

Etude de la rétention de composés d'arôme par les bentonites en moût, vin et milieux modèles

par

S. LUBBERS, CLAUDINE CHARPENTIER et M. FEULLAT

Institut Jules Guyot, Institut Universitaire de la Vigne et du Vin, Laboratoire d'Oenologie Université de Bourgogne, Dijon, France

Résumé : Les bentonites étudiées en milieu modèle présentent de grandes différences de capacité de fixation pour les deux composés d'arôme testés: γ -décalactone et β -ionone. L'adsorption de substances d'arôme sur une bentonite semble peu modifiée par la présence d'éthanol à la concentration de 126 ml/l, mais elle est fortement augmentée en présence de glucose et de fructose à la concentration de 100 g/l. Nous avons mis en évidence un effet cumulé de la fixation de la γ -décalactone dû à la bentonite seule et aux protéines piégées par la bentonite. Cependant il n'existe pas de corrélation entre l'efficacité déprotéinisante et sa capacité de rétention de substances volatiles.

Study of the binding of aroma compounds by bentonites in must, wine and model systems

S u m m a r y : In a model system bentonites showed important differences on the binding capacity of the aroma compounds γ -decalactone and β -ionone. Adsorption of volatile substances was not modified by ethanol at 126 ml/l but was strongly increased by glucose and fructose at a 100 g/l concentration. Additional effects for the binding of γ -decalactone due to bentonite alone and proteins removed by the bentonite were observed. However, no correlation was found between the protein removal efficiency and the binding capacity of aroma compounds.

Key words : bentonite, binding capacity, aroma compounds, must, wine.

Introduction

La limpidité et la brillance des vins blancs sont des facteurs essentiels de qualité mais cette limpidité peut être limitée par la présence de protéines. Les protéines, bien que ne représentant que 0,2 à 2 % de la matière sèche dans les vins blancs, présentent une grande diversité. Certaines sont plus ou moins instables vis-à-vis de changement de pH et de température du vin et tendent naturellement à former un précipité opalescent (HSU et HEATHERBELL 1987 a, b). Pour assurer la stabilité des vins, les protéines sont généralement éliminées, lors des traitements dit de clarification, par co-précipitation avec une bentonite. Les bentonites sont des argiles à structure en feuillet et appartiennent aux groupes des phyllosilicates (MAUJEAN 1993). Une bentonite peut être considérée comme un échangeur de cations (cations échangeables au niveau de l'espace interfoliaire) ce qui lui confère la propriété de fixer les protéines du vin. En effet au pH du vin la plupart des protéines présentent une charge nette positive. Au niveau de la pratique le critère de sélection d'une bentonite est basé sur l'efficacité déprotéinisante (LUBBERS *et al.* 1995 a). Bien que pour certains un bentonitage effectué correctement n'affecte ni le goût, ni la valeur alimentaire du vin, SIMPSON et MILLER (1983) et MILLER *et al.* (1985) ont mis en évidence des pertes en composés d'arôme dans un vin bentonité. VOILLEY *et al.* (1990) ont également observé la fi-

xation de composés d'arôme sur une bentonite en milieu modèle. Par ailleurs il a été montré que certaines macromolécules du vin jouent un rôle important dans l'équilibre aromatique du produit (LUBBERS *et al.* 1993, 1994), mais ces macromolécules peuvent être plus ou moins éliminées lors des traitements de clarification. L'ensemble de ces travaux laisse supposer la rétention possible de composé d'arôme par les bentonites, soit par interaction directe soit conjointement à l'élimination des protéines.

L'objectif de ce travail est d'étudier les interactions arômes-bentonites par une technique de partage liquide-solide, afin d'essayer de discriminer les bentonites sur leur capacité de rétention des composés d'arôme et d'établir une relation avec leur efficacité vis-à-vis de la fixation des protéines.

Matériel et méthodes

Echantillonnage des bentonites : Seize bentonites sodiques et une calcique disponibles dans le commerce ont été étudiées (Tab. 1). Chaque produit a été caractérisé par la mesure de son efficacité déprotéinisante vis-à-vis d'une solution d'ovalbumine.

Test d'efficacité d'une bentonite sur une solution d'ovalbumine : Ce test est décrit dans le Codex Oenologique International (OIV 1990). 1 ml

Tableau 1
Caractéristiques des bentonites
Characteristics of bentonites

Bentonite	Nature et Présentation	Gisement
BT	Bentogran, bentonite sodique granulé	-
LA1	Volclay, bentonite sodique granulé	USA
LA2	Voclay, bentonite sodique granulé	USA
LA3	Bentosol, bentonite sodique granulé	Grèce
LO1	Bentonite sodique Montmorillonite granulé	-
LO2	Probent, bentonite sodique Montmorillonite granulé	-
IM1	Bentonite sodique granulé	USA
IM2	Bentonite sodique poudre	France
IM3	Bentonite sodique poudre	USA
OF1	Bentonite sodique poudre	-
OF2	Bentonite sodique poudre	-
OF3	Bentonite sodique granulé	-
MC	Bentonite sodique Montmorillonite	USA
MV2	Bentonite sodique naturelle granulé	USA
MV4	Bentonite calcique poudre	Allemagne
MV5	Bentonite sodique activée granulé	Italie
VO	Volclay, bentonite sodique poudre	-

d'une suspension de bentonite à 100 g/l, préparé 24 h avant, est introduit dans 100 ml d'une solution contenant 5 g/l d'acide citrique et 0,625 g/l d'ovalbumine. Le mélange est agité et laissé à température ambiante pendant 48 h, puis centrifugé (2000 g), 10 min (LUBBERS *et al.* 1995 a). La concentration en protéines est alors déterminée par le dosage de l'azote total (méthode de Kjeldahl) et par la méthode de Lowry.

Partage liquide-solide : Les deux composés d'arôme retenus pour cette étude: β -ionone et γ -décylactone sont présents en assez faible quantité dans les vins mais des études antérieures ont fait apparaître que ces substances interagissent significativement avec différents substrats organiques: polysaccharides, protéines.

Les bentonites sont mises à gonfler 24 h dans l'eau distillée (50 g/l). Cette suspension (2 ml) est alors ajoutée à 100 ml de milieu de dilution contenant le composé d'arôme. L'ensemble est agité pendant 1 min et les flacons

fermés hermétiquement (Erlenmeyer bouché émeri). Les essais sont laissés pendant 48 h à 20 °C pour permettre à la bentonite de sédimenter. La concentration en β -ionone libre est déterminée par chromatographie en phase gazeuse en injectant directement 2 μ l du surnageant situé au-dessus du dépôt de bentonite (LUBBERS *et al.* 1994). Dans le cas de la γ -décylactone, ce composé est utilisé en mélange avec la molécule tritiée. On détermine alors la radioactivité présente dans 100 μ l de surnageant (DRUAUX *et al.* 1995). Dans ces conditions, nous avons travaillé pour les deux composés avec une concentration de 100 ppm pour limiter les sources d'erreurs liées à l'extraction des composés d'arôme. Il a été vérifié que le taux de fixation sur les bentonites était similaire pour une gamme de concentration en γ -décylactone de 5 à 150 ppm. Les résultats sont exprimés sous la forme d'un pourcentage de composé d'arôme lié à la bentonite par rapport à la quantité initiale d'arôme: taux de fixation. Ce taux de fixation est significatif avec une probabilité $p < 0,05$ pour des valeurs > 5 .

Composition des milieux de dilution : Quatre milieux de dilution synthétiques différents ont été utilisés:

Milieu témoin - solution d'acide citrique à 5 g/l dont le pH est ajusté à 3,2 par NaOH 1M.

Milieu protéines - milieu Témoin additionné de 0,625 g/l de protéines (préparation d'ovalbumine Oeno-France).

Moût modèle - glucose 100 g/l, fructose 100 g/l, acide malique 6 g/l, acide tartarique 3 g/l, acide citrique 0,3 g/l, sulfate de potassium 2 g/l, sulfate de magnésium 0,2 g/l, dont le pH est ajusté à 3,2 par NaOH 1M.

Vin modèle - acide malique 3 g/l, acide acétique 0,1 g/l, sulfate de potassium 0,1 g/l sulfate de potassium 0,1 g/l, sulfate de magnésium 0,025 g/l, éthanol 126 ml/l, dont le pH est ajusté à 3,2 par NaOH 1M.

Le moût et le vin ont été élaborés à partir de cépage Chardonnay en 1993 au Centre d'Expérimentations Viticoles et Oenologiques de l'Université de Bourgogne. Le moût de Chardonnay a été stabilisé par l'ajout de 50 mg/l d'acide ascorbique, 200 mg/l de métabisulfite de potassium. La γ -décylactone tritiée est ajoutée comme traceur dans le moût et le vin.

Résultats et discussion

Milieu témoin : Les pourcentages de fixation de composé d'arôme par les bentonites ont été déterminés en solution aqueuse acide pH 3,5 et sans éthanol. Les bentonites à la concentration de 1 g/l fixent des quantités de composé d'arôme de 0 à 23 % pour la γ -décylactone (Tab. 2). Six bentonites ont également été étudiées avec la β -ionone. Il apparaît que la fixation de ce composé est significativement plus importante pour trois bentonites LA1, OF2, MV2 par rapport aux taux de fixation de la γ -décylactone. Les bentonites qui ne fixent pas la γ -décylactone, ne retiennent pas la β -ionone.

Parmi ces 14 bentonites, il apparaît que certains produits LA1, IM1, MV2 présentent un effet déprotéinisant

Tableau 2

Taux d'élimination des protéines et taux de fixation de composés d'arôme sur les bentonites à la dose de 1 g/l

Protein removal and aroma binding effects (%) of bentonites (1 g/l)

Bentonite	Taux d'élimination de protéines	γ -décalactone	β -ionone
LA1	73	17	25
IM1	77	23	23
LO2	45	0	0
OF2	82	3	9
MV2	78	9	16
MV4	23	0	0
LA2	73	18	nd
LA3	82	1	nd
IM2	68	0	nd
IM3	73	23	nd
LO1	64	3	nd
OF1	56	3	nd
OF3	56	0	nd
MV5	65	0	nd

important, exprimé par le taux d'élimination de protéines (LUBBERS *et al.* 1995 a) et une capacité de fixation des deux composés d'arôme élevée. Cependant il n'est pas possible d'établir une corrélation entre ces deux phénomènes de fixation: protéines et arômes. En effet les mécanismes mis en jeu sont différents. Dans le cas des protéines, la bentonite peut se comparer à un échangeur de cations, les protéines présentant une charge globale positive au pH du vin. Dans le cas des composés d'arôme, des phénomènes d'adsorption sont en cause et font intervenir des liaisons de faible énergie de type liaison hydrogène ou interactions hydrophobes.

En résumé, les bentonites composées de nature minérale, présentent des capacités de fixation de composés d'arôme non négligeables par rapport à celles de substrats organiques comme les protéines ou les lipides (KINSELLA 1990). Ces résultats sont en accord avec les travaux de MILLER *et al.* (1985) et de VOILLEY *et al.* (1990) qui ont mesuré des taux de rétention de composés d'arôme par les bentonites équivalents.

En présence de protéines: Le pourcentage de fixation de la γ -décalactone par quelques bentonites a été déterminé en présence de protéines dans le milieu d'étude. Une augmentation de la fixation du composé d'arôme sur les bentonites d'un facteur 1,5 à 3 est observé par rapport aux mesures effectuées dans le milieu Témoin (Fig. 1). On met en évidence l'effet cumulé de la fixation du composé d'arôme par la bentonite et par les protéines, qui sont elles-mêmes adsorbées par la bentonite. Plusieurs travaux ont montré que les protéines présentent des capacités de fixation des composés d'arôme importantes (KINSELLA 1990). Le produit VO en présence de protéines fixe plus de 30 % de la γ -décalactone présente dans le milieu. Les bentonites étant éliminées du vin lors d'un traitement, cela représente en fait une perte effective de ce composé d'arôme pour l'équilibre aromatique du produit. Cependant il est à noter que la quantité de protéines utilisée dans ces expériences est dix fois plus importante que celle généralement rencontrée dans les vins. On

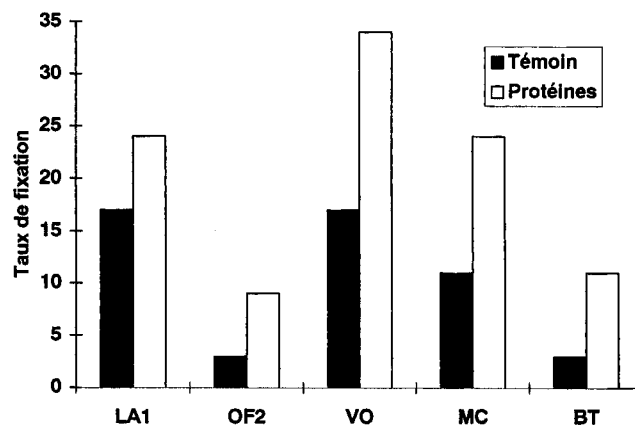


Fig. 1: Taux de fixation de la γ -décalactone sur les bentonites (1g/l) en fonction de la composition du milieu.

Bentonites (1 g/l) binding rate (%) of γ -decalactone as a function of medium composition.

peut donc supposer que l'effet sur un vin serait moins important.

En moût et en vin: La bentonite est utilisée dans la pratique le plus souvent pour traiter le vin mais elle peut être employée également sur le moût de raisin. Ces deux milieux se différencient de la solution Témoin par la présence d'alcool pour le vin et la présence de monosaccharides (glucose, fructose) pour le moût. L'influence de ces deux constituants sur la fixation de composés d'arôme par les bentonites a été étudiée dans un moût et un vin dits "modèles". Des mesures dans un moût et un vin de cépage Chardonnay ont également été effectuées.

La présence de sucres (glucose-fructose 200 g/l) entraîne une augmentation de la fixation de la γ -décalactone sur la bentonite VO d'un facteur 1,6 par rapport au milieu Témoin (Fig. 2). L'influence des monosaccharides sur les propriétés physico-chimiques des composés d'arôme a été montrée par plusieurs auteurs (DUBOIS *et al.* 1995). Ainsi les sucres diminuent généralement la solubilité des composés d'arôme, ceci entraînant une augmentation de leur volatilité. Ce phénomène est à rapprocher du mécanisme de salting out. Dans notre cas, la diminution de la solubilité

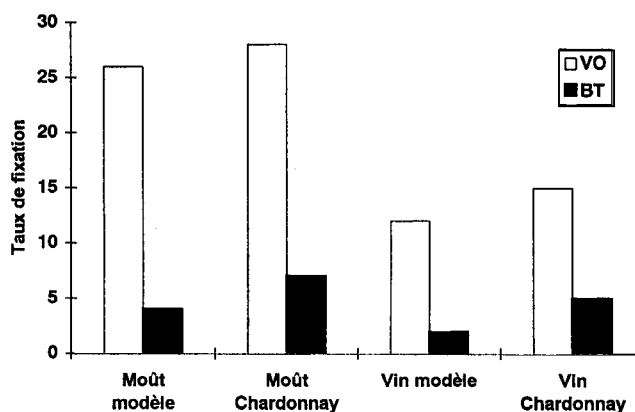


Fig. 2: Taux de fixation de la γ -décalactone sur les bentonites (1g/l) dans un moût et un vin modèle et dans un moût et un vin de cépage Chardonnay.

Bentonites (1 g/l) binding rate (%) of γ -decalactone in model must and wine and in must and wine of Chardonnay.

du composé d'arôme due à une mobilisation par les sucres d'une partie de l'eau de solvatation augmente la proportion d'arôme capable d'interagir avec les substances non volatiles du milieu telles que la bentonite.

Les pertes en arômes peuvent donc être supérieures en traitement en moût notamment en ce qui concerne les arômes variétaux. Il n'est cependant pas possible à la vue de nos résultats de prévoir le devenir des précurseurs glycosylés dans les cépages aromatiques lors d'un traitement en moût.

Dans le vin modèle qui renferme 126 ml/l d'éthanol, le pourcentage de fixation de la γ -déalactone est inférieur à celui mesuré dans le milieu Témoin, mais les résultats ne sont pas significativement différents au seuil de 5 %. L'éthanol augmente à l'inverse des sucres, la solubilité des composés d'arôme ce qui se traduit généralement par une diminution de la rétention des substances volatiles sur les substrats non-volatils du milieu (LUBBERS *et al.* 1995 b). Il a été montré que l'adsorption de composés organiques sur des polymères poreux de même nature que ceux utilisés pour l'extraction des arômes diminue en présence d'éthanol (AMINOU 1985). Ce type de phénomène n'est pas mis en évidence dans le cas des bentonites.

Les résultats dans un moût et un vin de Chardonnay confirment ceux obtenus en milieu modèle. Cependant la quantité de protéines dans le moût et dans le vin utilisés étant très faible de l'ordre de 20 mg/l, nous ne mettons pas en évidence un piégeage cumulé sur les protéines et sur la bentonite.

Conclusion

Ce travail mené sur milieux modèles et sur moût et vin de Chardonnay met en évidence les grandes différences de capacité d'adsorption de composés d'arôme des bentonites. Ces agents de clarification des moûts et des vins semblent présenter des propriétés d'adsorption proches de celles de polymères poreux de nature minérale utilisés pour l'extraction de substances d'arôme dans des milieux biologiques par exemple. Parmi les bentonites étudiées, certaines peuvent fixer jusqu'à 2,3 mg de composé volatil par gramme de produit. L'adsorption de substances d'arôme sur la bentonite semble peu affectée par la présence d'éthanol mais elle est fortement augmentée par les monosaccharides présents dans le moût.

Dans nos conditions expérimentales, nous avons mis en évidence un effet cumulé de la fixation de la γ -déalactone dû à la bentonite et aux protéines fixées par la bentonite. Cependant il n'existe pas de corrélation entre l'efficacité déprotéinisante de la bentonite et sa capacité de rétention de substances d'arôme.

De manière générale, les pertes en composés d'arôme lors d'un traitement à la bentonite pourraient être dues à la

fixation des arômes sur les glycoprotéines du vin elles-mêmes piégées par la bentonite et à l'adsorption sur la bentonite. On comprend alors qu'un vin traité avec des quantités excessives de bentonite ou subissant plusieurs traitements successifs peut être déprécié sur le plan organoleptique et notamment au niveau aromatique.

Du point de vue technologique, il apparaît donc indispensable que dans les critères de sélection d'une bentonite, on prenne en compte la rétention plus ou moins élevée des composés d'arôme par celle-ci, un compromis entre l'effet sur les protéines et le respect de la qualité aromatique devant être obtenu.

Bibliographie

- AMINOU, T.; 1985: Contribution à l'étude cinétique de l'adsorption d'hétérocycles azotés en milieux aqueux et aqua-organiques: effet des solvants organiques. Thèse de Doctorat ès Sciences, Université de Tours.
- DRUAUX, C.; LUBBERS, S.; CHARPENTIER, C.; VOILLEY, A.; 1995: Effects of physico-chemical parameters of a model wine on the binding of deacalactone on bovine serum albumin. *Food Chem.* **53**, 203-207.
- DUBOIS, C.; LUBBERS, S.; VOILLEY, A.; 1995: Revue bibliographique: Interactions arômes-autres constituants - Application à l'aromatization. *Ind. Aliment. Agric.* **112**, 186-193.
- Hsu, J. C.; HEATHERBELL, D. A.; 1987 a: Isolation and characterization of soluble proteins in grapes, grape juice and wine. *Amer. J. Enol. Viticult.* **38**, 6-10.
- ; --; 1987 b: Heat-unstable proteins in wine. I. Characterization and removal by bentonite fining and heat treatment. *Amer. J. Enol. Viticult.* **38**, 11-16.
- KINSELLA, J. E.; 1990: Flavor perception and binding. *Int. New Fat Oils Relat. Mater.* **1**, 215-226.
- LUBBERS, S.; GUERREAU, J.; FEULLAT, M.; 1995 a: Etude de l'efficacité déprotéinisante de bentonites commerciales sur un moût et des vins des cépages Chardonnay et Sauvignon. *Bull. O.I.V.* **68**, 224-244.
- ; VOILLEY, A.; CHARPENTIER, C.; FEULLAT, M.; 1993: Influence des traitements de clarification sur la qualité aromatique du vin - Mise en évidence d'interactions entre les colloïdes et les arômes du vin. *Rev. Franc. Oenol.* **33** (144), 12-18.
- ; --; --; 1995 b: Effects of ethanol on the binding of aroma compounds on proteins and their surface hydrophobicity. In: *Bioflavour 95. Les Colloques n° 75*, 127-129. INRA, Paris.
- ; --; FEULLAT, M.; CHARPENTIER, C.; 1994: Influence of mannoproteines from yeast on the aroma intensity of a model wine. *Lebensm. Wiss. Technol.* **27**, 108-114.
- MAUJEAN, A.; 1993: Propriétés physico-chimiques des bentonites: applications oenologiques. *Rev. Franc. Oenol.* **33** (143), 43-53.
- MILLER, G. C.; AMON, J. M.; GILSON, R. L.; SIMPSON, R. F.; 1985: Loss of wine aroma attributed to protein stabilization with bentonite or ultrafiltration. *Austral. Grapegrower Winemakers* (256), 49-50.
- O.I.V.; 1990: Bentonites. In: *Codex Oenologique International, Office International de la Vigne et du Vin*, Paris.
- SIMPSON, R. F.; MILLER, G. C.; 1983: Special Procedures for White Wines: Conserving Flavors. 100th Grape and Wine Symp., Roseworthy Agricultural. Coll., 1983, Roseworthy, Australia.
- VOILLEY, A.; LAMER, C.; DUBOIS, P.; FEULLAT, M.; 1990: Influence of macromolecules and treatments on the behavior of aroma compounds in a model wine. *J. Agricult. Food Chem.* **38**, 248-215.

Reçu le 23 Août 1995