

# Les bonnes pratiques de mise en œuvre des pectinases en vinification pour une meilleure maîtrise de l'extraction et de la clarification.

## Impact sur les procédés

### Résumé :

*Les enzymes commerciales sont des outils précieux pour les vinificateurs car elles facilitent grandement les procédés tout en générant des gains substantiels. Cependant leurs conditions d'utilisation sont parfois mal respectées et ne permettent pas de profiter au maximum des avantages que procurent les enzymes. Des essais réalisés en laboratoire et sur le terrain permettent de préciser le mode d'emploi et les tests disponibles pour contrôler leur efficacité en conditions œnologiques.*

L'utilisation des pectinases est de nos jours répandue en vinification pour améliorer les procédés d'extraction (macération, pressurage direct), de clarification (débouillage statique ou assisté) et de filtration en association avec des glucanases. Les applications des enzymes en œnologie ont été précédemment décrites (Canal-Llaubères, 2000) et l'Organisation Internationale de la Vigne et du Vin les a répertoriées dans les résolutions œnologie 2004 (www.oiv.int). Le terme "pectinases" est un terme générique et les préparations de pectinases renferment plusieurs activités enzymatiques (Guérin et al., 2009). Parmi elles, les polygalacturonases, aussi présentes dans le raisin, sont des activités clés pour l'hydrolyse des pectines. Elles dégradent la chaîne principale d'acide

polygalacturonique (Figure 1) et libèrent des molécules de tailles plus petites – polysaccharides riches en arabinose et en galactose, rhamnogalacturonanes et oligosaccharides (Ducasse, 2009). Elles créent ainsi de bonnes conditions d'extraction, en libérant rapidement le moût et favorisent la clarification en permettant l'agglomération et la sédimentation. Elles facilitent donc les procédés.

Les pectinases sont produites par fermentation contrôlée de souches sélectionnées d'*Aspergillus niger* sur des

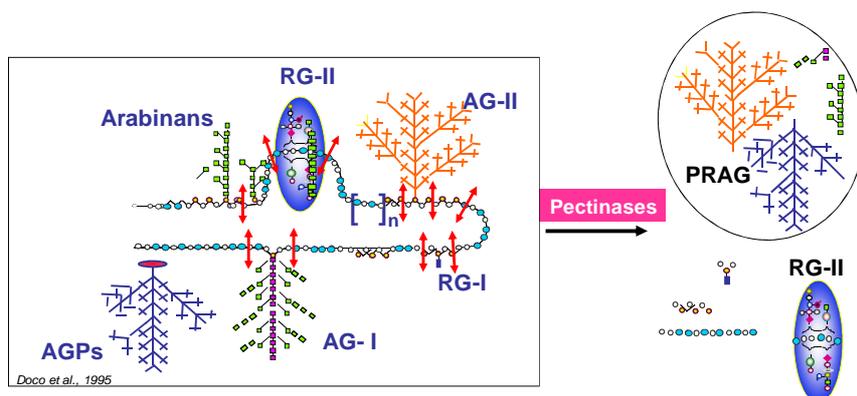


Figure 1. Les pectines du raisin et leur hydrolyse par les pectinases. La chaîne principale des pectines est constituée d'acide galacturonique avec des motifs particuliers que sont les rhamnogalacturonanes (RG-I, RG-II). Les chaînes latérales renferment des arabinans, des arabinogalactanes (AG-I, AG-II) et des arabinogalactanes protéiques (AGP). Doco et al. 1995.

substrats agricoles. Elles sont ensuite formulées soit sous forme solide soit sous forme liquide. Le producteur d'enzymes valide aux différents stades de la production, la qualité de ses enzymes en mesurant leurs activités grâce à un contrôle qualité rigoureux. Chez Novozymes, l'activité de standardisation est la polygalacturonase, notée PGNU. La méthode permet de doser la

## Les bonnes pratiques de mise en œuvre des pectinases en vinification pour une meilleure maîtrise de l'extraction et de la clarification. Impact sur les procédés

libération d'acide galacturonique par colorimétrie. De plus, la majorité de nos pectinases sont purifiées de l'activité cinnamoyl estérase grâce une étape supplémentaire de purification pour éliminer cette activité responsable de la perte de fraîcheur et de fruité des vins (Barbe et Dubourdiou, 1998). C'est le concept FCE – faible en activité cinnamoyl estérase – et nos pectinases FCE renferment moins de 0.5 CINU/1000 PGNU. Nos enzymes solides sont stables plusieurs années (3 à 4 ans) si elles sont conservées à température ambiante et dans un endroit sec, nos enzymes liquides 2 années si elles sont stockées au frais entre 0 et 10°C. Il faut noter que les méthodes de contrôle qualité ne sont pas pertinentes pour évaluer la performance des préparations enzymatiques. Pour cela, l'utilisateur dispose d'outils de validation. Il s'agit de tests simples permettent de contrôler l'efficacité des pectinases tels le test pectine ou test à l'alcool et la mesure de la turbidité.

### Mise en œuvre des pectinases en extraction et en clarification. Tests de performance.

Peu de caves considèrent l'enzyme comme un auxiliaire qui nécessite la mise en œuvre de bonnes pratiques. En l'occurrence, il est nécessaire de répondre à quelques questions *a priori* (à quel moment ? à quelle dose ? pour quels résultats?), de réaliser

des mesures préalables (température, vitesse des flux), d'opter pour une stratégie et enfin de s'assurer de son efficacité par des tests de performance.

L'ensemble de ces informations est rarement consigné, analysé et exploité pour améliorer l'efficacité du traitement enzymatique pourtant essentiel au bon déroulement de nombreuses opérations de vinification. Lorsque ces données sont effectivement recueillies et analysées, les praticiens constatent généralement que les pratiques nécessitent d'être revues : dosage insuffisant et temps de contact trop court sont les principales failles rencontrées. Par ailleurs il existe encore des freins à leur utilisation, basés sur des préjugés sans fondements tels que le manque de maturité de la vendange, les forts degrés alcooliques ou les "basses" températures.

### Conditions de mise en œuvre.

L'enzyme est une **protéine** qui catalyse une réaction biochimique, par exemple pour les pectinases, l'hydrolyse des pectines. L'enzyme est spécifique et le seul frein à son utilisation est la bentonite qui en l'adsorbant la rend inactive. Néanmoins trois clefs de réglage s'imposent à l'utilisateur qui cherche à obtenir les meilleurs résultats : **la dose d'emploi, la température et le temps de contact**. Dans de nombreux cas et en particulier dans les ateliers industriels, les paramètres temps et températures sont pré établis et

## Les bonnes pratiques de mise en œuvre des pectinases en vinification pour une meilleure maîtrise de l'extraction et de la clarification. Impact sur les procédés

difficiles à changer sans entraver le fonctionnement de la cave. La dose devient donc la variable essentielle à maîtriser car elle permet de pallier les deux autres.

Les enzymes sous forme solide (granulés ou poudres) doivent être préalablement dissoutes dans de l'eau ou du moût. Le saupoudrage de l'enzyme sur raisins ne permet pas une bonne dissolution et donc engendre des pertes d'efficacité. La recommandation est de diluer les enzymes dans 10 fois leur poids ou volume. Elles peuvent ensuite être incorporées de différentes façons :

- en arrosant les raisins dans le conquêt de réception (arrosoir ou asperseur)
- en positionnant un cubitainer au dessus de la trémie du fouloir (goutte à goutte)
- en utilisant une pompe doseuse (mélange optimal. cf.



Photo 1 : Système de pompes d'injection (UVICA)

photo 1). Le choix du système de dispersion dépend des unités de production. Sur les sites industriels, la pompe doseuse est l'outil le mieux adapté et le plus précis.

La solution d'enzyme peut être préparée pour une journée de travail si le milieu est tamponné ce qui est le cas pour nos

enzymes. Il est important d'incorporer les enzymes le plus tôt possible dans le procédé de vinification pour profiter de temps de contact plus longs.

### Les tests de performance

Le test pectine ou test à l'alcool est simple à mettre en œuvre. Il est basé sur la propriété des polysaccharides de précipiter en présence d'alcool. Pour faciliter la lecture, il est recommandé d'utiliser de l'alcool acidifié à 1% d' HCl.

Il suffit de placer dans un tube à essai 1 volume de moût et d'ajouter 2 volumes d'alcool puis de mélanger lentement en bouchant le tube avec le pouce (cf. photo 2). Si les pectines sont hydrolysées, le test est négatif et le liquide est translucide



Photo 2 : Le test pectine (Novo Test) ou test à l'alcool

(tubes de gauche). Si des pectines sont encore présentes, il y a formation de flocons (tubes de droite). Dans ce cas, le test est très positif et la présence de pectines non dégradées forte. La dépectinisation du moût (test pectine négatif) est importante pour obtenir de bons résultats au niveau du débouillage car la présence de pectines gêne la formation (agglomération) et la sédimentation des particules du trouble.

## Les bonnes pratiques de mise en œuvre des pectinases en vinification pour une meilleure maîtrise de l'extraction et de la clarification. Impact sur les procédés

En rouge ou en blanc, le test pectine (Novo Test®) permet de contrôler l'efficacité d'un enzymage. Dans les tubes de droite, il est nécessaire de rajouter des pectinases pour dégrader les pectines encore présentes (flocons) et pour obtenir un bon débourbage.

La turbidité permet de contrôler la clarification qu'elle soit effectuée de façon statique ou par flottation. Elle est parfois évaluée à l'œil nu mais cette évaluation est sans valeur pour pouvoir prendre une décision. Il existe des turbidimètres portables et les caves sont de plus en plus équipées. Cet outil est indispensable pour pouvoir gérer la turbidité du moût car son niveau influe sur le style de vin produit.

Par ailleurs, il est possible d'envisager des tests de clarification au laboratoire pour déterminer la dose d'emploi en fonction de la matière première.

En effet la dose nécessaire varie en fonction du cépage (peaux épaisses, peaux fines) et des conditions de maturité, les vendanges en sous maturité étant plus difficiles à pressurer et à clarifier. Il est alors recommandé de travailler à 4 g/100 kg de vendages soit 30% de plus par rapport aux doses habituelles d'emploi.

### Extraction en rouge, blanc et rosés : mise en œuvre, bénéfices – résultats essais terrain

Il faut différencier ici les ateliers où l'on procède à un chauffage de la vendange (généralement à plus de 65°C, donc à des valeurs où la dénaturation des enzymes annihile leur efficacité), des ateliers classiques soit de pressurage, soit de macération.

### Extraction en rouge avec chauffage de la vendange

Dans le cas des thermovinifications, la pratique du **fractionnement** des enzymes est maintenant validée sur le terrain comme la plus efficace, l'effet pouvant se mesurer en clarification (voir chapitre suivant). Cette option impose de disposer de cuves tampons en aval du quai de réception et en amont de la chaîne de thermo – traitement afin de permettre un **temps d'action de 3 à 4 heures avant le chauffage de la vendange.**

Le dimensionnement et le nombre de cuves doivent bien sûr être raisonnés en fonction des débits entrants et sortants, pas toujours faciles à maîtriser. La mesure de la turbidité en fin de clarification, des tests pectines réguliers et l'enregistrement du volume des bourbes produites permettent de s'assurer du bon réglage des paramètres. Les objectifs principaux de cette addition sur raisin sont de favoriser la clarification future en

## Les bonnes pratiques de mise en œuvre des pectinases en vinification pour une meilleure maîtrise de l'extraction et de la clarification. Impact sur les procédés

dépectinisant les jus libérés lors du foulage ou des transferts de vendange, de permettre la formation du bouchon sur les pressoirs à impulsion ou continus et d'améliorer les rendements en jus.

### Extraction en rouge sans chauffage et en blanc et rosé.

Pour les vinifications classiques l'apport d'enzymes se fait sur raisins dès la réception même si la vendange est réfrigérée par passage sur échangeur thermique. Les enzymes sont actives à basse température, leur action est simplement ralentie. En blanc et en rosé, les **gains en volume de jus obtenus** au pressurage varient entre 6% et 15% (compilation de mesures à la Cave Expérimentale de l'ICV depuis 1999). Par ailleurs, cette addition est le plus souvent suffisante pour gérer la clarification sur des durées inférieures à 24 h (voir clarification).

Contrairement aux idées reçues, l'apport sur raisin n'augmente pas la couleur des jus de goutte ou des premières presses en rosé. C'est même l'opposé : la fragilisation des parois des cellules de la pulpe favorise la libération plus importante et plus rapide de jus non coloré. Les mesures réalisées par l'ICV sur l'ensemble goutte + P1 (autour de 0,6 bars) et jusqu'à 6 h de macération à température ambiante confirment ce fait (Figure 2).

En rouge macéré, les gains en rendement en vin fini sont moins importants mais réels : de 3 à 6,5%. Plus les raisins sont mûrs, plus les extractions sont intenses, plus les gains sont faibles. Mais dans tous les cas, lorsqu'on prend la peine de les mesurer, on les retrouve. En outre, en fragilisant les parois des cellules de la pulpe, les enzymes permettent d'obtenir plus tôt des volumes de jus plus importants qui autorisent alors des extractions en phase moins alcoolique : les vins obtenus sont plus fruités. Enfin, ces additions initiales permettent de travailler à température plus modérée, situation qui limite les risques de fermentation alcoolique languissante. Le même effet de fragilisation des parois des cellules de la pulpe peut être constaté sur des vendanges peu mûres d'où l'intérêt de faciliter l'extraction grâce aux pectinases en conditions de maturité faible.

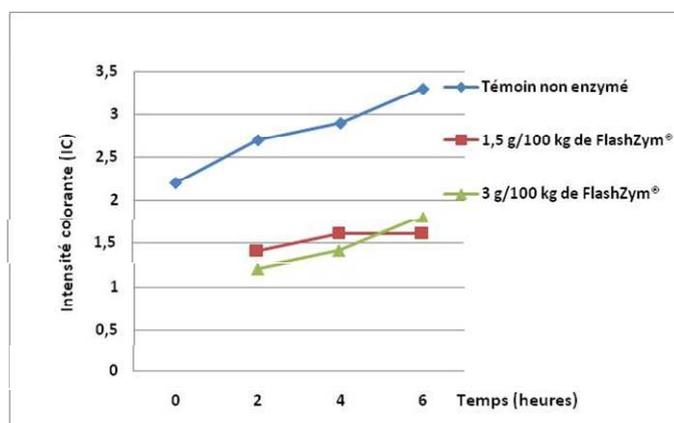


Figure 2. Effet de l'enzymage sur la couleur des jus extraits (essai ICV 2008, 20°C)

# Les bonnes pratiques de mise en œuvre des pectinases en vinification pour une meilleure maîtrise de l'extraction et de la clarification. Impact sur les procédés

## Clarification en rouge, blanc et rosé.

En blanc et en rosé, l'addition d'enzymes sur la vendange fraîche assure généralement la dépectinisation complète des jus et favorise ainsi le débourage. Il reste possible et parfois nécessaire sur certains cépages à pulpe ferme (ou raisins à maturité incomplète) de procéder à un ajout sur jus en sortie de pressoir.

Le graphique 3 montre les gains de temps et indirectement d'énergie, générés par ces pratiques. Ici encore, contrairement aux idées reçues, l'addition d'enzymes n'impose pas de travailler sur des jus très clairs. Il suffit de suivre régulièrement la turbidité pour arrêter le débourage lorsqu'on obtient les valeurs souhaitées.

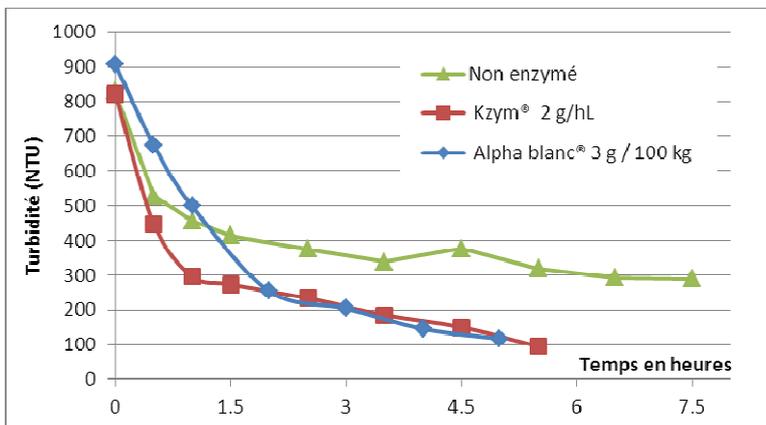


Figure 3. Clarification du rosé de Grenache (essai ICV, 5 C)

Pour ce faire, 2 règles : mesurer la turbidité au tiers de la hauteur de la cuve (en partant de sa base) donne une bonne idée de la valeur qu'on obtiendra sur jus et ajouter 1% de flocons pectiques (bourbes blanchâtres à l'interface jus clair-bourbes) pour remonter cette turbidité de 30 à 50 NTU.

En thermovinification, un apport supplémentaire sur raisins avant pressurage ou sur jus après pressurage (pour autant que le temps de contact soit piloté en conséquence), favorise

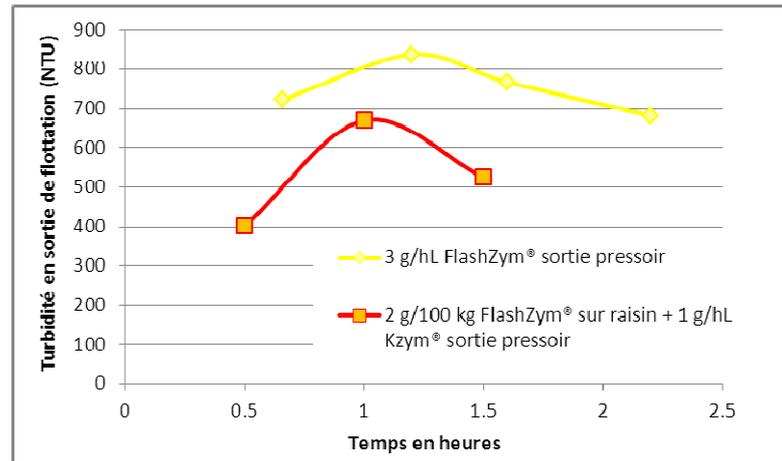


Figure 4. Effet du fractionnement sur la clarification de jus de thermovinification

grandement la clarification (Figure 4). La cave a moins de bourbes à gérer et peut, accélérer les débits si elle souhaite fermenter avec une turbidité plus élevée.

En rouge classique, la sédimentation des lies est accélérée par la dépectinisation initiale des raisins. Sur les presses, du fait du trituration imposé par le pressurage, il est recommandé de procéder à un ajout complémentaire de pectinases pour assurer une bonne sédimentation. Dans

tous les cas, cette clarification précoce est un atout : les soutirages, même avant la fermentation malo - lactique sont plus précoces et plus efficaces, ce qui permet d'éviter de travailler sur lies végétales, de limiter les odeurs soufrées et de procéder

# Les bonnes pratiques de mise en œuvre des pectinases en vinification pour une meilleure maîtrise de l'extraction et de la clarification. Impact sur les procédés

sans biais notable à une micro – oxygénation quand celle-ci est jugée utile

## Conclusion

Indépendamment des avantages sur les procédés (meilleure gestion des équipements et des flux, gain en temps, augmentation des rendements), l'utilisation raisonnée des enzymes permet des gains économiques considérables et de mieux maîtriser la qualité.

Néanmoins il est important d'utiliser ces outils des biotechnologies dans de bonnes conditions pour obtenir les meilleurs résultats possibles. Les règles suivantes sont valables dans tous les cas :

- ajout de pectinases le plus tôt possible dans le procédé c'est-à-dire sur raisins (effet positif sur l'extraction et sur le débouillage) grâce à un dispositif adapté après dilution,
- possibilité de fractionner l'apport des pectinases sur raisins puis sur moût pour améliorer l'efficacité,
- les enzymes fonctionnent à basse température sur la vendange réfrigérée (blancs, rosés et rouges),
- la dose recommandée de 3 g / 100 kg est celle qui permet d'atteindre les meilleurs résultats en terme de gain en temps et en rentabilité,
- enfin il est nécessaire d'adapter la dose à 4 g / 100 kg sur raisins pour les cépages à pulpes fermes ou en cas de vendanges de faible maturité.

De plus, des tests simples sont disponibles pour contrôler l'efficacité des pectinases et décider en fonction des millésimes de la dose la mieux adaptée à son procédé.

Pour plus d'informations, merci d'envoyer un mail à [wineprocessing@novozymes.com](mailto:wineprocessing@novozymes.com) ou [icv@icv.fr](mailto:icv@icv.fr)

## Références bibliographiques

- Aliot R., Blayteron L. et Olivier B., 2008. Thermovinification et turbidité : quel impact sur le fruité ? Revue des Œnologues, 129, 38-40.
- Barbe C. et Dubourdieu D, 1998. Characterization and purification of a cinnamate esterase from *Aspegillus niger* industrial pectinase preparation. J. Sci Food Agric., 78, 471-478.
- Canal-Llaubères R.M., 2000. Les enzymes et leur application en œnologie. Produits de traitement et auxiliaires d'élaboration des moûts et des vins. Collection des usuels Férêt de la Vigne et du Vin, 43-60.
- Ducasse M.-A., 2009. 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. Thèse de l'université de Montpellier 2.
- Guérin L., Sutter D.-H., Demois A., Chereau M. and Trandafir G., 2009. Determination of activity profiles of the main commercial enzyme preparations used in winemaking. Am.J. Enol. Vitic., 60, 322-331.