

L'analyse des raisins et du vin

Les œnologues exploitent les kits d'essais avancés

Simon J. Charnock

PhD (Doctor of Philosophy).

Barry V. McCleary

PhD, DScAgr (Doctor of Science in Agriculture).

Les analyses jouent sans aucun doute un rôle essentiel tout au long de la vinification. Pour faire le meilleur vin possible et pour minimiser les problèmes de vinification, tels que les fermentations lentes ou les infections nocives, il est désormais reconnu que les analyses doivent, si possible, commencer avant la vendange et continuer jusqu'à la mise en bouteille. Les méthodes classiques d'analyse des vins sont souvent chères, longues à réaliser et peu exactes, nécessitant des appareils complexes ou un savoir-faire spécialisé. Par contre, la bio-analyse enzymatique permet de mesurer avec exactitude la très grande majorité des composés auxquels le vigneron s'intéresse, avec un seul appareil, le spectrophotomètre (voir le numéro précédent, revue n° 116 p. 11, pour une description technique détaillée). Le jus de raisin et le vin conviennent parfaitement pour l'analyse enzymatique: en tant que liquides, ils sont homogènes et faciles à manipuler, les analyses pouvant s'effectuer en général sans la préparation des échantillons. Le **tableau 1** détaille les composés pour lesquels les kits d'essais enzymatiques sont disponibles, ainsi que leur importance pour l'œnologue. Depuis son introduction, la bio-analyse enzymatique est de plus en plus utilisée dans la filière viticole, pouvant remplacer de nombreuses techniques classiques telles que la chromatographie en couche mince (par exemple, pour le dosage de l'acide L-malique) ou les essais chimiques non spécifiques

■ **Tableau 1 : Composés pouvant être analysés par les kits d'essais enzymatiques et leur importance pour l'œnologie.**

Composé	Importance pour l'œnologie
Acétaldéhyde	Contribue à la saveur et à la complexité des vins, mais a un impact négatif à forte teneur. Produit aussi bien par la fermentation que par l'oxydation.
Acide acétique	A faible teneur, contribue à la saveur et à la complexité des vins, mais a un impact négatif à forte teneur. Produit naturellement par la levure en de faibles quantités ainsi que par les micro-organismes nocifs tels que <i>Acetobacter aceti</i> en de fortes quantités. L'acide prépondérant dans l'acidité volatile (AV).
Ammoniac	La source inorganique la plus importante de l'azote disponible pour la levure (ADL).
L-Arginine	L'acide aminé le plus important dans le jus de raisin en ce qui concerne les sources d'azote disponibles pour la levure (ADL).
Acide L-ascorbique	Présent naturellement dans les raisins et souvent ajouté comme antioxydant.
Dioxyde de carbone	Un niveau critique est important pour la perception sensorielle en bouche.
Acide citrique	Naturellement présent en de faibles quantités; la présence d'une forte teneur indique un ajout pour acidification (1 g/L maxi. dans l'Union européenne).
Ethanol	Produit lors de la fermentation alcoolique. Une teneur de plus de 17,5 % (v/v) indique l'ajout d'éthanol.
D-Fructose	Indicateur de la qualité des raisins. L'un des 2 principaux sucres fermentescibles présents dans le jus de raisin.
Acide D-gluconique	Indicateur de la qualité des raisins pour la production de certains vins tels que le Champagne.
D-Glucose	Indicateur de la qualité des raisins. L'un des 2 principaux sucres fermentescibles présents dans le jus de raisin.
Glycérol	Indicateur de la qualité des vins finis, important pour la « sensation en bouche ».
Acide D-lactique	Produit surtout par les bactéries lactiques.
Acide L-lactique	Produit surtout par la fermentation malolactique à partir de l'acide L-malique.
D-Sorbitol	Une forte teneur indique l'ajout de fruits.
Acide D-malique	Présent dans des quantités importantes uniquement dans des vins adultérés.
Acide L-malique	Indicateur de la qualité des raisins. Un acide très important dans les raisins, qui est converti en acide L-lactique (moins acide) lors de la fermentation malolactique.
D-Mannitol	Produit par les micro-organismes nocifs à partir du D-fructose, entraînant un « goût de mannitol » indésirable.
Acide succinique	Un acide présent dans le vin, produit lors de la fermentation.
Saccharose	Ajouté pour augmenter le titre alcoolique. Son utilisation n'est autorisée que dans certaines situations, telles que pour la production du Champagne.
Sulfite	Ajouté pour empêcher le développement de micro-organismes indésirables au début de la vinification, et ensuite pour stabiliser le vin fini en tant qu'antioxydant et agent anti-microbien.
Amidon	Ajouté pour augmenter artificiellement la teneur en solides solubles dans le vin (extrait sec), qui est un paramètre de qualité pour la saveur et la charpente du vin.
Urée	Source d'azote disponible pour la levure et précurseur du carbamate d'éthyle, un produit cancérigène pour les humains. L'ajout excessif du phosphate de diammonium peut générer une forte teneur en urée.

(par exemple, l'analyse des sucres réducteurs). En effet, l'utilisation répandue du kit d'essai enzymatique pour le D-glucose/D-fructose a incité l'OIV à adopter cette méthode en 2003 pour remplacer la méthode chimique classique.

La mise au point des kits d'essais enzymatiques avancés pour la filière viticole

Malgré le grand succès de la bio-analyse enzymatique dans la filière viticole, il est étonnant de constater le très faible nombre de kits développés depuis 25 ans. Bien que représentant à l'époque la pointe de la technologie en matière de spécificité et de simplicité, ces produits

étaient conçus pour l'analyse générique des aliments et des boissons et sont aujourd'hui quelque peu dépassés. Ils doivent donc être réévalués, surtout par rapport aux exigences de la filière viticole moderne. En effet, lors de la mise au point de la première gamme de kits d'essais par la société allemande Boehringer Mannheim, seul un nombre assez faible d'enzymes, surtout d'origine animale, était disponible et donc dans certains cas les candidats idéaux ne pouvaient pas être utilisés. Les 10 dernières années ont cependant connu une révolution en matière de recherche biologique, avec l'émergence de technologies puissantes, telles que la biologie moléculaire, rendant désormais possible la production rapide d'enzymes qui ont des spécificités adaptées à quasiment toute application souhaitée. Cette capacité a incité des fabricants innovateurs de kits d'essais, comme Megazyme, à apporter des améliorations, attendues depuis longtemps, aux produits existants de bio-analyse enzymatique, tout en développant rapidement de nouvelles procédures analytiques soit pour les composés déjà analysés soit pour les composés dont l'importance pour l'industrie viticole se révèle actuellement.

Cet article décrit le rôle joué par l'analyse enzymatique tout au long de la vinification moderne, avec une concentration sur les découvertes et innovations récentes qui sont susceptibles de générer une plus grande acceptation au sein de la filière viticole de cette technique de plus en plus puissante.

Analyses avant la vendange

Acide L-malique et D-glucose/D-fructose: Lorsque les raisins mûrissent avant la vendange, la teneur en acide L-malique baisse précipitam-

Équation 1 (L-malate déshydrogénase)

Acide L-malique + NAD⁺ → oxaloacétate + NADH

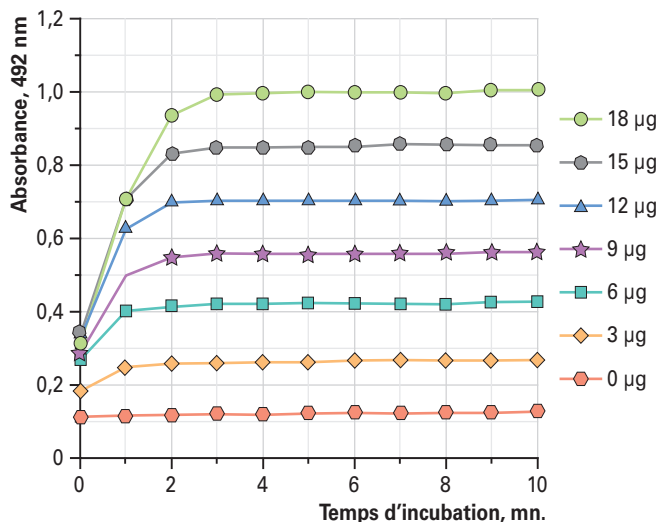
Équation 2 (glutamate oxaloacétate transaminase)

Oxaloacétate + L-glutamate → L-aspartate + 2-oxoglutarate

Équation 3 (diaphorase)

NADH + INT + H⁺ → INT-formazan + NAD⁺

■ **Figure 1: La performance rapide de la procédure d'essai MegaQuant™ pour l'acide L-malique.** La procédure standard a été effectuée avec des teneurs en acide L-malique de 0 à 18 µg (comme le montre la légende). La fin de la réaction est indiquée par l'arrêt de la hausse de l'absorbance, par ex. à 4 mn. avec 18 µg du composé.



ment, tandis que les niveaux de D-glucose et de D-fructose augmentent considérablement. Il faut trouver un équilibre dans le vignoble afin d'obtenir une teneur suffisante en sucres pour le titre alcoolique souhaité tout en assurant une acidité optimale pour le caractère envisagé du vin. Des analyses rapides et exactes sont donc essentielles à ce moment-là afin d'obtenir des raisins de la meilleure qualité possible lors de la vendange. L'analyse de l'acide L-malique est en effet l'un des essais les plus répandus dans la filière viticole, surtout en raison du rôle que cet acide joue lors de la fermentation malolactique (FML). Sa teneur peut être dosée très rapidement (en 1 min. environ) en utilisant un kit d'essai enzymatique avancé et un spectrophotomètre, selon la réaction présentée dans les équations 1 et 2 (pour une description détaillée du fonctionnement des kits d'essais enzymatiques, veuillez voir la revue des Œnologues numéro 116, pages 14-15. Cet article décrit également la méthode enzymatique pour le dosage du D-glucose et du D-fructose).

Cependant, jusqu'à récemment, il était difficile pour les domaines viticoles de taille plus modeste d'effectuer les essais avant la vendange, car en général ils ne possédaient pas de spectrophotomètre et devaient par conséquent utiliser des techniques classiques ou des laboratoires externes. Pour répondre à cette demande pressante, un nouveau produit a été récemment mis au point, MegaQuant™, permettant une mesure rapide et précise de l'acide L-malique et du

D-glucose (ainsi que du D-fructose), sans nécessiter un spectrophotomètre onéreux ou d'autres appareils ou connaissances spécialisés. Cela a été possible grâce à la modification des kits existants, avec l'ajout d'une autre enzyme, la diaphorase, qui par exemple dans le cas de l'acide L-malique convertit le NADH (qui est le produit de l'équation 1) en un composé coloré, INT-formazan (équation 3). Ce dernier peut être quantifié avec un colorimètre portable et peu onéreux, le MegaQuant™ Meter (figure 1 et photo 1). Les kits MegaQuant™ ont été mis au point tout particulièrement pour les petits domaines viticoles; ils sont basés sur des procédures simples, comportant des réactifs très stables sous forme de comprimés, en de petits conditionnements et avec des périodes d'utilisation de plusieurs années.

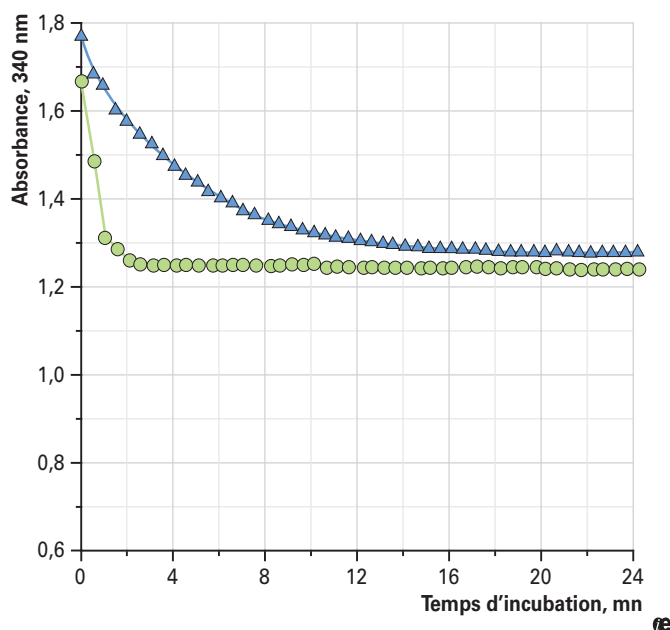
Analyses avant la fermentation alcoolique (primaire)

État nutritif: Après l'analyse du D-glucose et du D-fructose dans le jus de raisin, la quantité d'azote disponible pour la levure (ADL) doit également être dosée, afin d'assurer une teneur suffisante pour la fermentation efficace des sucres. Si le jus de raisin comporte une teneur insuffisante en ADL, la fermentation sera lente et pourra même s'arrêter. C'est non seulement peu pratique pour le vigneron, mais cela peut aussi permettre l'introduction de microbes nocifs dans le vin, ou encore plus grave, la production de H₂S, générant une détérioration catastrophique de la qualité du vin. Cependant, jusqu'à récemment il n'était pas possible de quantifier facilement et exactement la teneur en ADL, parce que (a) les sources d'azote qui sont disponibles pour les levures pendant la fermentation n'étaient pas connues avec certitude, et (b) une méthode analytique rapide et spécifique n'existait pas pour un composant important de l'ADL, le L-arginine. Toutefois, de récentes

■ **Photo 1: Le MegaQuant™ Meter et les réactifs pour l'analyse de l'acide L-malique.**



■ **Figure 2: L'analyse d'un vin rouge pour l'ammoniac avec l'enzyme GIDH de foie de bœuf et d'origine microbienne.** La même quantité de vin rouge a été analysée avec le kit d'essai classique pour l'ammoniac, utilisant l'enzyme GIDH de foie de bœuf (triangles bleus) et un produit avancé rapide de chez Megazyme qui contient une enzyme d'origine microbienne (cercles verts). La fin de la réaction est indiquée par l'arrêt de la baisse de l'absorbance, par ex. après seulement 3 mn environ avec le kit Megazyme.

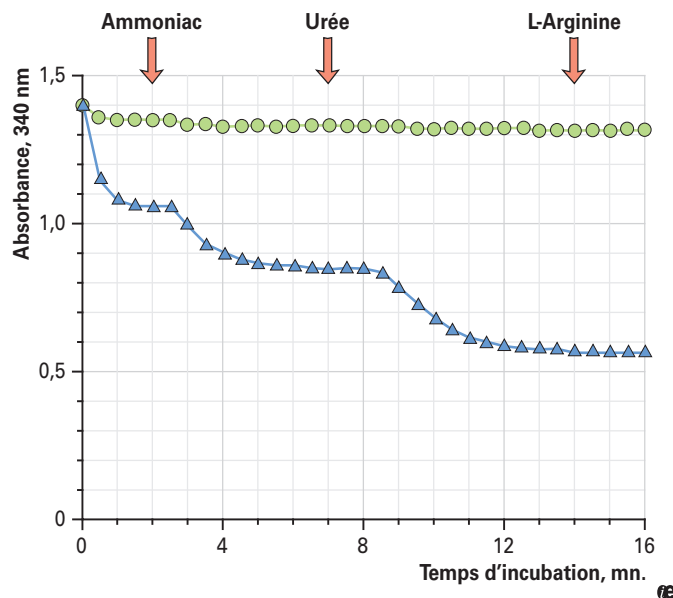


études scientifiques ont démontré que l'ADL provient de 4 sources: (1) l'ammoniac, (2) le groupe aminé primaire des acides aminés libres, (3) la chaîne latérale du L-arginine, et (4) l'urée. Bien que les kits enzymatiques pour l'ammoniac et l'urée existent depuis quelque temps, l'enzyme utilisée dans ces kits, la glutamate déshydrogénase (GIDH) provenant du foie de boeuf, est très fortement inhibée par les tanins qui se trouvent dans le jus de raisin et dans le vin, entraînant des temps de réactions très variables et souvent trop longs. Mais récemment, un kit d'essai avancé et très rapide pour l'ammoniac a été mis sur le marché, grâce à l'utilisation d'une nouvelle enzyme GIDH, d'origine microbienne, qui n'est pas inhibée par les tanins et qui possède une valeur Km (affinité) beaucoup plus élevée pour les ions d'ammonium (NH₄⁺) que l'enzyme provenant du foie de boeuf. La **figure 2** présente une comparaison pour l'analyse de l'ammoniac dans un vin rouge entre le kit d'essai avec la GIDH de foie de boeuf et le kit beaucoup plus avancé (**équation 4**). Ce kit d'essai rapide pour l'ammoniac a

été par la suite amélioré par l'ajout d'uréase et d'arginase (**équations 4, 5 et 6**), pour générer un essai séquentiel simple et rapide pour 3 des 4 composants de l'ADL: le L-arginine, l'urée et l'ammoniac, avec une durée totale de réaction de moins de 16 minutes (**figure 3**). En conjonction avec un essai pour l'azote aminé primaire (AAP), il est possible de calculer l'ADL en mg N/L (**figure 4**). Cela représente une grande amélioration par rapport au titrage classique avec du formol, qui sous-estime la contribution du L-arginine et qui mesure le proline, un acide aminé prolifique dont l'azote secondaire ne peut pas être utilisé par les levures pour la fermentation. Donc, bien que le titrage au formol donne une valeur approximative de l'ADL, les résultats sont parfois très inexacts, en fonction des teneurs du L-arginine et du proline.

De même, il n'est pas suffisant d'estimer la teneur en ADL par le dosage d'un seul des 4 composants, comme l'ammoniac, car chaque composant est présent en des quantités très variables. Tradi-

■ **Figure 3: La performance d'un kit d'essai enzymatique séquentiel et rapide pour le L-arginine, l'urée et l'ammoniac.** La réaction séquentielle démontre qu'il est possible de doser le L-arginine, l'urée et l'ammoniac dans la même cuvette (triangles bleus), par rapport à un essai à blanc sans échantillon (cercles verts). Les points finaux individuels pour l'ammoniac, l'urée et le L-arginine, après l'ajout de l'enzyme GIDH d'origine microbienne, de l'uréase et de l'arginase, respectivement, sont indiqués par des flèches. Le temps global d'analyse est de moins de 16 mn.



Équation 4 (glutamate déshydrogénase d'origine microbienne)
 $2\text{-Oxoglutarate} + \text{NADPH} + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{acide L-glutamique} + \text{NADP}^+ + \text{H}_2\text{O}$

Équation 5 (uréase)
 $\text{Urée} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{CO}_2$

Équation 6 (arginase)
 $\text{L-Arginine} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{urée} + \text{ornithine}$

tionnellement, certains vignerons ne tentaient même pas d'estimer la teneur en ADL, se contentant d'ajouter de l'azote en excès sous forme de phosphate de diammonium. Mais il a été découvert que cette pratique mène souvent à l'excrétion de l'urée dans le vin par les levures. Après une réaction avec de l'éthanol lors de l'élevage, l'urée génère du carbamate d'éthyle, qui est un cancérigène pour les humains. Par conséquent, il faut toujours doser la teneur en ADL avec exactitude, si possible, avant tout ajout d'azote.

Analyses pendant la fermentation alcoolique (primaire)

Acide acétique: Pendant et juste après la fermentation alcoolique, de faibles quantités d'acide acétique sont produites, contribuant à la « complexité » du vin. Cependant, des bactéries nocives comme *Ace-tobacter* peuvent générer de fortes teneurs en acide acétique, avec un impact olfactif très négatif. Par conséquent, l'acide acétique est un indicateur clé pour la qualité des vins, et cet acide est dosé tout au long de la vinification. Les kits d'essai basés sur l'enzyme acétyl-coenzyme A synthétase (ACS; **équations 7, 8 et 9**) sont de loin les plus couramment utilisés dans la filière viticole, mais ils présentent d'importants problèmes aussi bien pour les petites exploitations que pour les grandes.

Comme de nombreux autres kits, les kits de base pour l'acide acétique contiennent des fioles d'enzyme lyophilisée (ACS), qui après reconstitution avec de l'eau n'est stable que pendant 5 jours. Pour un petit

domaine viticole, cette durée de stabilité n'est pas suffisante pour pouvoir utiliser toute l'enzyme avant sa date de péremption.

Pour les grands domaines, le problème survient lorsque le kit est adapté aux analyseurs automatiques. Puisque le mélange de réactifs possède une stabilité très restreinte, il ne peut être utilisé que pendant 1 jour environ, tandis que les réactifs pour d'autres kits, tels que l'acide L-malique (qui est préparé de la même manière), sont stables pendant une semaine environ. Mais un kit avancé pour l'acide acétique est désormais sur le marché ; il emploie une enzyme ACS dans une nouvelle suspension très stable de sulfate d'ammonium. Par conséquent, il est désormais possible de faire un seul essai sans impact sur la durée de stabilité du reste de l'enzyme. Ce kit contient aussi un « facteur de stabilisation » qui augmente considérablement la stabilité du réactif lorsqu'il est préparé pour les analyseurs automatiques (figure 5). Un autre

Équation 7 (acétyl-coenzyme A synthétase)
Acide acétique + ATP + CoA → acétyl-CoA + AMP + pyrophosphate

Équation 8 (citrate synthétase)
Acétyl-CoA + oxaloacétate → citrate + CoA

Équation 9 (L-malate déshydrogénase)
Acide L-malique + NAD⁺ → oxaloacétate + NADH + H⁺

point faible des essais basés sur l'enzyme ACS pour le dosage de l'acide acétique concerne la complexité des calculs, en raison d'une « réaction d'indicateur » qui est en équilibre (équation 9). De plus, il faut prendre en compte une faible réaction de « glissement ». Ces problèmes ont été résolus par la mise au point de simples calculateurs dans Excel, tels que Mega-Calc™. D'autres versions existent pour d'autres kits d'essais pour vins. Ils peuvent être téléchargés à titre gracieux sur les sites Internet des fabricants.

Récemment, un kit alternatif pour l'acide acétique, basé sur l'enzyme acétate kinase, a été mis au point, surtout pour les analyseurs automatiques utilisés dans la filière viticole (équations 10, 11 et 12).

Ce kit présente plusieurs avantages importants : il offre non seulement une très grande stabilité pour les analyseurs automatiques, mais aussi une quantité stœchiométrique de NADH est consommée pendant la réaction (équation 12), qui donne des droites d'étalonnage linéaires (figure 6), à l'opposé des kits basés sur l'ACS, où une « réaction d'indicateur » en équilibre entraîne une évolution non-stœchiométrique de l'absorbance par rapport à la teneur en acide acétique.

Glycérol : Comme pour la plupart des aliments et des boissons, la « sensation en bouche » est une caractéristique très importante du vin, et elle est influencée en grande partie par la teneur en glycérol. Les essais sont donc effectués afin qu'un niveau suffisant de glycérol soit produit pendant la fermentation et que ce produit ne soit pas détérioré ensuite par les micro-organismes nocifs. Il existe des kits d'essais de base, proposés par un certain nombre de fournisseurs, mais les réactifs ne sont stables que pendant 4 jours après leur préparation. Cependant, un kit d'essai avancé a été récemment mis au point ; il est très rapide (figure 7) et, ce qui est encore plus important, les réactifs labiles sont présents sous forme de comprimés très stables, ce qui résout le problème d'instabilité posé par tous les autres kits pour glycérol, supprimant ainsi le gaspillage et donc minimisant le coût de l'analyse.

D-Glucose/D-Fructose : Pendant la fermentation alcoolique, la teneur en éthanol augmente, tandis que les niveaux de D-fructose et de D-glucose passent d'environ 25 % (w/v) initialement à < 0.2 % (w/v). La fermentation doit se poursuivre jusqu'à ce que la teneur en sucres résiduels soit très basse, car dans le cas contraire, une fermentation ultérieure pourrait avoir un impact très négatif sur le vin, avec la production de dioxyde de carbone (CO₂) dans la bouteille, ou le développement de micro-

■ **Figure 4: Le logiciel de traitement des données brutes d'absorbance Mega-Calc™ pour le dosage de l'ADL en utilisant les kits d'essais de chez Megazyme pour le L-arginine, l'urée, l'ammoniac et l'azote aminé primaire.** Les valeurs d'absorbance à blanc sont saisies en haut de la page, dans les champs indiqués. Après la saisie des points finaux de réaction pour l'ammoniac, l'urée, le L-arginine et l'azote aminé primaire, ce logiciel basé sur Excel calcule automatiquement les valeurs pour les composés individuels en g/L ainsi qu'une valeur globale d'ADL en mg N/L.

Mega-Calc™
Yeast Available Nitrogen Determination

Setting new standards in test technology

FEED ANALYSIS
BEVERAGE ANALYSIS
FOOD ANALYSIS

Sample details

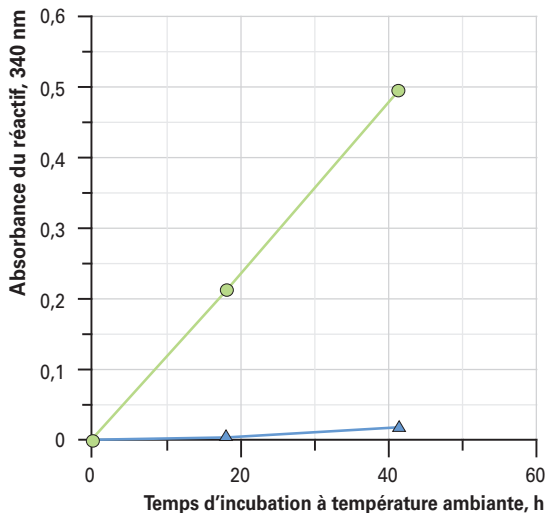
Blank absorbance values

Analyte	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄
YAN				
PAN				

Sample absorbance values

Sample identifier	Analyte	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	Sample volume (mL)	Dilution (-fold)	Results	Δ Abs Analyte	Analyte (g/L)	Analyte (mg N/L)
1	YAN _{Ammonia}					0,10	1				
	YAN _{Urea}										
	YAN _{L-Arginine}										
	YAN _{AUG}										
	PAN					0,05	1				
	YAN _{Total}										
2	YAN _{Ammonia}					0,10	1				
	YAN _{Urea}										
	YAN _{L-Arginine}										
	YAN _{AUG}										
	PAN					0,05	1				
	YAN _{Total}										
3	YAN _{Ammonia}					0,10	1				
	YAN _{Urea}										
	YAN _{L-Arginine}										
	YAN _{AUG}										
	PAN					0,05	1				
	YAN _{Total}										

■ **Figure 5: Le réactif stabilisé du kit d'essai avancé pour l'acide acétique.** Le réactif de base (cercles verts) et le réactif stabilisé (triangles bleus) pour l'acide acétique ont été préparés pour une application dans des analyseurs automatiques et incubés à température ambiante (environ 22,5 °C). À certains moments (0 h, 18 h et 41,5 h), l'absorbance des réactifs a été déterminée. Sur cette durée, qui est équivalente à environ 6 jours à 4 °C, l'absorbance du réactif stabilisé à 340 nm n'a augmenté que de 0,018, tandis que celle du réactif non stabilisé a augmenté de 0,495.



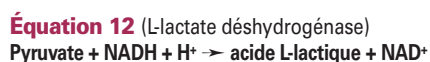
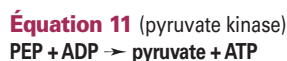
organismes nocifs. Pour la production de vins moelleux, il est très important de doser avec exactitude les teneurs en sucres afin d'augmenter les niveaux de D-glucose et de D-fructose à environ 8 g/L, par exemple par l'ajout du jus de raisin concentré.

Autres composés: Il est également important de doser les 4 composants de l'ADL pendant la fermentation alcoolique afin de garantir la disponibilité permanente de l'azote et aussi de vérifier que des teneurs importantes d'urée ne s'accumulent pas dans le moût. L'acide D-lactique peut aussi être dosé pour surveiller l'absence de bactéries lactiques.

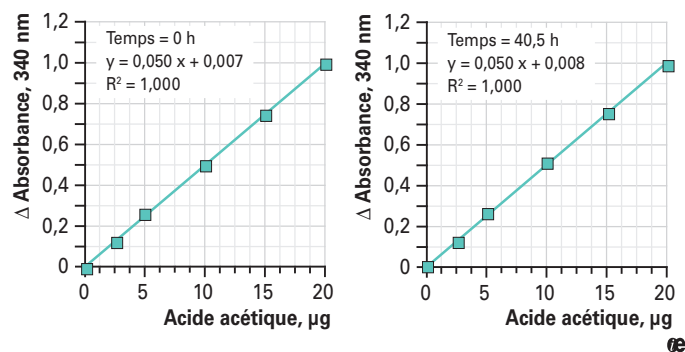
Analyses relatives à la fermentation malolactique (secondaire)

Il est préférable que la fermentation malolactique (FML) bactérienne ait lieu après la fermentation alcoolique; elle effectue la conversion de l'acide L-malique en acide L-lactique et en CO₂. Elle a lieu dans la plupart des vins rouges et dans certains vins blancs (tels que le Chardonnay), entraînant une hausse importante du pH d'environ 0,1 à 0,45 unités. Le suivi de la FML (initiation, avancement et achèvement) représente l'une des tâches les plus importantes dans la filière viticole. Si elle est inachevée au moment de la mise en bouteilles, le CO₂ produit par la MLF provoquera dans le meilleur des cas, un vin légèrement pétillant et dans le pire des cas, l'expulsion partielle du bouchon, voire la rupture de la bouteille. Comme il est mentionné ci-dessus, les kits d'essais rapides sont disponibles pour les grands domaines disposant d'un spectrophotomètre (ou d'un analyseur automatique), ou pour les petits domaines ayant un colorimètre

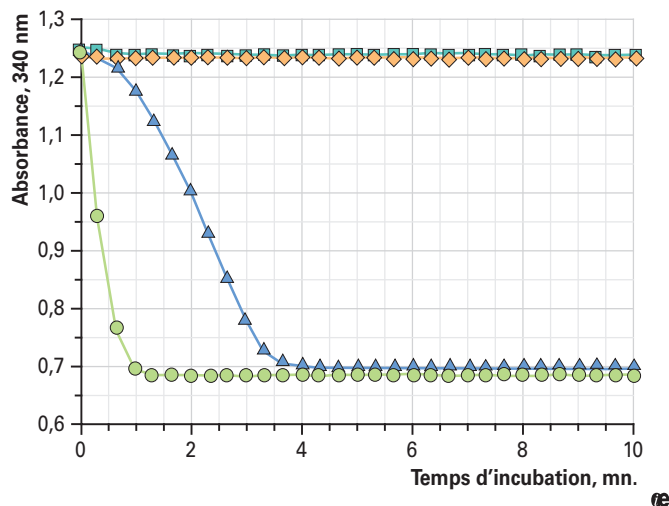
rienne ait lieu après la fermentation alcoolique; elle effectue la conversion de l'acide L-malique en acide L-lactique et en CO₂. Elle a lieu dans la plupart des vins rouges et dans certains vins blancs (tels que le Chardonnay), entraînant une hausse importante du pH d'environ 0,1 à 0,45 unités. Le suivi de la FML (initiation, avancement et achèvement) représente l'une des tâches les plus importantes dans la filière viticole. Si elle est inachevée au moment de la mise en bouteilles, le CO₂ produit par la MLF provoquera dans le meilleur des cas, un vin légèrement pétillant et dans le pire des cas, l'expulsion partielle du bouchon, voire la rupture de la bouteille. Comme il est mentionné ci-dessus, les kits d'essais rapides sont disponibles pour les grands domaines disposant d'un spectrophotomètre (ou d'un analyseur automatique), ou pour les petits domaines ayant un colorimètre



■ **Figure 6: Les droites d'étalonnage linéaires pour le kit Megazyme pour l'acide acétique, utilisant l'enzyme acétate kinase stabilisée.** Après l'incubation des réactifs préparés pendant 40,5 h à température ambiante (environ 22,5 °C), le kit Megazyme pour l'acide acétique utilisant l'enzyme acétate kinase stabilisée donne une droite d'étalonnage linéaire (figure de droite) quasiment identique à celle obtenue à 0 h (figure de gauche).



■ **Figure 7: La performance rapide du kit enzymatique avancé de chez Megazyme pour le glycérol, par rapport à un produit concurrent.** Comme pour la plupart des kits d'essais enzymatiques avancés de chez Megazyme, le temps de réaction pour le kit de glycérol (cercles verts) est considérablement plus faible que celui des produits concurrents (triangles bleus).



MegaQuant™. La capacité des analyses pour l'acide L-malique en interne est sans aucun doute très avantageuse pour les petits domaines viticoles, qui autrement ne pourraient pas se permettre d'analyser chaque fût de vin, et même si c'était possible gaspilleraient beaucoup de temps précieux dans les aller-retour entre le domaine et le laboratoire. Il est également possible de suivre, par voie enzymatique, la hausse de la teneur en acide L-lactique.

Analyses sur les vins finis

De nombreux kits d'essais enzymatiques sont utilisés dans la production et l'analyse des vins finis:

Stabilité: Afin d'augmenter la stabilité microbienne et oxydative, les teneurs en sulfite (SO₂) et en acide L-ascorbique doivent être déterminées en vue de faire les ajouts nécessaires. Il ne faut pas dépasser les limites maximales pour la teneur globale en SO₂ (car cela peut être dangereux pour la santé), tandis que la présence de l'acide L-ascorbique sans une quantité suffisante de SO₂ peut entraîner une oxydation du vin par l'intermédiaire du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Les teneurs résiduelles en D-glucose, D-fructose et acide L-malique sont également

dosées afin d'estimer la stabilité microbienne du vin, bien que les teneurs de SO₂ soient généralement suffisantes dans les vins finis pour inhiber le développement des micro-organismes nocifs.

Micro-organismes nocifs: Il est possible de déterminer la présence de fortes teneurs en acide acétique, acétaldéhyde, acide D-lactique et D-mannitol grâce aux kits d'essais enzymatiques. Leur présence indique le développement de micro-organismes nocifs.

Authenticité: Il est possible d'utiliser des kits d'essais pour détecter divers adultérants; la présence d'amidon indique l'ajout de ce produit dans le but d'augmenter artificiellement l'extrait sec, un paramètre de qualité pour la saveur et la charpente du vin. Les acides citrique et D-malique sont généralement présents en de très faibles quantités; des niveaux plus élevés indiquent donc leur ajout comme acidulants. Seul l'ajout de saccharose est autorisé pour la production de certains vins, comme le Champagne. L'ajout illicite est facilement détecté avec un kit d'essai pour le saccharose, le D-fructose et le D-glucose. Si la teneur en éthanol dépasse 17,5 % (v/v) environ, il est probable qu'un ajout ait été effectué.

Sécurité: Comme il a été déjà mentionné, de fortes teneurs en urée dans le vin fini peuvent entraîner la production de carbamate d'éthyle lors de l'élevage. Dans ce cas, un traitement avec l'enzyme uréase est autorisé afin de ramener la teneur de ce précurseur cancérigène à des niveaux acceptables.

L'avenir de la bio-analyse enzymatique dans la filière viticole

Comme il est démontré par le grand nombre de kits d'essais nouveaux ou améliorés qui ont été lancés depuis 2 ans, les fabricants des produits de bio-ana-

lyse enzymatique pour la filière viticole, tels que Megazyme, ont une approche proactive, non seulement dans leurs collaborations étroites avec les œnologues pour définir quels sont les nouveaux produits qui s'avèrent nécessaires et les produits existants qui doivent être renforcés, mais aussi dans la réalisation d'études et de développements pour trouver rapidement des solutions efficaces.

Cependant, il reste encore beaucoup de travail pour les deux parties, en ce qui concerne la mise au point de nouveaux produits pour l'avenir et l'acceptation par l'OIV des produits actuels. ■



Megazyme International Ireland Ltd.
 Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, Ireland
 Phone: + 353 1 286 1220 - Fax: + 353 1 286 1264
 E-mail: info@megazyme.com - www.megazyme.com