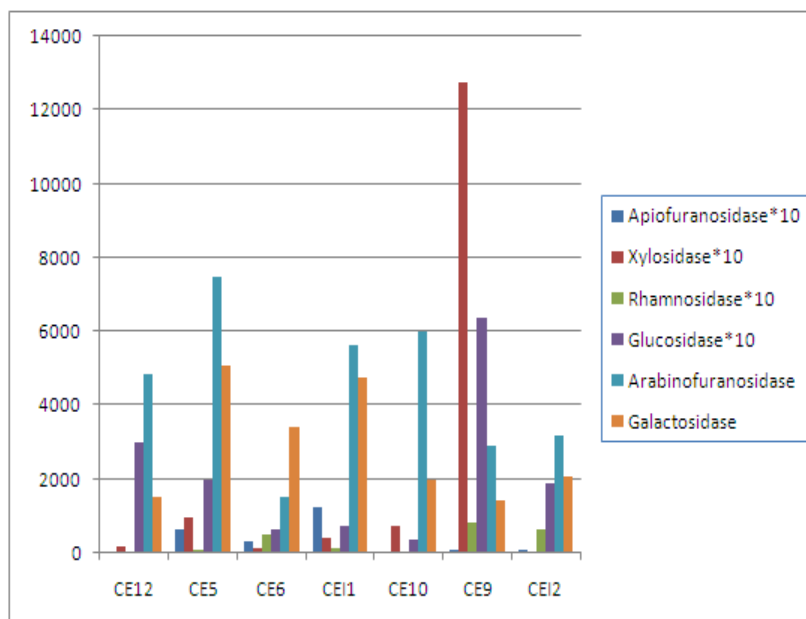


Figure 2 : Activités glycosidasiques exprimées en nanokatal/g. préparation, des différentes préparations commerciales utilisées dans le cadre de l'expérimentation menée en vinifications en rouge (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

Parmi les sept préparations choisies, des variations quantitatives sont observées, ainsi que des variations qualitatives. Les préparations CE9 et CEI2 présentent un niveau d'activités équivalent pour les pectinases, cellulases et hémicellulases, mais se différencient nettement sur les niveaux d'activités des glycosidasiques. Cette même préparation CE9 présente des activités glycosidasiques et notamment xylosidase, importantes mais quatre fois moins importantes qu'une préparation dite libératrice d'arômes. Cependant, l'activité glucosidase, indispensable à toutes les préparations enzymatiques libératrices d'arômes est également présente en quantité non négligeable par rapport aux 6 autres préparations choisies.

Les 5 autres préparations qui sont : CE12, CE5, CE6, CE11 et CE10, présentent plus de variations quantitatives que qualitatives entre elles et avec une présence majoritaire des activités polygalacturonase (PG) et pectine-méthyl-estérase (PME). Il est important de noter que pour la préparation CE12, il n'a pas été détecté d'activité associée aux cellulases (dans les conditions de dosages énoncées).

### 3.2. Extraction de la couleur

Dans le cadre des essais menés en vinification en rouge, l'effet principal testé est l'extraction de la couleur. Ainsi, à partir de l'ensemble des essais réalisés, il a été possible :

- de comparer les modalités avec et sans ajout d'enzymes sur les critères de couleur sur vins finis (après filtration),
- de comparer ces mêmes modalités avec les mêmes indicateurs au décuve (vins de goutte et vins de presse) ;
- de réaliser des vinifications en petits et grands volumes, afin de confirmer les résultats précédemment obtenus ;
- de comparer lors des essais, l'impact de l'enzymage sur des raisins récoltés à des maturités différentes ;
- de compléter l'étude par des essais en laboratoire.

#### 3.2.1- Résultats obtenus sur les minivinifications à maturité, au décuve et sur vins finis

Les préparations enzymatiques ajoutées peuvent agir à la fois sur la cinétique d'extraction au cours de la cuvaison et sur une extraction plus prononcée des composés phénoliques.

### 3.2.1.1- Résultats obtenus au décuvage

A partir des indicateurs que nous avons choisi, à savoir les mesures des anthocyanes (mg/l), des composés phénoliques totaux (IPT), de l'intensité colorante modifiée (ICM) et des tanins (mg/l), il apparaît que les gains les plus importants sont retrouvés sur les cépages Merlot et Syrah, de plus, pour lesquels les écarts rencontrés entre 'Témoin' et 'Enzymé' sont significatifs sur une grande partie des critères.

Les valeurs présentées sont les gains obtenus sur l'ensemble des essais effectués pour chaque cépage et pour l'ensemble des cinq années d'études (tableau n°3). Il est à noter que les gains rencontrés sont fonction des cépages, mais également des millésimes, bien que l'origine des matières premières ait été la même pour chacun des essais sur l'ensemble des millésimes.

Ainsi, on peut constater que les gains les plus significatifs ont été obtenus lors des essais menés en 2002 et 2005.

A ce stade de la vinification, les différences rencontrées sont seulement inhérentes au potentiel polyphénolique des raisins à la vendange, lié lui-même au cépage et aux conditions du millésime et aux itinéraires de vinification ; ces derniers sont les mêmes pour un même cépage, quels que soient les modalités et les millésimes (tableau n°2).

**Tableau 3** : Gains liés à l'extraction de la couleur, au décuvage, tous millésimes confondus et quelle que soit l'enzyme (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007).

| Cépages                       | Anthocyanes (mg/l) |              | Tanins (mg/l) |              | IPT      |              | ICM      |              |
|-------------------------------|--------------------|--------------|---------------|--------------|----------|--------------|----------|--------------|
|                               | Gain (%)           | P Value      | Gain (%)      | P Value      | Gain (%) | P Value      | Gain (%) | P value      |
| <b>Cabernet sauvignon (3)</b> |                    |              |               |              |          |              |          |              |
| Goutte                        | +0,2               | 0,993        |               |              | +4,4     | <b>0,096</b> | +2,7     | 0,669        |
| Presse                        | +3,5               | 0,858        |               |              | +4,1     | 0,640        | +4,2     | 0,819        |
| <b>Duras (4)</b>              |                    |              |               |              |          |              |          |              |
| Goutte                        | +2,3               | 0,131        | -3,5          | 0,78         | +13,5    | 0,351        | +11,8    | 0,413        |
| Presse                        | -3,9               | 0,562        | +9,0          | 0,65         | -1,6     | 0,715        | -4,3     | 0,407        |
| <b>Gamay (5)</b>              |                    |              |               |              |          |              |          |              |
| Goutte                        | +4,0               | 0,266        | -0,5          | 0,899        | -0,4     | 0,915        | +6,2     | 0,467        |
| Presse                        | -0,3               | 0,966        | +1,3          | 0,953        | +5,3     | 0,722        | +2,2     | 0,605        |
| <b>Grenache (5)</b>           |                    |              |               |              |          |              |          |              |
| Goutte                        | +0,4               | 0,967        | +5,2          | 0,491        | -1,3     | 0,932        | -3,9     | 0,439        |
| Presse                        | +4,8               | 0,948        | +7,1          | 0,248        | -0,1     | 0,877        | -13,8    | 0,502        |
| <b>Merlot (4)</b>             |                    |              |               |              |          |              |          |              |
| Goutte                        | +9,0               | <b>0,011</b> | +10,4         | <b>0,082</b> | +4,8     | <b>0,050</b> | +4,1     | 0,238        |
| Presse                        | +4,3               | 0,422        | +16,3         | 0,508        | +6,2     | <b>0,074</b> | +4,4     | 0,159        |
| <b>Syrah (4)</b>              |                    |              |               |              |          |              |          |              |
| Goutte                        | +4,0               | 0,459        |               |              | +6,0     | 0,240        | +8,9     | 0,105        |
| Presse                        | +7,0               | <b>0,016</b> |               |              | +6,6     | 0,168        | +11,3    | <b>0,047</b> |
| <b>Moyenne Goutte (25)</b>    | +3,3               | 0,760        | +3            | 0,195        | +4,5     | 0,468        | +5       | 0,668        |
| <b>Moyenne Générale (50)</b>  | +3                 | 0,665        | +5,7          | <b>0,049</b> | +4       | 0,306        | +3       | 0,605        |

- ( ) nombre d'essais réalisés.
- Les valeurs de P Value en gras sont significatives à 5%.

En réalisant une analyse de Duncan, sur l'ensemble des essais réalisés quelque soit le cépage, et le millésime (moyenne générale), il n'y a pas de différences significatives, entre les modalités Témoin et Enzymé, sauf sur les variations rencontrées dans le cadre de l'extraction des tanins.

Les écarts importants rencontrés dans le cadre des essais effectués sur le cépage Syrah, sont expliqués par une vigne conduite à haut rendement, et donc des raisins récoltés en sous-maturité, sauf pour le millésime 2004.

### 3.2.1.2- Résultats obtenus sur vins jeunes

Dans tout process fermentaire, la composante essentielle est le vin fini. L'ensemble des résultats liés aux mesures effectuées dans le cadre de l'extraction de la couleur est présenté dans le tableau n°4.

**Tableau 4** : Gains et significativité liés à l'extraction de la couleur, sur vins finis, tous millésimes confondus et quelle que soit l'enzyme (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007).

| Cépages                       | Anthocyanes (mg/l) |         | Tanins (mg/l) |         | IPT      |              | ICM      |              |
|-------------------------------|--------------------|---------|---------------|---------|----------|--------------|----------|--------------|
|                               | Gain (%)           | P Value | Gain (%)      | P Value | Gain (%) | P Value      | Gain (%) | P Value      |
| <b>Cabernet Sauvignon (3)</b> | +2,9               | 0,576   |               |         | -2,3     | 0,917        | +12      | <b>0,025</b> |
| <b>Duras (4)</b>              | -1,8               | 0,579   | +0,6          | 0,978   | +4,6     | 0,399        | +1,6     | 0,882        |
| <b>Gamay (5)</b>              | +7,0               | 0,102   | +8,0          | 0,109   | +7,3     | <b>0,023</b> | +4,8     | 0,231        |
| <b>Grenache (5)</b>           | +1,0               | 0,901   | +0,05         | 0,998   | -0,2     | 0,877        | -2,5     | 0,800        |
| <b>Merlot (4)</b>             | -3,9               | 0,181   | +4,5          | 0,869   | +6,5     | 0,100        | +6,25    | 0,217        |
| <b>Syrah (4)</b>              | +7,4               | 0,641   |               |         | +3       | 0,362        | +18,0    | 0,266        |
| <b>Moyenne (25)</b>           | + 2,1              | 0,763   | +3,3          | 0,685   | +3,2     | 0,204        | +6,7     | 0,244        |

- ( ) nombre d'essais réalisés.
- Les valeurs de P Value en gras sont significatives à 5%.

Les gains observés sont plus élevés que ceux obtenus au stade « décuvaage » et s'expliquent très largement avec les combinaisons et/ou polymérisations des molécules en présence, au cours de la FML et de l'élevage.

Après la réalisation de l'analyse de variance, sur l'ensemble des résultats, il apparaît que les pourcentages les plus significatifs sont, pour tous les paramètres mesurés, et plus particulièrement l'IPT, associés au cépage Gamay. Cependant, les gains rencontrés sur le cépage Gamay sont fortement conditionnés par des différences importantes rencontrées entre les modalités « Témoin » et « Enzymé » des essais réalisés lors du millésime 2003 (7).

De plus, dans le cadre des essais réalisés sur le cépage Gamay, les raisins sont vinifiés en grappes entières (vinification beaujolaise). Afin d'établir si cette vinification pouvait induire une variation dans les résultats, une modalité supplémentaire, le pigeage, a été introduite lors des millésimes 2004 et 2005. Comparativement à cette modalité (pigeage), celle associant l'utilisation d'enzymes ne présente plus d'écart significatif par rapport au Témoin (7).

Le détail des mesures réalisées sur les cépages Gamay (7) et Merlot (8) est disponible dans les références écrites présentées.

En réalisant une analyse de Duncan, sur l'ensemble des essais réalisés quelque soit le cépage, et le millésime (moyenne générale), il n'y a pas de différences significatives, entre les modalités Témoin et Enzymé, sur l'ensemble des critères évalués sur vins jeunes.

### 3.2.2- Résultats obtenus sur vins finis, sur les minivinifications et les grands volumes, à maturité

Les différences significatives concernant l'extraction de la couleur, et ce quel que soit le cépage, le millésime voire la préparation enzymatique employée, étant peu importantes, il est apparu nécessaire d'apporter des éléments complémentaires, et plus particulièrement sur l'implication éventuelle de la mise en fermentation de petits volumes. Ainsi, des essais comparatifs de volumes de vinification ont donc été réalisés. Les volumes ainsi mis en œuvre ont été les suivants :



- Cabernet sauvignon (2005) : 60 et 300 Kg
- Duras (2005) : 40 et 800 Kg – (2006) : 70 et 100 Kg
- Gamay (2005) : 40 et 4000 Kg
- Merlot (2005) : 30 et 100 Kg
- Syrah (2005) : 60 et 300 Kg

**Tableau 5** : Gains et significativité obtenus en anthocyanes, tanins, IPT et ICM sur vins finis, pour l'ensemble des cépages vinifiés en petits et grands volumes (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007).

| Variables                      | Comparaison<br>petits/grands volumes<br>(P Value) | Gain (%) obtenu entre les deux modalités<br>'Témoin' et 'Enzymé' |                  |
|--------------------------------|---|--|------------------|
|                                |   | Grand Volume (6)   | Petit Volume (6) |
| <b>IPT (12)</b>                | 0,406   | + 6,25   | -0,5             |
| <b>Anthocyanes (mg/l) (12)</b> | 0,280   | -0,10  | +10,7            |
| <b>ICM (12)</b>                | 0,946   | +1   | +1,4             |
| <b>Tanins (mg/l) (12)</b>      | 0,466   | -6,8   | +5,2             |

- ( ) nombre d'essais réalisés.
- Les valeurs de P Value en gras sont significatives à 5%.

Nous n'avons pas observé de différences significatives sur les pourcentages de gains obtenus pour une même matière première, vinifiée en petits ou grands volumes (tableau n°5). De plus, dans la plupart des cas, les gains sont plus favorables aux petits volumes, ceci pouvant s'expliquer par une optimisation des échanges entre les phases liquide et solide.

Ainsi les résultats obtenus lors des expérimentations menées en petits volumes ne sont pas à l'origine d'une moindre différence entre les modalités testées.

### 3.2.3- Résultats obtenus sur vins finis, sur les minivinifications réalisées à plusieurs dates de maturité

Afin d'apporter des éléments complémentaires concernant l'effet de l'enzymage sur l'extraction de la couleur, des essais en faisant varier les dates de récolte ont été mis en place :

- Cabernet Sauvignon (2004) : J0 (Maturité) et J+12 (surmaturité)
- Duras (2005) : J0 (Maturité) et J-7 (sous-maturité) – (2006) : J0 (maturité) et J-12 (sous-maturité)
- Gamay (2005) : J0 (maturité) et J-7 (sous-maturité)
- Grenache (2003) : J0 (maturité) et J+10 (sur-maturité) – (2004) : J0 (maturité), J+6 et J+13 (sur-maturité) – (2005) : J0 (maturité) et J-7 (sous-maturité) – (2006) : J0 (maturité) et J-7 (sous-maturité)

Les gains obtenus en fonction des dates de récolte sont présentés dans le tableau n° 6 suivant.

**Tableau 6 :** Gains obtenus pour les anthocyanes, tanins, IPT et ICM, pour les 5 cépages récoltés à maturité, sous-maturité et sur-maturité (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

| Cépage                           | Anthocyanes (mg/l) |         | Tanins (mg/l) |         | IPT      |              | ICM      |         |
|----------------------------------|--------------------|---------|---------------|---------|----------|--------------|----------|---------|
|                                  | Gain (%)           | P Value | Gain (%)      | P Value | Gain (%) | P Value      | Gain (%) | P Value |
| <b>Cabernet Sauvignon (1)</b>    |                    |         |               |         |          |              |          |         |
| Maturité                         | -6,4               | 0,576   |               |         | -1,6     | 0,917        | +10      | 0,025   |
| Sur-maturité                     | -1,6               |         |               |         | -6,4     |              | -3       |         |
| <b>Duras (2)</b>                 |                    |         |               |         |          |              |          |         |
| Maturité                         | -2                 | 0,579   | +1            | 0,978   | +5       | 0,399        | +2       | 0,882   |
| Sous-maturité                    | +18,5              | 0,403   | +21,8         | 0,283   | +18,5    |              | +17,4    | 0,543   |
| <b>Gamay (1)</b>                 |                    |         |               |         |          |              |          |         |
| Maturité                         | +12                | 0,101   | +9,1          | 0,109   | +12      | <b>0,023</b> | +5,4     | 0,231   |
| Sous-maturité                    | +18,3              |         | +11,7         |         | +18,2    |              | +10,8    |         |
| <b>Grenache (4)</b>              |                    |         |               |         |          |              |          |         |
| Maturité                         | +1                 | 0,901   | 0             | 0,998   | 1        | 0,877        | -2       | 0,800   |
| Sur-maturité                     | +6,5               | 0,612   |               |         | +6,5     | 0,614        | +12      | 0,412   |
| Sous-maturité                    | +3,4               | 0,905   | +10,4         | 0,638   | +3,4     | 0,937        | -2       | 0,827   |
| <b>Syrah (1)</b>                 |                    |         |               |         |          |              |          |         |
| Maturité                         | +5,2               | 0,641   |               |         | +5,2     | 0,362        | +9,8     | 0,266   |
| Sur-maturité                     | -9,5               |         |               |         | -9,5     |              | -2       |         |
| <b>Moyenne Surmaturité (6)</b>   | -1                 | 0,902   |               |         | +7       | 0,490        | +1       | 0,780   |
| <b>Moyenne sous-maturité (7)</b> | +10                | 0,642   | +17           | 0,295   | +6       | 0,476        | +7       | 0,241   |

- ( ) nombre d'essais réalisés.
- Les valeurs de P Value en gras sont significatives à 5%.

Les différences observées entre les matières premières enzymées, récoltées à date optimale (ou plus précisément à la date des viticulteurs) et celles récoltées en sous-maturité, sont importantes, et plus particulièrement pour les cépages Duras et Gamay. Ces différences concernent tous les critères, sachant que la qualité de la couleur et des tanins doit être différenciée de la quantité.

A l'occasion de certains millésimes, des raisins doivent être vendangés précocement et dans ces cas particuliers, l'utilisation de préparations enzymatiques prend tout son sens ; en effet, à partir des résultats obtenus sur de la matière première qualifiée comme en sous-maturité, nous avons pu mettre en évidence l'action des enzymes pectolytiques de façon quasi-systématique.

A l'inverse, sur des vendanges à maturité, il est nécessaire de raisonner l'utilisation des préparations commerciales dites extractrices de couleur, en fonction du cépage et de l'itinéraire de vinification et plus particulièrement, de la macération.

### 3.3. Extraction des jus de goutte – Pressurage

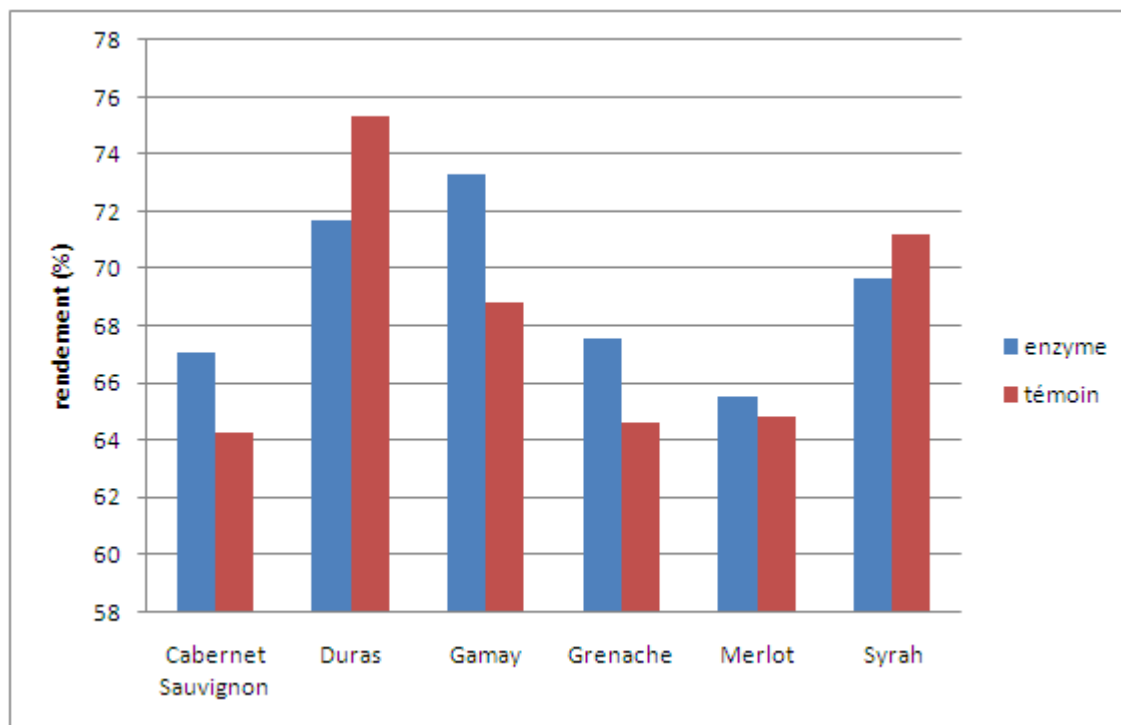
#### 3.3.1- Rendement au pressurage

L'effet de l'introduction des préparations enzymatiques dites extractrices de couleur sur les raisins à l'encuvage, permet d'augmenter le rendement total au pressurage. Ceci a deux conséquences techniques pour le patricien. Il peut au choix :

- augmenter les rendements de pressurage si le cycle est constant (durée et pression)
- diminuer la durée de pressurage pour un même rendement en jus (volume de jus).

Les modalités Témoin et Enzymées des essais qui ont été conduits et répertoriés dans le tableau n°1 et vinifiés dans les conditions référencées dans le tableau n°2, sont pressées dans les mêmes conditions.

La figure n°3 présente les rendements de pressurage obtenus pour l'ensemble des essais associés à un même cépage. On observe ainsi un bénéfice pour les cépages suivants : Gamay (6,2% de gain/Témoin) ; Cabernet Sauvignon (4,5% de gain/Témoin) et le Grenache (4,3% de gain/Témoin). Les effets sont moindres, voire nuls pour les autres cépages. Cette absence de différence est peut être à relier à l'itinéraire de vinification et plus particulièrement sur les durées de macération (tableau n°2), notamment pour le Duras (10 jours) et pour le Merlot (20 jours). Cependant, dans certains cas, à durée de macération égale (cas de la Syrah et du Grenache avec 7 jours de macération) les effets de l'enzymage diffèrent (effet dans un cas et pas dans l'autre).

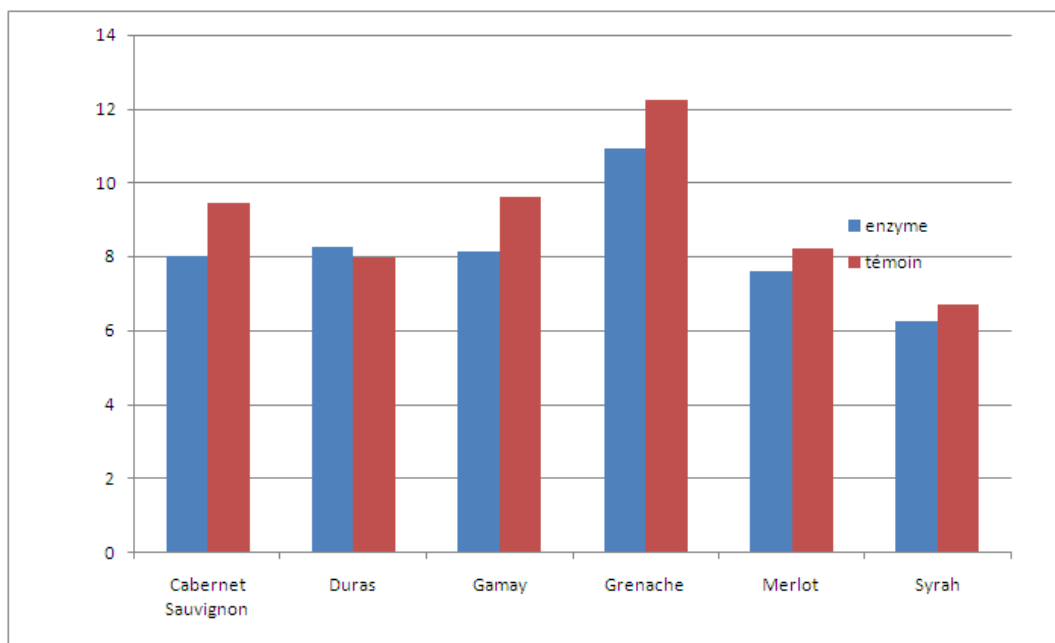


**Figure 3** : Pourcentage de rendement au pressurage pour les modalités « enzymées » et « témoin » des 6 cépages testés (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

### 3.3.2- Quantités de marcs

En complément des mesures effectuées sur les volumes de jus de goutte et de jus de presse, les quantités de marcs obtenues après pressurage sont pesées (Figure n°4). Ainsi, on peut constater à nouveau l'action des enzymes sur les polysaccharides pariétaux et plus particulièrement sur leur dégradation ; cette action est variable en fonction des cépages et les écarts les plus significatifs sont observés sur les cépages Cabernet sauvignon (15% de réduction/Témoin), Gamay (15% de réduction/Témoin) et Syrah (7% de réduction/Témoin).

Il est rappelé que dans le cadre de ces mesures, il s'agit bien des enzymes ajoutées à l'encuvage et non spécifiquement dans le cadre du pressurage.

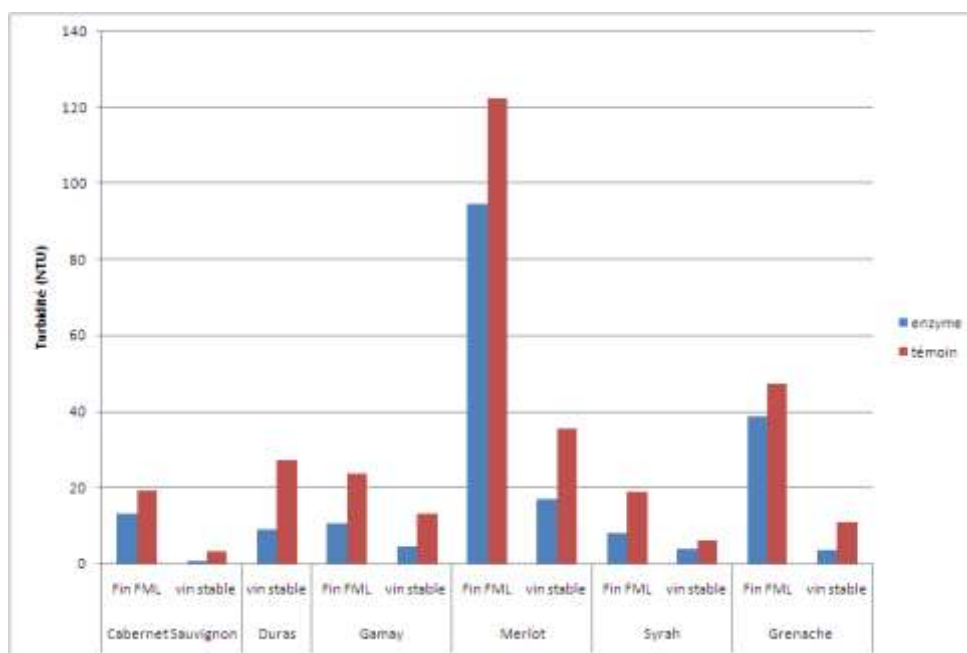


**Figure 4 :** Quantités de marcs (Kg) obtenues pour les modalités « Témoin » et « Enzymées » pour les 6 cépages testés (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

### 3.3.3- Clarification

A partir de l'action des enzymes sur les polysaccharides pariétaux au cours de la macération, il est possible de montrer leurs incidences sur la clarification des vins, une fois les fermentations alcoolique et malolactique terminées (Figure n°5). Les différences de turbidité observées entre les modalités avec et sans ajout d'enzymes sont sans équivoque : Gamay : 15% de réduction/Témoin au stade fin FML et 52% sur vin stable ; Merlot : 23% de réduction/Témoin au stade fin FML et 52% sur vin stable ; Grenache : 18% de réduction/Témoin au stade fin FML et 67% sur vin stable, mais sont le reflet de l'absence de mise en œuvre d'opérations pré-fermentaires telles que les macérations pré-fermentaires à chaud (MPC), pour lesquelles la clarification des jus est un problème particulier. Le traitement des vins de presse relève également d'un cas particulier, qui n'a pas été abordé dans notre étude.

Ainsi, sauf dans quelques cas particuliers (traitement des jus ou vins de presse et/ou opérations pré-fermentaires telles que les MPC, et/ou vendanges altérées), il n'est pas utile d'apporter des enzymes actives sur les polysaccharides pariétaux après pressurage, quand elles ont été ajoutées sur vendange.



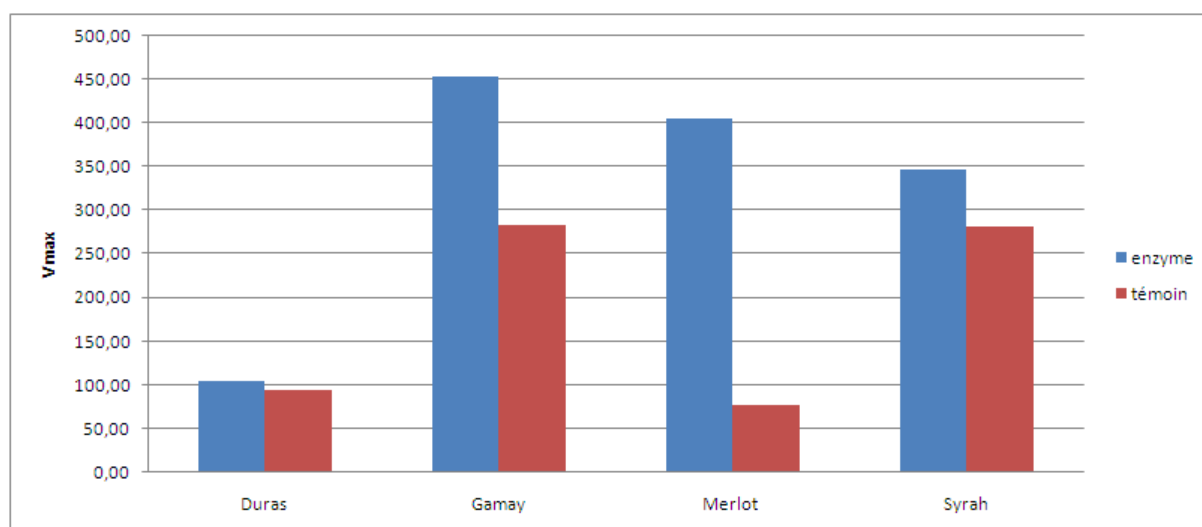
**Figure 5 :** Turbidité des vins fin FML et stables des 2 modalités « Témoin » et « Enzymées » des 6 cépages testés (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

### 3.3.4- Filtrabilité

De même, la filtrabilité, évaluée sur le vin stabilisé avant mise en bouteilles, est influencée par l'utilisation des enzymes au cours de la macération pré-fermentaire. L'activité résiduelle ou l'action en amont des enzymes sur les polysaccharides pariétaux (et non les glucanes de *Botrytis cinerea*) permet d'augmenter le volume de filtration.

Selon la nature de la vendange, son état sanitaire, l'effet des enzymes est plus ou moins marqué : Duras (+ 10% de gain/témoin), Gamay (+ 37% de gain/Témoin) ; Merlo (+ 81% de gain/Témoin) et Syrah (+ 19% de gain/Témoin) (Figure 6).

Il est rappelé qu'un vin est défini comme présentant un colmatage rapide si l'indice calculé est inférieur à 400 et inversement, défini par un colmatage lent si l'indice calculé est supérieur à 500.



**Figure 6 :** Filtrabilité des vins avant mise en bouteilles évaluée par le Vmax (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

### 3.3.5- Qualité globale et profil produit

Les dégustations ont été réalisées suivant la description faite dans la partie 2 de l'article, sur vins jeunes et un an après mise en bouteilles.

Les résultats sont présentés par cépages :

**Gamay** : Globalement sur l'ensemble des essais effectués, le jury a jugé que les profils aromatiques des deux modalités, Témoin et Enzyme, étaient très proches. Aucune différence significative n'apparaît pour les descripteurs olfactifs.

En bouche, les deux profils se distinguent plus nettement, les vins dont les raisins ont été enzymés présentant une intensité tannique significativement supérieure.

**Merlot** : Les profils sensoriels des vins des deux modalités sont organoleptiquement proches, notamment après un an de conservation en bouteilles. Toutefois, la structure tannique des vins a tendance à être renforcée dans le cas d'un enzymage (astringence souvent plus marquée).

**Syrah** : Il n'existe que très peu de différences significatives, attribuables à la pratique de l'enzymage, au cours des quatre années d'expérimentation. Les autres facteurs étudiés en interactions sont beaucoup plus influents (température, date de récolte). L'effet croisé de ces facteurs avec l'enzymage n'est pas non plus mis en évidence.

**Cabernet sauvignon (30)** : Il n'existe pas d'effets significatifs mis en évidence par l'enzymage.

**Cabernet sauvignon (33)** : L'enzymage a peu modifié le profil sensoriel de vins dans ce cas. Il a permis de renforcer la structure et l'amertume des vins.

**Duras** : Globalement l'analyse sensorielle réalisée par le jury de dégustation montre que l'utilisation d'enzymes sur vendange manquant de maturité permet d'améliorer légèrement la complexité aromatique aussi bien au nez qu'en bouche avec des notes fruitées plus marquées. On observe également une augmentation de la perception tannique (plus d'astringence).

Sur vendange mûre aucune différence aromatique n'est mise en évidence par rapport au témoin. Seule la perception tannique est augmentée dans le cas d'un enzymage. Avec quelque fois une astringence et une amertume qui peut être désagréable.

**Grenache** : Les vins dont la vendange a été enzymée sont souvent très proches des vins témoins. Néanmoins, parfois, l'enzymage conduit à des vins présentant des notes fruitées et florales plus intenses.

Il est important de préciser qu'aucun des lots dits « enzymés » n'a été déprécié suite à la perception de goûts phénolés sur vins finis.

### 3.4. Dégradation des polysaccharides pariétaux par les enzymes

62 vins issus des expérimentations sur cépages Grenache, Duras et Gamay (présentés Tableau 1) ont été analysés par la méthode des acétates d'alditols. Un traitement statistique a été réalisé toutes enzymes confondues (Tableau 7) afin de mettre en évidence un comportement général des enzymes.

Ces résultats démontrent bien une efficacité des enzymes sur les zones hérissées des polysaccharides pariétaux du raisin.

En effet, on observe une modification des PRAGs (polysaccharides riches en arabinose et galactose = arabinanes +AG + AGP + galactanes) qui se traduit par une désarabinosylation partielle. Cette

diminution d'environ 37% des arabinoses terminaux est probablement liée à des activités arabinofuranosidase ou arabinanase. Cette évolution a également été observée dans des travaux antérieurs par VUCHOT (10) et DOCO *et al.* (11), de même que dans des travaux plus récents de M.A. DUCASSE (12 et 13). Il y a une tendance identique, quoique de moindre ampleur, pour le galactose. Ces modifications sont importantes car connues pour modifier la structure spatiale de ces molécules et donc éventuellement leurs interactions avec les autres composés du vin.

Le fucose est augmenté dans les vins. Cette augmentation significative est couplée à une augmentation du 2-0-Méthyl Fucose. Ces oses sont caractéristiques du RGII ce qui peut laisser penser à une libération de RGII (12 et 13). On devrait cependant dans ce cas observer une augmentation conjointe du 2-0-Méthyl Xylose et de l'Apiose, ce qui n'est pas très nette.

On observe une diminution d'environ 21% du rhamnose qui montre une hydrolyse des rhamnogacturonanes de type I (RGI)

Une diminution du glucose est aussi observée, ce qui met en évidence une hydrolyse possible des glucanes levuriens libres ou liés aux mannoprotéines, cependant aucune mesure liée aux activités - $\beta$ -1,3- et - $\beta$ -1,6- glucanase n'ont été effectuées sur les préparations utilisées dans l'étude. Cette libération pourrait provenir de l'hydrolyse de la cellulose ou d'autres glycosides.

**Tableau 7 :** Mesure des oses constituant les polysaccharides par la méthode des acétates d'alditols pour 63 vins issus des essais sur les cépages Grenache, Duras et Gamay (2004-2007) après mise en bouteille ou après un an de bouteille. Le témoin est exprimé en mg/l. Les modalités enzymées sont exprimées en % du Témoin. (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

|                          | P Value            | Témoin | Enzymé      |
|--------------------------|--------------------|--------|-------------|
| <b>2-0-Méthyl Fucose</b> | <b>0,079</b>       | 2,7    | 20%         |
| <b>2-0-Méthyl xylose</b> | 0,299              | 2,7    | -6%         |
| <b>Apiose</b>            | 0,597              | 5,3    | 9%          |
| <b>Arabinose</b>         | <b>&lt; 0,0001</b> | 116    | <b>-37%</b> |
| <b>Fucose</b>            | <b>0,053</b>       | 2,0    | <b>28%</b>  |
| <b>Galactose</b>         | 0,204              | 123    | -7%         |
| <b>Glucose</b>           | <b>0,001</b>       | 28     | <b>-24%</b> |
| <b>Mannose</b>           | 0,757              | 101    | 0%          |
| <b>Rhamnose</b>          | <b>0,003</b>       | 27     | <b>-21%</b> |
| <b>Xylose</b>            | 0,546              | 0,3    | -34%        |

#### **Les enzymes commerciales sont elles toutes équivalentes dans leur effet sur les polysaccharides ?**

Afin de répondre à cette question, cinq enzymes commerciales ont été testées en minivinification (1hl) sur trois matières premières de Grenache.

Nous retrouvons sur les vins de gouttes (Tableau 8) la modification des PRAGs observée précédemment, ainsi que l'hydrolyse des glucanes levuriens. Par contre, avec seulement trois matières premières, la diminution du Rhamnose n'est pas du tout significative.

Sur les vins de presse (Tableau 9), les résultats mettent clairement en évidence une concentration plus importante en RGII dans les modalités enzymées. Les parois des cellules du raisin fragilisées par les enzymes doivent libérer plus facilement du RGII lors du pressurage. Ce polysaccharide a la propriété de chélater les cations divalents comme le plomb lorsqu'il est sous forme dimère, comme c'est le cas dans le bol alimentaire, ce qui rend sa présence dans le vin très intéressante.

Toutes les enzymes utilisées sont assez proches au niveau de leur action sur les polysaccharides du raisin, cependant certaines se distinguent par une libération plus importante de glucose, arabinose et fucose (Tableaux 8 et 9).

**Tableau 8 :** Vins de goutte. Mesure des oses constituant les polysaccharides par la méthode des acétates d'alditols. Millésime 2007 après mise en bouteille. Cépage grenache. Le témoin est exprimé en mg/l. Les modalités enzymées sont exprimées en % du Témoin. (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

|                          | P Value      | Témoin | CE 6 | CEI1        | CE10        | CE9         | CE12        |
|--------------------------|--------------|--------|------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>2-0-Méthyl Fucose</b> | 0,813        | 2,3    | 14%  | 29%         | 29%         | 29%         | 29%         |
| <b>2-0-Méthyl xylose</b> | 0,854        | 3,0    | 0%   | -11%        | -22%        | 0%          | -22%        |
| <b>Apiose</b>            | 0,994        | 5,3    | 13%  | 6%          | 0%          | 6%          | 6%          |
| <b>Arabinose</b>         | <b>0,029</b> | 111    | -38% | <b>-50%</b> | <b>-51%</b> | -30%        | -38%        |
| <b>Fucose</b>            | 0,299        | 1,7    | 60%  | 40%         | 60%         | 40%         | 60%         |
| <b>Galactose</b>         | 0,785        | 122    | -8%  | -15%        | -19%        | -4%         | -4%         |
| <b>Glucose</b>           | <b>0,028</b> | 32     | -20% | -19%        | <b>-45%</b> | <b>-40%</b> | <b>-38%</b> |
| <b>Mannose</b>           | 0,667        | 94     | 10%  | 3%          | -4%         | 15%         | 1%          |

**Tableau 9 :** Vins de presse. Mesure des oses constituant les polysaccharides par la méthode des acétates d'alditols. Millésime 2007 après mise en bouteille. Cépage grenache. Le témoin est exprimé en mg/l. Les modalités enzymées sont exprimées en % du Témoin. (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

|                          | Pvalues      | Témoin | CE 6 | CEI1 | CE10        | CE9         | CE12        |
|--------------------------|--------------|--------|------|------|-------------|-------------|-------------|
| <b>2-0-Méthyl Fucose</b> | 0,268        | 2,7    | 25%  | 63%  | 75%         | 88%         | 138%        |
| <b>2-0-Méthyl xylose</b> | 0,247        | 2,3    | 14%  | 43%  | 57%         | 86%         | 129%        |
| <b>Apiose</b>            | 0,205        | 5,3    | 13%  | 44%  | 56%         | 88%         | 113%        |
| <b>Arabinose</b>         | 0,133        | 104    | -21% | -9%  | 5%          | 71%         | 45%         |
| <b>Fucose</b>            | <b>0,038</b> | 1,7    | 60%  | 100% | <b>140%</b> | <b>140%</b> | <b>160%</b> |
| <b>Galactose</b>         | 0,359        | 100    | 6%   | 21%  | 34%         | 50%         | 91%         |
| <b>Glucose</b>           | 0,596        | 46     | -53% | -4%  | 78%         | 71%         | 380%        |
| <b>Mannose</b>           | 0,535        | 95     | -21% | -10% | 39%         | 24%         | 156%        |
| <b>Rhamnose</b>          | 0,256        | 25     | -23% | -3%  | 14%         | 50%         | 46%         |

### 3.5. Comparaison des préparations enzymatiques utilisées

L'objectif initial de l'étude, était de pouvoir rapprocher les profils d'activités enzymatiques mesurés sur les préparations enzymatiques (Figures 1 et 2) des effets technologiques annoncés et plus spécifiquement de l'effet lié à l'extraction de la couleur. Lors des deux premières années, (2002 et 2003), les essais ont été menés sur trois préparations commerciales, puis uniquement sur deux d'entre elles lors des trois années suivantes, l'objectif étant d'accentuer les essais liés aux volumes de vinification et/ou à la date de vendange de manière à expliquer l'absence de résultats pour certains cépages et/ou millésimes.

Dans les paragraphes précédents, il a été montré que les résultats obtenus sur l'extraction de la couleur sont peu concluants ; c'est la raison pour laquelle il ne nous est pas possible de faire de différences entre les préparations commerciales utilisées.



Cependant, la dernière année d'étude (2007) a été l'occasion d'ajouter des préparations enzymatiques présentant des profils d'activités enzymatiques différents des trois premières préparations testées ; ceci a été réalisé uniquement sur Grenache (tableau n°10).

**Tableau 10** : Résultats à la mise en bouteilles des vins de Grenache, comprenant 6 modalités différentes, dont 5 préparations enzymatiques (Résultats Groupe National FranceAgriMer 2002-2007)

| Paramètres                   | Risque $\alpha$ | Témoin          | CE6             | CE12            | CE10            | CE9             | CE11            |
|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Intensité Colorante Corrigée | 15%             | 6,47            | 6,63            | 6,83            | 6,80            | 6,85            | 6,60            |
| <b>Nuance Corrigée</b>       | <b>3%</b>       | <b>0,54 (A)</b> | <b>0,52 (A)</b> | <b>0,54 (A)</b> | <b>0,54 (A)</b> | <b>0,54 (A)</b> | <b>0,53 (A)</b> |
| Tanins                       | 43%             | 1,74            | 1,89            | 1,87            | 1,86            | 1,87            | 1,92            |
| Composés Phénoliques         | 78%             | 33,65           | 33,67           | 33,80           | 35,17           | 34,47           | 34,13           |
| <b>Acidité Totale</b>        | <b>3%</b>       | <b>3,00 (B)</b> | <b>3,24 (A)</b> | <b>3,27 (A)</b> | <b>3,22 (A)</b> | <b>3,20 (A)</b> | <b>3,21 (A)</b> |
| pH                           | 44%             | 3,59            | 3,55            | 3,56            | 3,58            | 3,57            | 3,58            |
| Acidité Volatile             | 32%             | 0,41            | 0,45            | 0,45            | 0,46            | 0,44            | 0,48            |
| TAV                          | 78%             | 12,48           | 12,39           | 12,37           | 12,52           | 12,50           | 12,49           |
| Anthocyanes Libres Totales   | 38%             | 179,67          | 176,33          | 166,67          | 175,67          | 168,67          | 175,67          |

*Groupes de significativité (A) et (B)*

A nouveau, nous ne notons pas de gains en couleur pour les modalités « Enzymées » et les différences obtenues sur les concentrations en tanins n'apparaissent pas significatives sur vins finis.

#### 4. Conclusion

Le Code relatif aux préparations enzymatiques, ainsi que les pratiques associées ont beaucoup évolué (<http://www.oiv.int>). Aujourd'hui, les préparations sont autorisées pour les applications suivantes :

- filtrabilité sur moûts (OENO 14/04) et sur vins (OENO 15/04) ;
- libération d'arômes sur moût (OENO 16/04) et sur vins (OENO 17/04) ;
- libération de composés levuriens sur vins (OENO 18/04) ;
- clarification sur moûts (OENO 11/04) et sur vins (OENO 12/04) ;
- macération sur moûts (OENO 13/04) ;
- hydrolyse des glucanes (OENO 03/85) ;
- hydrolyse de l'urée (OENO 2/95).

Dans le cadre de ces applications, des activités enzymatiques y sont associées, telles que définies dans le codex (OENO 14/2003) : pectinases, cellulases, hemicellulases, glucanases ( $\beta$ 1,3 ;  $\beta$ 1,6),  $\beta$ glucosidase, cinnamoyl estérase). Cependant, on peut constater à partir des mesures réalisées (**partie 3.1**) que nous retrouvons la totalité des activités enzymatiques, qu'elles soient pectolytiques, cellulolytiques, hemicellulolytiques, glucanase ( $\beta$ 1,4), glycosidasiques ; les variations entre préparations sont quantitatives et non qualitatives.

L'utilisation des enzymes en œnologie peut être un outil performant (**voir encadré**). Dans le cadre des essais menés en vinifications en rouge, l'objectif d'une meilleure extraction de la couleur n'est pas atteint systématiquement pour tous les cépages, et tous les millésimes. Ces préparations ont été choisies pour présenter des différences de profils enzymatiques qui n'apparaissent pas en terme d'efficacité pour tous les cépages testés et quel que soit le millésime.

Ainsi, dans le cadre de nos essais, nous avons pu obtenir avec l'ajout d'enzymes :

- une augmentation de l'extraction des jus de goutte (gain économique) ;
- une augmentation du rendement total en jus au pressurage (gain économique) ;
- une meilleure clarification des vins finis (avec ajout sur raisins) (garantie d'une protection de la qualité) ;
- une diminution des quantités de marcs (garantie d'une protection de la qualité) ;

- un volume de filtration augmenté, par rapport aux vins dits « Témoin » (gain économique et en qualité);
- un profil produit peu différencié du vin Témoin, mais jugé plus tannique.

L'ajout des préparations enzymatiques sur des raisins en sous- maturité a permis de mettre en évidence un effet systématique dans le cadre des paramètres liés à l'extraction de la couleur (anthocyanes, tanins, IPT et ICM), ce qui permettrait d'éviter une extraction mécanique non sélective et risquée dans ces conditions.

Ces mêmes essais ont été conduits en vinifications en rosé (9) et en blanc.

### Remerciements

Ces travaux ont été conduits avec l'aide financière de FranceAgriMer et le soutien technique et scientifique de M. Michel Moutounet de l'INRA de Montpellier et M. Alain Bertrand, professeur émérite à l'Université Victor Segalen Bordeaux 2.

### Bibliographie

- (1) WIGHTMANN J.D., Price S.F., Watson B.T., and Wrolstad R.E 1997. Some effects of processing enzymes on anthocyanins and phenolics in Pinot noir and Cabernet sauvignon wines. *Am.J.Enol.Vitic.*48 : 39-47.
- (2) LAPERCHE S.R. and Görtges S. 2001. Highly active processing enzyme preparations for red winemaking. *The Australian Grapegrower & Winemake, Annual Technical Issue*, 99-111
- (3) GUNATA Z. 1995. Etude et exploitation par voie enzymatique des précurseurs d'arômes du raisin de nature glycosidique. *Revue des Œnologues* 74 : 22-27.
- (4) CANAL-LLAUBERES Rose-Marie, Pouns J.L., 2002. Les enzymes de macération en vinification en rouge – Influence d'une nouvelle préparation sur la composition des vins. *Revue des Œnologues* 104, 29-31.
- (5) FERNANDEZ O., Bajard-Sparrow C., Fauveau C., and Pellerin P. 2005. Optimisation des étapes préfermentaires des vendanges blanches avec une formulation enzymatique adaptée – Bilan des essais réalisés en France au cours de la campagne de vinification 2004. *Revue des Œnologues* 116 : 29-31.
- (6) GUERIN Laurence, Sutter D-H., Demois A., Chereau M.et Trandafir G., 2009. Enzymes in winemaking: determination and comparison of enzymatic profiles of the main commercial preparations. *AJEV* (60:3), p.322-331.
- (7) CHATELET B, Lempereur V. Influence de l'ajout d'enzymes d'extraction dans le cadre de la vinification beaujolaise. *Les 15èmes Entretiens du Beaujolais*. Avril 2006.
- (8) ANNERAUD Charlotte. Influence de l'enzymage sur vins rouges – Applications dans le Bordelais. *Avenir Agricole et Viticole Aquitain*. 15 mai 2009.
- (9) CAYLA Laure, Cottreau Ph., Masson G, Guérin L. Les enzymes en œnologie – 1<sup>er</sup> volet : Intérêt dans les opérations préfermentaires sur vin rosé. *RFO* 234, 2-9.
- (10) VUCHOT P. Contribution à la connaissance des conséquences de l'élevage sur lies sur la composition polysaccharidique des vins. *Doctorat en Sciences des Aliments, Univ. Montpellier II, Montpellier, 2001, p. 185.*
- (11) DOCO Thierry., Vuchot P., Cheynier V et Moutounet M. Structural Modification of Wine Arabinogalactans during Aging on Lees. *2003 Am. J. Enol. Vitic.* 54:3:150-157
- (12) DUCASSE Marie-Agnès, Canal-Llauberes R-M, De Lumley M, Williams P, Souquet J-M, Fulcrand H, Doco T, Cheynier V. Effect of macerating enzyme treatment on the polyphenol and polysaccharide composition of red wines. *Food Chemistry*, 118 (2010) 369-376.
- (13) DUCASSE Marie-Agnès. Impact des enzymes de macération sur la composition en polysaccharides et en polyphénols des vins rouges – Etude de l'évolution de ces composés en solution modèle vin. *Doctorat en Biochimie, Chimie et Technologie des Aliments, Univ. Montpellier II, Montpellier, 2009, p.246.*