

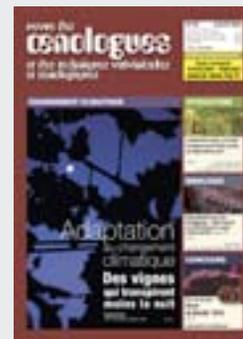
# Structure de la paroi cellulaire du raisin rouge

## Impact de la maturité et des préparations enzymatiques

Julie Barthoux<sup>1</sup>, Bastien Nazaris<sup>1</sup>, Yu Gao<sup>2</sup>, John P Moore<sup>2</sup>, Virginie Moine<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Société Laffort – Bordeaux – France.

<sup>2</sup> Institut Wine Biotechnology – Département de viticulture et œnologie – Faculté d'AgriSciences Université de Stellenbosch – Afrique-du-Sud. <sup>3</sup> Société Biolaffort – Bordeaux – France.

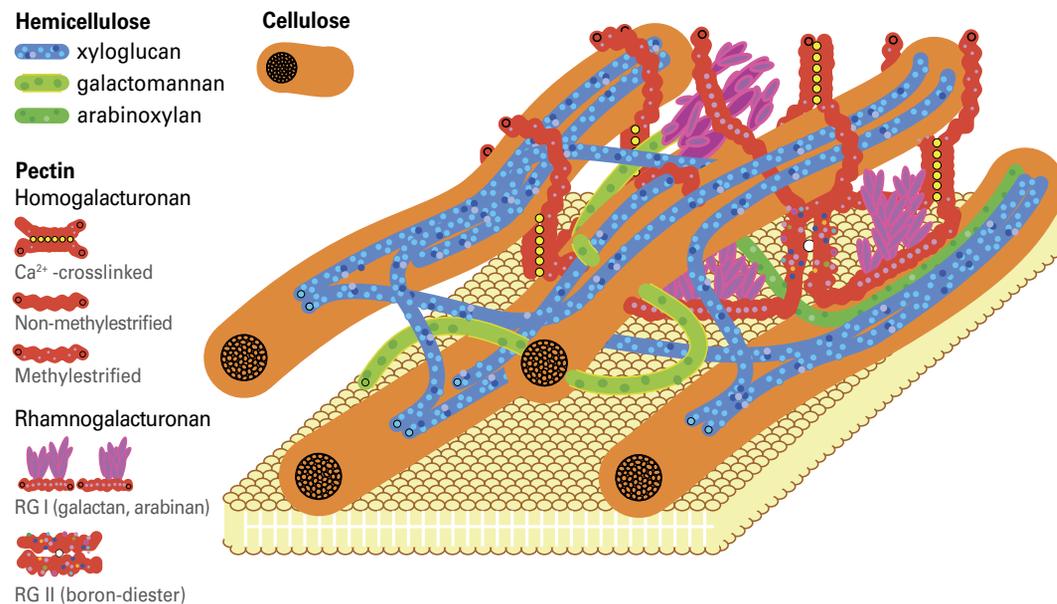


Extrait de la Revue des Œnologues n° 172  
[search.oeno.tm.fr](http://search.oeno.tm.fr)

### Introduction

Chaque millésime est un défi pour produire un vin rouge de qualité respectant la typicité malgré les contraintes techniques. Les facteurs génétiques (cépages) et environnementaux (terroir, climat) induisent lors du développement de la baie une variation de maturité. Cette variabilité chimique, biochimique est observée à différentes échelles : vignoble, parcelle, plante, grappe et baie (Bramley, 2005, Pagay and Cheng, 2010, Zhang et al., 2015). La conduite de la macération de raisins rouges est fonction de la nature et de la qualité de la vendange. Pour la piloter, le vinificateur s'appuie sur des observations (état sanitaire), des données scientifiques comme le degré de maturité (technologique, phénolique, aromatique), des moyens techniques comme le thermo traitement, le choix d'un levain sélectionné, les conditions de vinification, les actions mécaniques et physiques (remontages, pigeages), mais aussi, des outils biotechnologiques comme les préparations enzymatiques. Les travaux résumés dans cet article font références à une thèse de l'université de Stellenbosch (Afrique-du-Sud) soutenue par Yu Gao en 2016, dirigée par John P. Moore en collaboration avec la société Biolaffort. L'extraction des composés cellulaires doit être maîtrisée car trop prononcée elle peut être dommageable (astringence excessive, saveurs végétales, amertume).

■ Figure 1: Structure d'une paroi cellulaire végétale.



Au contraire, une bonne gestion conduit à l'enrichissement du vin en composés aux impacts organoleptiques et physicochimiques positifs. L'extraction des polyphénols (anthocyanes – tanins), des polysaccharides et des arômes est déterminante en impactant la typicité et la qualité du vin fini. La structure de la paroi cellulaire du raisin (figure 1) est complexe, sa dégradation est réalisée par de multiples réactions enzymatiques en chaîne. C'est pour cette raison que les préparations enzymatiques sont des outils habituels à disposition du vinificateur pour optimiser ces étapes clés de la macération. Les enzymes œnologiques sont des préparations multi-activités avec principalement des activités pectinases (pectinélases, polygalacturonases, pectine-méthylestérases)

et des activités secondaires. Ces dernières sont complémentaires et permettent de dégager les chaînes latérales pour faciliter l'accès des pectinases à la chaîne principale. Des travaux précédents (Ducasse, 2009) avaient montré que la sélection de certaines préparations enzymatiques permet la libération dans le vin de plusieurs polysaccharides (RG I, RG II, AGP) possédant des propriétés stabilisantes ou sensorielles (Vidal et al., 2003).

L'étude présentée ici est inédite pour la compréhension des mécanismes de dégradation de la structure de la paroi cellulaire du raisin et démontre l'intérêt de l'utilisation de préparations enzymatiques spécifiques. Contrairement aux principales études menées jusqu'à présent qui analysaient les polysaccharides dans les vins, cette étude s'attache à quantifier et qualifier les polysaccharides résiduels des marcs.

### Matériels et méthodes

#### Analyses spécifiques et novatrices des polysaccharides par profilage CoMPP (Comprehensive Microarray Polymer Profiling)

La mise au point d'une nouvelle méthode d'analyse CoMPP (Moore et al., 2014) a permis le profilage complet des polysaccharides via l'extraction des composés présents dans les pellicules des raisins et des marcs. Après purification des marcs par précipitation éthanolique et des étapes de solubilisation dans différents milieux, cette

technique permet d'obtenir des fractions riches en pectine et en hémicellulose. Après centrifugation, les extraits sont fixés sur des membranes de nitrocellulose, puis sondés avec une série d'anticorps monoclonaux (AcM) et de modules de liaison aux glucides (CBM). Les données brutes générées sont utilisées pour l'analyse de données multivariées et sont également normalisées séparément pour créer des cartes type puce à ADN. Le signal le plus élevé est fixé à 100, et les autres sont ajustés en conséquence avec une limite de 5. Un exemple de résultat est donné (tableau 1).

**Conditions de récolte et de vinification**

Les raisins ont été vendangés sur une parcelle de Cabernet-Sauvignon (*Vitis. vinifera*) millésime 2014, issus du vignoble expérimental du département de viticulture et d'œnologie de l'université de Stellenbosh, présentant une diversité de maturité en 24 placettes (tableau 2). La récolte a été effectuée en respectant un plan de ramassage précis afin d'obtenir un lot homogène de raisins pour chaque modalité. Des analyses chimiques, en fin de fermentation alcoolique, ont confirmé que le travail d'extraction ainsi que les conditions de vinifications ont été identiques sur tous les vins. Chaque préparation enzymatique est comparée à un témoin non-traité afin de pondérer la variabilité

de maturité interrangs. Après la récolte, les raisins de chaque placette sont rassemblés pour former un lot homogène, éraflés, foulés et sulfités à 30 mg/L de SO<sub>2</sub>, puis séparés en 3 répétitions biologiques de 5 kg pour chaque modalité. Les préparations enzymatiques (tableau 3) sont additionnées suivant les recommandations du fabricant. Pour une meilleure maîtrise de la fermentation alcoolique, un levain est réalisé avec des levures sèches actives sélectionnées, la température est contrôlée à 25 °C et deux pigeages sont effectués par jour. À la fin de la fermentation, les jus sont écoulés et les marcs pressés dans un presseur à cage.

**Résultats et discussions**

**Proposition d'un nouveau modèle de la structure pectocellulosique des baies de raisins**

Les premiers résultats (Gao et al., 2016) ont permis de suggérer le modèle présenté dans la figure 2 principalement basé sur les études des marcs qui reflètent un gradient d'estérification des polysaccharides en fonction de la location dans la baie et de la maturité. À mesure que les raisins mûrissent, les parois cellulaires de la pulpe commencent probablement à se dépolymériser après la véraison, ce qui donne des cellules plus grandes avec

**Tableau 1 : CoMPP, Analyse d'un échantillon de paroi cellulaire de raisin de marc fermenté** (extraction CDTA). **U1, U2, U3, U4 : témoins non traités et cru 1, cru 2, cru 3, cru 4 :** raisins traités avec enzyme Lafase® HE Grand Cru. Dans cet exemple, les quatre marcs traités avec les enzymes ont une quantité moindre de polysaccharides.

|              | HG partially de-esterified (mAb JIM5) | HG partially esterified (mAb JIM7) | HG partially de-esterified (mAb LM18) | HG partially de-esterified (mAb LM19) | HG partially esterified (mAb LM20) | HG Blockwise de-esterified (mAb PAM1) | HG Ca2+ crosslinked (mAb 2F4) | Xylogalacturonan (mAb LM8) | Backbone of rhamnogalacturonan I (mAb INRA-RU1) | Backbone of rhamnogalacturonan I (mAb INRA-RU2) | (1->4)-β-D-galactan (mAb LM5) | (1->5)-α-L-arabinan (mAb LM6) | Linearised (1->5)-α-L-arabinan (mAb LM13) | (1->4)-β-D-(galacto)gluco mannan (mAb LM21) | (1->4)-β-D-(gluco) mannan (mAb LM22) | (1->3)-β-D-D-glucan (mAb BS-400-2) | Xyloglucan (XXXG motif) (mAb LM15) | Xyloglucan (mAb LM24) | Xyloglucan / unsubstituted β-D-glucan (mAb LM25) | (1->4)-β-D-xylan (mAb LM10) | (1->4)-β-D-xylan/arabinoxylan (mAb LM11) | Cellulose (crystalline) (CBM3a) | Extensin (mAb LM1) | Extensin (mAb JIM11) | Extensin (mAb JIM20) | AGP (mAb JIM8) | AGP (mAb JIM13) | AGP (mAb JIM14) | AGP, β-linked GlcA (mAb LM2) |    |
|--------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|----------------------------|---|---|-------------------------------|-------------------------------|---|---|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------|--|-----------------------------|--|---------------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------------------|----|
| <b>U1</b>    | 16                                    | 74                                 | 17                                    | 20                                    | 0                                  | 0                                     | 0                             | 0                          | 34  | 26  | 10                            | 23                            | 0   | 0   | 0                                    | 0                                  | 0                                  | 0                     | 12   | 0                           | 6  | 0                               | 0                  | 0                    | 0                    | 6              | 17              | 39              | 0                            | 14 |
| <b>U2</b>    | 25                                    | 55                                 | 19                                    | 22                                    | 10                                 | 0                                     | 0                             | 0                          | 41  | 35  | 15                            | 22                            | 0   | 0   | 0                                    | 0                                  | 0                                  | 0                     | 14   | 0                           | 8  | 0                               | 0                  | 0                    | 7                    | 19             | 41              | 0               | 13                           |    |
| <b>U3</b>    | 32                                    | 90                                 | 24                                    | 27                                    | 10                                 | 0                                     | 0                             | 0                          | 42  | 37  | 17                            | 27                            | 0   | 0   | 0                                    | 0                                  | 0                                  | 0                     | 14   | 0                           | 6  | 0                               | 0                  | 0                    | 6                    | 17             | 40              | 0               | 14                           |    |
| <b>U4</b>    | 31                                    | 86                                 | 24                                    | 27                                    | 14                                 | 0                                     | 0                             | 0                          | 49  | 43  | 18                            | 30                            | 6   | 0   | 0                                    | 0                                  | 0                                  | 0                     | 20   | 0                           | 10                                       | 0                               | 0                  | 0                    | 6                    | 24             | 47              | 0               | 19                           |    |
| <b>Cru 1</b> | 31                                    | 67                                 | 20                                    | 28                                    | 8                                  | 0                                     | 0                             | 0                          | 14  | 9   | 10                            | 5                             | 0   | 0   | 0                                    | 0                                  | 0                                  | 0                     | 9  | 0                           | 0  | 0                               | 0                  | 0                    | 0                    | 15             | 34              | 0               | 9                            |    |
| <b>Cru 2</b> | 21                                    | 65                                 | 15                                    | 22                                    | 0                                  | 0                                     | 0                             | 0                          | 10  | 0   | 5                             | 0                             | 0   | 0   | 0                                    | 0                                  | 0                                  | 0                     | 6  | 0                           | 5  | 0                               | 0                  | 0                    | 0                    | 15             | 33              | 0               | 9                            |    |
| <b>Cru 3</b> | 18                                    | 54                                 | 12                                    | 16                                    | 6                                  | 0                                     | 0                             | 0                          | 15  | 8   | 9                             | 9                             | 0   | 0   | 0                                    | 0                                  | 0                                  | 0                     | 10   | 0                           | 5  | 0                               | 0                  | 0                    | 0                    | 18             | 41              | 0               | 14                           |    |
| <b>Cru 4</b> | 14                                    | 42                                 | 10                                    | 9                                     | 0                                  | 0                                     | 0                             | 0                          | 11  | 5   | 5                             | 0                             | 0   | 0   | 0                                    | 0                                  | 0                                  | 0                     | 0  | 0                           | 0  | 0                               | 0                  | 0                    | 0                    | 16             | 35              | 0               | 11                           |    |

**Tableau 2 : Plan de ramassage des raisins, échelle de couleur en fonction de la variabilité de la maturité exprimée en TAVP.**

Plan de récolte et maturité des raisins de Cabernet-Sauvignon TAVP (titre alcoométrique volumique probable)

| 6 pieds de vigne par placette |   | →                              |                                |                                |                                | Sens ramassage                 |                                |
|-------------------------------|---|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <b>Numeros rangs</b>          | 1 | Témoin_1 HE Grand Cru          | Lafase® HE Grand Cru_1         | Témoin_2 HE Grand Cru          | Lafase® HE Grand Cru_2         | Témoin_3 HE Grand Cru          | Lafase® HE Grand Cru_3         |
|                               | 2 | Lafase® HE Grand Cru_3         | Témoin_3 HE Grand Cru          | Lafase® HE Grand Cru_4         | Témoin_4 HE Grand Cru          | Lafase® HE Grand Cru_1         | Témoin_1 HE Grand Cru          |
|                               | 3 | Témoin_1 Lafase® Fruit         | Lafase® Fruit_1                | Témoin_2 Lafase® Fruit         | Lafase® Fruit_2                | Témoin_3 Lafase® Fruit         | Lafase® Fruit_3                |
|                               | 4 | Lafase® Fruit_3                | Témoin_3 Lafase® Fruit         | Lafase® Fruit_4                | Témoin_4 Lafase® Fruit         | Lafase® Fruit_1                | Témoin_1 Lafase® Fruit         |
|                               | 5 | Témoin_1 Lafase® XL Extraction | Lafase® XL Extraction_1        | Témoin_2 Lafase® XL Extraction | Lafase® XL Extraction_2        | Témoin_3 Lafase® XL Extraction | Lafase® XL Extraction_3        |
|                               | 6 | Lafase® XL Extraction_3        | Témoin_3 Lafase® XL Extraction | Lafase® XL Extraction_4        | Témoin_4 Lafase® XL Extraction | Lafase® XL Extraction_1        | Témoin_1 Lafase® XL Extraction |

10,8 -12,2 % vol.
  12,2 -13,4 % vol.
  sup 13,4 % vol.

des parois plus minces et plus fragiles lorsque la maturité est avancée. Au cours de la vinification, les baies sont écrasées et les parois cellulaires de la pulpe sont facilement dégradées et solubilisées dans le vin, générant ainsi la composition complexe en polysaccharides rapportée par Gao *et al.* (2015), principalement composée de polymères homogalacturonanes (HG) et rhamnogalacturonanes I (RGI) de-estérifiés, avec la présence d'arabinogalactane-protéines (AGP) et, de manière plus inattendue, de xyloglucanes (XyG). Le processus de de-estérification pourrait débiter à partir du tissu pulpaire et progresser vers le tissu cutané (*figure 2*).

Ce modèle schématique fournit une base utile pour comprendre la déstructuration des baies et l'action des enzymes de macération sur les raisins en particulier lors de la cuvaison. La structure de la pectine dans la pulpe reste plus simple, nécessitant une activité enzymatique de type pectinolyse. Il est à noter que cette extraction en cave est facilitée par les actions mécaniques préfermentaires. La structure de la pectine des pellicules est quant à elle plus complexe. Pour atteindre la chaîne principale de la pectine, les activités enzymatiques secondaires doivent éliminer les chaînes latérales, permettant ainsi aux pectinolyases l'hydrolyse de la chaîne

■ **Tableau 3: Préparations enzymatiques commerciales Laffort utilisés pour cette étude.** Enzymes pectolytiques avec activités secondaires pour la macération des raisins rouges.

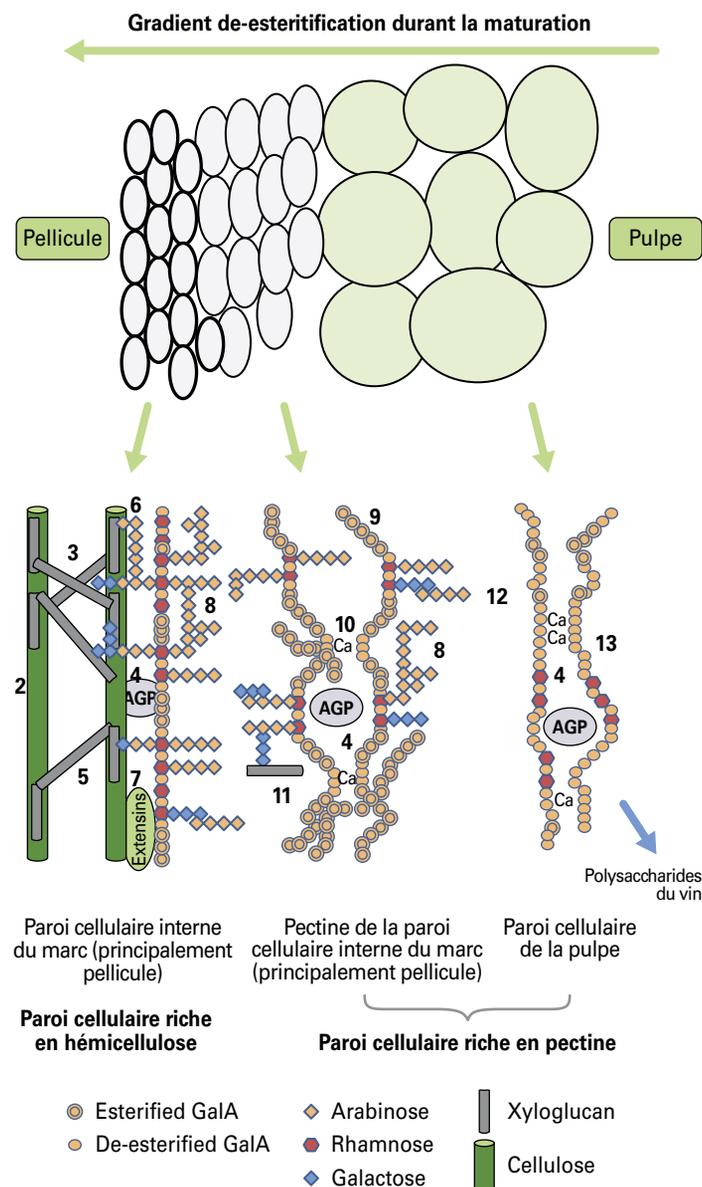
| Préparations enzymatiques utilisées pour les travaux de recherche |
|---|
| Lafase® XL Extraction   |
| Lafase® HE Grand cru  |
| Lafase® Fruit   |

principale. Ces mécanismes en chaîne favorisent l'extraction des composés d'intérêt comme les anthocyanes ou les tanins pelliculaires. Les activités hémicellulases et cellulases sont à limiter afin qu'elles n'engendrent pas d'impacts gustatifs dommageables comme l'astringence et l'amertume.

**Étude de l'impact de différentes préparations enzymatiques au cours de la vinification de raisins présentant différents états de maturités**

La *figure 3* (extraction CDTA) montre clairement que les échantillons fermentés non traités (12 échantillons, 4 répétitions techniques chacun, n = 48 au total) et les échantillons traités avec les préparations enzymatiques (12 échantillons, 4 répétitions techniques chacun, n = 48 au total) sont bien répartis en deux groupes distincts. Les échantillons non traités sont plus dispersés du fait de la variabilité de maturité. Les préparations enzymatiques sont efficaces pour pondérer l'hétérogénéité de la composition de la paroi cellulaire des baies par rapport à cette variabilité. La dépectinisation est significativement plus importante et facilitée par l'addition d'enzymes. Plus finement, les degrés de dépectinisation

■ **Figure 2: Proposition d'un nouveau modèle hypothétique de la paroi cellulaire des raisins.**



**SUBLIMEZ VOS THIOLS !**



**LAFAZYM® THIOLS [+]**  
 Une enzyme pour renforcer les performances des levures spécifiques de la révélation des thiols.



différent en fonction des préparations enzymatiques démontrant ainsi la spécificité des préparations.

Sur la **figure 4** (extraction NaOH), on distingue aisément deux groupes entre les échantillons traités et les témoins (n = 48). L'analyse de l'ACP permet la visualisation de l'impact des enzymes vis-à-vis de l'extraction des polysaccharides résiduels de la sous-couche d'hémicellulose (analyse sur marc). Les échantillons situés dans la partie inférieure droite du graphique, majoritairement les modalités non-traitées, contiennent plus de composés de type homogalacturonanes (HG), rhamnogalacturonanes I (RGI) et mannanes avec un degré d'estérification faible. Leur présence démontre une moindre extraction des composés cellulaires. Les échantillons en partie supérieure gauche contiennent davantage de composés de type xyloglucanes (XyG) avec des niveaux plus élevés d'estérification illustrant une extraction plus importante. Cette observation est confirmée par le positionnement des échantillons traités par l'enzyme « XL » situés dans la direction opposée à ceux traités par l'enzyme « Fruit ».

## Conclusion

À notre connaissance, il s'agit de la première étude consacrée à la variation de la composition structurale biochimique de la paroi cellulaire des baies de raisin à la récolte. Ces résultats se basent sur un dessin expérimental original alliant une approche pratique par la vinification et comparant des niveaux de maturité par une nouvelle méthode d'analyse des polysaccharides dans les marcs résiduels.

Ces résultats permettent de proposer un nouveau schéma

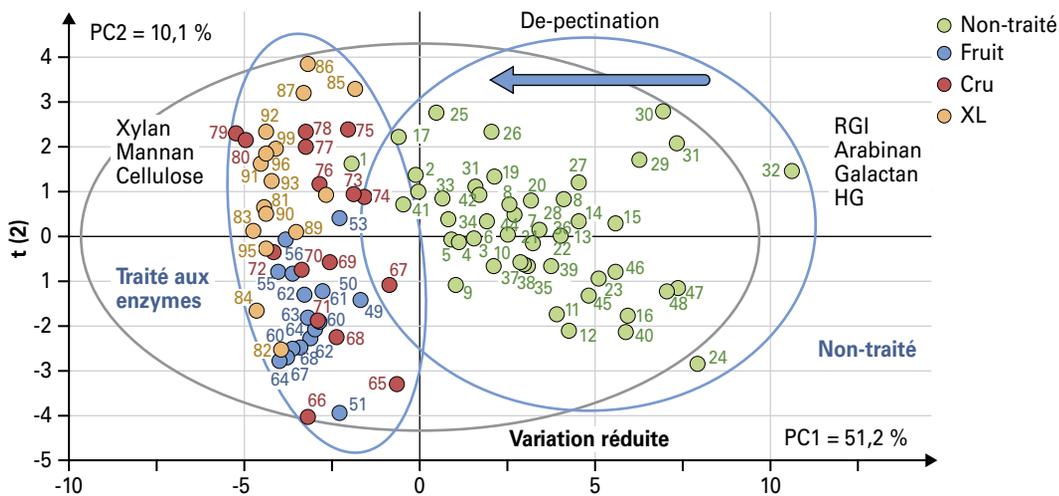
de la paroi cellulaire et de son évolution au cours de la maturation. Ce modèle permet de mieux comprendre l'intérêt de chaque activité enzymatique utile et nécessaire à la dépectinisation des raisins lors des macérations. Il ressort très clairement de l'étude trois informations clés pour le vinificateur, ces dernières étant essentielles pour piloter de manière précise l'extraction des composés cellulaires d'intérêt. Premièrement, les activités enzymatiques présentes dans les trois préparations ont permis de réduire de manière significative les différences d'extraction générées par la variabilité de la composition de la paroi liée à la maturité de la pectine, amenant toutes les baies à un degré uniforme de différenciation et ce malgré des différences de TAVP allant jusqu'à 3 % vol.

Dans un second temps, l'analyse de la fraction alcaline a montré que toutes les enzymes dégageaient l'accès à l'hémicellulose, exposant ainsi les couches internes des tissus périphériques de la baie (pellicule) et permettant la diffusion des composés d'intérêt (polysaccharides RG II). Enfin, ces travaux nous ont permis de confirmer la spécificité de chaque formulation enzymatique.

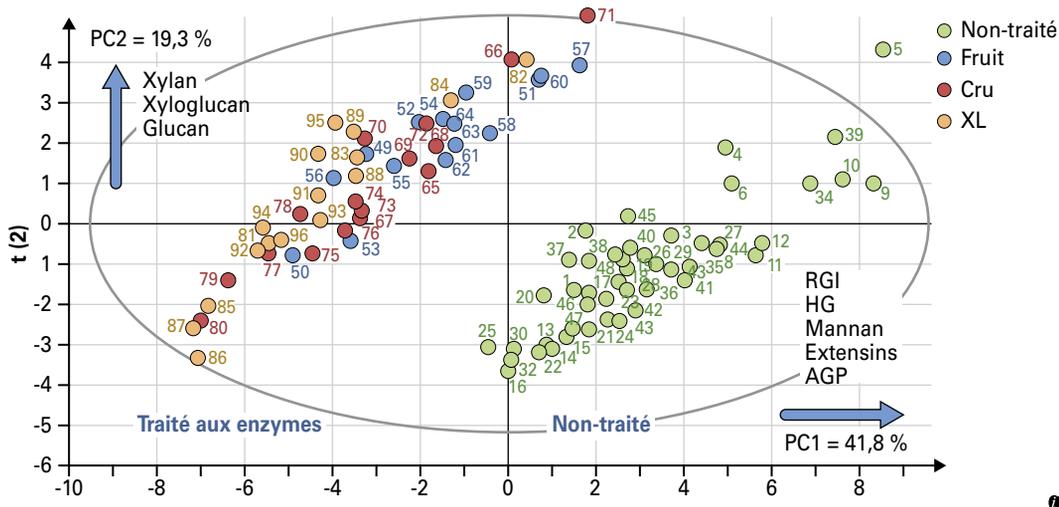
L'une d'entre elle est adaptée à la diversité de maturité et permet une extraction importante et sélective de rhamnogalacturonanes de type II (Lafase® HE Grand Cru). Lafase® XL Extraction démontre une très forte capacité d'extraction dans un laps de temps identique, elle est donc favorable aux macérations plus courtes ou aux extractions poussées. La dernière (Lafase® Fruit) permet des extractions plus douces pour des profils de vins plus fruités.

**NDLR :** Les références bibliographiques concernant cet article sont disponibles sur le site internet de la Revue des Œnologues : [search.oeno.tm.fr](http://search.oeno.tm.fr)

■ **Figure 3: Score de l'ACP de l'extrait au CDTA (fraction riche en pectine) provenant de l'extrait de marc des baies fermentées. Non-traité :** témoins sans enzymes, **Fruit** = Lafase® Fruit, **Cru** = Lafase® HE Grand Cru, **XL** = Lafase® XL Extraction.



■ **Figure 4: Score de l'ACP de l'extrait à NaOH (fraction riche en hémicellulose) provenant de l'extrait de marc des baies fermentées. Non-traité :** témoins sans enzymes, **Fruit** = Lafase® Fruit, **Cru** = Lafase® HE Grand Cru, **XL** = Lafase® XL Extraction.



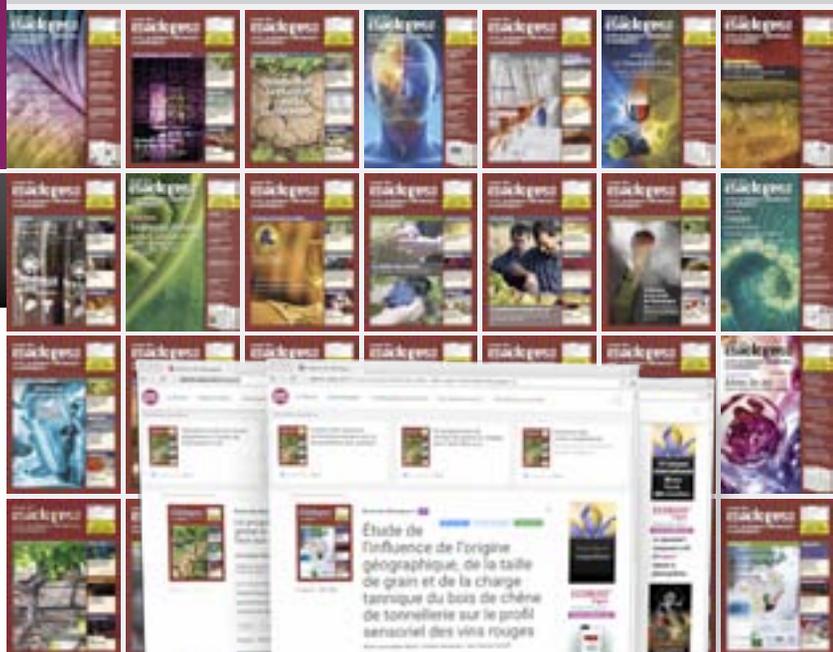
# revue des œnologues

Sciences et techniques de la vigne et du vin  
et des techniques vitivinicoles  
et œnologiques



Le trimestriel de  
tous les acteurs  
de la filière  
vitivinicole

## search.oeno.tm.fr



### L'actualité scientifique & technique

- Depuis plus de 40 ans, dans 60 pays
- Revue internationale en langue française
- Viticulture | Œnologie | Conditionnement

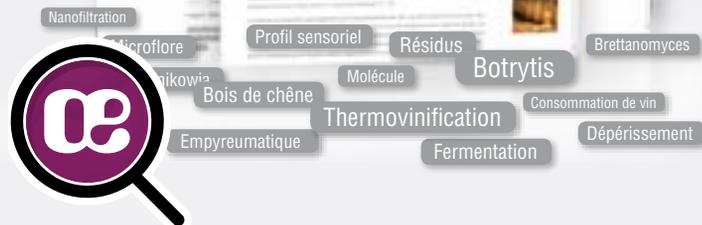
### Le trimestriel des acteurs de la filière

« Les lecteurs de la Revue des Œnologues sont à la recherche d'informations fiables et de conseils techniques précis pour réaliser des investissements concrets et mettre en place des solutions opérationnelles en viticulture et œnologie.

Aujourd'hui, plus que jamais, il est indispensable d'être bien informé et ce, par des professionnels conscients des réalités et des enjeux techniques de la filière ».

**Henri-Laurent Arnould**

Ingénieur agronome œnologue  
Directeur de la Revue des Œnologues



### À la source de l'information

- Accès libre à un large corpus d'informations scientifiques & techniques
- Informations évaluées et sélectionnées, depuis plus de 40 ans, par la Revue des Œnologues

### Plus vite à l'essentiel...

- Accès rapide par mots-clés
- Résumés, bibliographies, listes d'articles
- Plus de 2 500 articles et 5 000 contributeurs



## search.oeno.tm.fr

Moteur de recherche | Viticulture  
Œnologie | Revue des Œnologues