

**PREPARATIONS ENZYMATIQUES**  
(OIV-OENO 365-2009, OIV-OENO 485-2012)

Les prescriptions formulées ci-dessous concernent toutes les préparations enzymatiques susceptibles d'être utilisées au cours des diverses opérations que l'on peut appliquer aux raisins et à leurs dérivés.

Elles se basent sur les « General Specifications and Considerations for Enzymes used in Food Processing » émises par le "Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 67th Meeting, Rome 20 - 29 June 2006 et publiées en 2006 dans les Monographies FAO JECFA.

**1. GENERALITES**

Les préparations enzymatiques peuvent être élaborées à partir de microorganismes ou de toute autre source biologique sûre. Lorsqu'il s'agit de rechercher une synergie entre diverses activités enzymatiques telles que les pectinases, les cellulases et les hémicellulases, des mélanges de préparations issues de souches différentes peuvent être réalisés. Ces préparations peuvent contenir un ou plusieurs composants actifs, ainsi que des supports, des diluants, des agents conservateurs, des antioxydants ou d'autres substances compatibles avec les bonnes pratiques de fabrication et en accord avec la réglementation locale. Elles peuvent dans certains cas contenir des cellules ou des fragments de cellules. En outre, elles peuvent se présenter sous l'aspect liquide ou solide. Les substances actives peuvent également être immobilisées sur des supports admis pour des usages alimentaires.

**2. ETIQUETAGE**

L'étiquetage des préparations enzymatiques doit préciser au minimum le nom de l'enzyme, conformément aux règles dictées par l'IUBMB (ex. polygalacturonase), l'activité (en unités par g ou ml), le numéro de lot, les conditions de conservation pour le maintien de la stabilité et la date limite d'utilisation. Les préparations enzymatiques à effets technologiques multiples (cf. 4.1) doivent comporter le nom de chaque enzyme sur lesquelles la préparation a été standardisée.

Si la place à disposition le permet, il serait souhaitable que les informations complémentaires suivantes figurent également sur l'étiquette : dosage préconisé et conditions de mise en œuvre, nature des additifs et des supports utilisés, nature des activités enzymatiques. Si la place fait défaut, ces informations seront alors indiquées sur la fiche technique de la préparation.

L'indication que les préparations enzymatiques ont été obtenues à partir d'organismes génétiquement modifiés doit être mentionnée. S'il n'en est pas fait mention sur l'étiquette, le fait d'avoir fait appel au génie génétique pour améliorer les microorganismes produisant l'enzyme doit être mentionné dans la documentation liée.

### **3. PREPARATIONS ENZYMATIQUES ADMISES**

Toutes les préparations enzymatiques contenant des activités présentant un intérêt technologique dûment prouvé dans la pratique et remplissant pleinement les conditions et les critères mentionnés ci-dessous, sont admises pour le traitement des raisins et de leurs dérivés.

Les préparations enzymatiques utilisées ne doivent contenir ni substance, ni micro-organisme ou activité enzymatique pouvant :

- être nuisible à la santé ;
- être nuisible à la qualité des produits élaborés, en particulier au niveau de la couleur, de l'arôme et du goût des vins ;
- conduire à la formation de produits indésirables ;
- occasionner ou faciliter une fraude.

### **4. ACTIVITES ENZYMATIQUES**

#### **4.1 Généralités**

Les préparations enzymatiques contiennent souvent plusieurs activités enzymatiques. En dehors des activités enzymatiques principales (activité(s) sur laquelle - respectivement sur lesquelles - la préparation enzymatique est standardisée) dont l'intérêt et l'effet technologiques ont été dûment prouvés, des activités enzymatiques dites secondaires ne sont tolérées que dans les limites des contraintes technologiques de production des préparations enzymatiques.

De manière générale, les activités secondaires contenues dans une préparation donnée ne doivent pas devenir la raison

principale motivant l'utilisation de ladite préparation, à moins qu'il ne s'agisse d'une préparation à effets technologiques multiples. En ce qui se réfère au Code International des Pratiques Œnologiques, Oeno 11/04, 18/04 et 3/85, différence est faite, au niveau technologique, entre les types de préparations suivantes à effet :

- macérant : facilitent l'extraction de composés tels que la couleur, les tanins, etc.
- clarifiant / filtrant : facilitent la clarification et la filtration des moûts et des vins
- révélateur d'arôme : renforce et/ou modifie le profil aromatique des moûts et des vins
- stabilisant : facilite l'extraction de macromolécules ou d'autres substances ayant un effet stabilisant sur les vins (ex. mannanes des levures).

Lorsqu'une préparation enzymatique génère des effets technologiques multiples, dûment constatés dans la pratique, (ex. enzymes clarifiantes et révélatrices d'arôme) qu'ils soient la résultante d'activités principales et/ou secondaires, elle doit être déclarée comme telle sur l'étiquette. Les différentes activités responsables de ces effets doivent être dosées et indiquées dans la fiche technique de la préparation.

#### **4.2 Mesure des activités**

Les activités enzymatiques présentes sont dosées dans les conditions qui correspondent à leurs caractéristiques biochimiques (pH, température) et si possible le plus proche de celles rencontrées dans la pratique (jus de raisin, moût ou vin). Les méthodes mises en œuvre doivent correspondre à l'état de l'art en matière analytique et, si possible, être validées selon des standards internationaux appropriés (par ex. ISO 78-2 ; ISO 5725).

Les résultats sont exprimés en nanokatal/g ou en nanokatal/ml, ou en unités de viscosité dans le cas d'enzymes présentant des activités de type « endo- ». (nkat = 1 nmole de substrat transformé par seconde par g ou ml de la préparation). Les résultats doivent être donnés en faisant référence à la méthode employée.

Dans le cas où l'effet technologique recherché résulterait de l'action de différentes enzymes au sein d'une même préparation,

la mesure de chacune de ces activités enzymatiques est nécessaire. Chacune de ces activités fera l'objet d'une monographie spécifique au sein du Codex, où seront précisées les méthodes de mesure.

### **5. SOURCES D'ENZYMES ET MILIEUX DE FERMENTATION**

Les sources d'enzymes doivent être non pathogènes, non toxigènes et génétiquement stables. En outre, les milieux de fermentation ne doivent pas laisser de résidus nuisibles à la santé dans les préparations enzymatiques. Dans le cas des micro-organismes, une étude de sécurité doit être réalisée afin de s'assurer qu'une préparation enzymatique produite par une espèce donnée de micro-organisme (ex. *Aspergillus niger*) ne présente pas de risque pour la santé. Cette étude peut être effectuée en se basant sur les principes énoncés dans les lignes directrices pour les enzymes alimentaires publiées par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AES/A/EFSA) ou d'autres organismes équivalents.

Les techniques mises en œuvre doivent être compatibles avec les bonnes pratiques de fabrication et les prescriptions du Codex œnologique international si des levures et/ou des bactéries lactiques sont utilisées.

### **6. SUPPORTS, DILUANTS, AGENTS CONSERVATEURS OU AUTRES ADDITIFS**

Les substances utilisées comme supports, diluants, agents conservateurs ou autres additifs ne doivent pas, par effet « carry-over », diffuser dans les raisins et leurs produits dérivés des composés qui ne seraient pas compatibles avec la réglementation en vigueur dans les différents pays. Par ailleurs, ces composés ne doivent pas avoir d'incidence négative sur la qualité et les propriétés organoleptiques du vin.

Dans le cas d'enzymes immobilisées, les supports utilisés doivent répondre aux normes sur les matériaux entrant en contact avec les denrées alimentaires. Pour ce dernier type de préparation, la teneur des composants du support utilisé, susceptibles de passer dans le moût ou le vin, devra être déterminée et indiquée sur l'étiquette de la préparation enzymatique.

Des agents conservateurs tels que le KCl sont ajoutés dans le concentré liquide d'enzymes au cours de la fabrication. Ces substances permettent

d'éviter le développement de micro-organismes au cours des différentes opérations de formulation des produits. Elles se retrouvent dès lors non seulement dans les préparations liquides mais également dans les préparations solides. Compte tenu de l'inévitable effet « carry-over », seuls les agents conservateurs qui sont compatibles avec la réglementation en vigueur dans les différents pays sont autorisés. Ces substances doivent être clairement identifiées et indiquées sur l'étiquette ou sur la fiche technique du produit commercial.

## **7. HYGIENE ET TENEURS LIMITEES EN CONTAMINANTS**

Les préparations enzymatiques doivent être produites en accord avec les bonnes pratiques de fabrication.

### **7.1 Plomb**

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Teneur inférieure à 5 mg/kg.

### **7.2 Mercure**

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Teneur inférieure à 0,5 mg/kg.

### **7.3 Arsenic**

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Teneur inférieure à 3 mg/kg.

### **7.4. Cadmium**

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Teneur inférieure à 0,5 mg/kg

### **7.5 Salmonelles sp**

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Absence contrôlée sur un échantillon de 25 g.

### **7.6 Coliformes totaux**

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Teneur inférieure à 30 par gramme de préparation.

**7.7 *Escherichia coli***

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.

Absence contrôlée sur un échantillon de 25 g.

**7.8 ACTIVITE ANTIMICROBIENNE :**

non détectable.

**7.9 MYCOTOXINES SPECIFIQUES AUX DIVERSES SOUCHES DE PRODUCTION :**

non détectables.

**8 . FICHE TECHNIQUE A FOURNIR OBLIGATOIREMENT PAR LE FABRICANT**

Chaque sorte de préparation enzymatique doit être définie à l'aide d'une fiche technique.

Celle-ci doit contenir au minimum les informations suivantes :

- Nom de l'enzyme et origine biologique (par exemple enzyme pectolytique de *Aspergillus niger* ou enzyme pectolytique de *A. oryzae* exprimée dans *A. niger*);
- Activité déclarée (en nKat/g ou nKat/ml de préparation)
  
- Domaines et modalités d'application (effets technologiques attendus et détails utiles à la mise en oeuvre de la préparation);
- Stabilité de la préparation avec période limite d'utilisation à partir de la date de production, garantissant le maintien de l'activité, sous des conditions de stockage données (température, ...)
- Types de réactions catalysées par les activités enzymatiques principales;
- Activités enzymatiques principales avec N° IUB (par exemple Tannase 3.1.1.20);
- Activités enzymatiques secondaires avec, si possible, le N° IUB
- Types de supports, de diluants, d'agents conservateurs ou d'additifs utilisés, ainsi que leurs teneurs ;

Si jugé utile, d'autres informations peuvent compléter cette fiche technique.