Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 1995, **29**, N°1, 27-42

RELATIONS ENTRE LES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES D'UNE BENTONITE ET SON POUVOIR D'ADSORPTION

RELATION BETWEEN PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF A BENTONITE AND ITS ADSORPTIVE CAPACITY

R. MARCHAL, J. BARRET et A. MAUJEAN

Faculté des Sciences de Reims, Laboratoire d'Œnologie, Moulin de la Housse, BP 347, 51062 Reims (France)

Résumé : La composition argileuse, la nature des cations échangeables et les propriétés d'adsorption de 14 bentonites œnologiques sont décrites et comparées. La composition en minéraux des bentonites, déterminée par diffraction aux rayons X (RX), ne permet pas plus que l'indice de gonflement de prévoir l'activité de celles-ci. En revanche, le rapport Na/Ca, compris entre 0,5 et 3,7 est correctement corrélé à la surface active et aux capacités d'adsorption des protéines dans le vin ou dans un milieu synthétique contenant de l'albumine de sérum de bœuf (BSA.). Les résultats démontrent également que l'adsorption des protéines du vin répond à l'équation de LANGMUIR, et que la capacité maximale d'adsorption est d'autant plus importante que la bentonite est pauvre en calcium échangeable.

Abstract : Bentonites are clays essentially used for musts and wines protein haze prevention. For the « Méthode Champenoise », they also serve as a riddling adjuvant to facilitate yeasts elimination. Physico-chemical characteristics of various types of bentonites are studied in parallel to their adsorption properties. Na/Ca exchangeable ratio is contained between 0.5 and 3.7. Swelling indexes measured in wine or in drinking water ($r = 0.96$) are not related to the Na/Ca ratio. On the other hand, a good correlation exists between the specific adsorption surface (measured with methylene blue test), the BSA or the wines proteins adsorption capacity and the Na/Ca ratio. Otherwise, all of the three tests provide more or less identical informations. For Champagne base wine, the adsorption phenomenon follows the LANGMUIR's equation. Additionnaly, it is shown that the maximum adsorbable protein content by unit of adsorbing material increases with the Na/Ca ratio. All enologic products analysed by X-rays contain montmorillonite with variable percentage. Some products contain an important proportion of kaolinite or illite. However, there is no correlation between mineral compositions and adsorption capacities of the studied bentonites.

Mots clefs : bentonite - protéines - adsorption - vin
Key words : bentonite - proteins - adsorption - vine

INTRODUCTION

Les bentonites sont des argiles utilisées dans les vins depuis 60 ans pour la prévention des casses protéiques principalement. SAYWELL (1934) notait que les méthodes habituellement utilisées pour la clarification des vins californiens restaient insuffisantes, alors que l'emploi de la bentonite donnait des résultats satisfaisants, tant pour la clarification que pour la stabilisation protéique.

RIBÉREAU-GAYON (1932) avait déjà montré que l'addition au vin de kaolin permettait d'éliminer les protéines et de leur conférer ainsi une stabilité parfaite. Mais la kaolinite, argile non gonflante, occasionne des pertes en vin importantes en raison des doses utilisées (jusqu'à 500 g/hl), imposées par sa faible capacité d'adsorption.

A partir de 1945, des traitements plus rationnels de stabilisation des vins blancs contre les troubles protéiques, à base de bentonite, se répandirent de manière quasiment universelle (la bentonite est utilisée légalement en France depuis 1964 seulement).

Depuis 1960, la bentonite est également utilisée lors du débourbage des moûts (MILISAVLJEVIC, 1963) pour prévenir les troubles protéiques du vin. Il faut également noter que les bentonites sont utilisées en méthode champenoise en tant qu'adjuvant de remuage dans le but de faciliter l'élimination des dépôts levuriens.

Les caractéristiques physico-chimiques, les propriétés clarifiantes et stabilisantes de bentonites d'origines diverses firent l'objet de nombreuses études (HOLDEN, 1954 ; KEAN et MARSH, 1956) dans lesquelles l'adsorption des protéines était uniquement considérée de manière quantitative.

L'évolution des techniques biochimiques de fractionnement des protéines permit ensuite (FEUILLAT, 1974 ; HSU et HEATHERBELL, 1987 ; KOCH et SAJAK, 1959 ; LEDOUX et *al.*, 1992 ; LELEU, 1993 ; MORETTI et BERG,1965 ; MURPHEY et *al.*,1989) d'entreprendre l'identification des macromolécules azotées responsables de la casse protéique et d'analyser de manière qualitative l'effet d'un traitement à la bentonite sur ces diverses macromolécules.

Toutefois, malgré ces études, l'effet recherché par un traitement à la bentonite n'est pas toujours maîtrisé car il dépend de l'origine viticole des moûts et des vins, du stade d'élaboration des vins, mais aussi et surtout de la bentonite utilisée. Nous étudions dans le présent article les relations existant entre les caractéristiques minérales de 14 bentonites et leurs propriétés d'adsorption.

GÉNÉRALITÉS SUR LES BENTONITES

Les bentonites utilisés pour le traitement des moûts et des vins sont essentiellement composées d'argiles douées de propriétés de surface exceptionnelles (caractère gonflant, affinité pour l'eau, capacité d'adsorption de composés électropositifs, cohésion, plasticité) désignées par le terme d'activité. Cette activité est liée à différents paramètres physico-chimiques :

- l'extrême finesse des particules, se traduisant par une surface spécifique externe élevée (5 à 80 m^2/g pour les montmorillonites, selon la granulométrie des particules argileuses).

- une structure en feuillets des particules argileuses permettant de développer une surface spécifique interne considérable (jusqu'à 800 m^2/g pour les montmorillonites).

- l'état chargé de ces surfaces où s'exercent des forces électriques responsables pour une large part du phénomène d'activité.

L'activité d'une argile dépend donc largement de sa capacité d'échange en cations (CEC). Les valeurs, en mEq/100 g de sol, sont comprises dans les fourchettes suivantes :

Montmorillonite (Mt) : 80 à 150

Illite (Ill) : 10 à 40

Kaolinite (Kaol) : 3 à 15

La montmorillonite, principale composante des bentonites, possède une structure cristalline dioctaèdrique (DERIBERE et ESME, 1951). Ces charges négatives sont neutralisées par des cations compensateurs qui se logent dans les espaces interfoliaires ou à la surface externe des particules argileuses.

Ces cations sont de nature diverse : Ca, Na, Mg et dans une moindre mesure Fe et K. Ils peuvent être échangés par des traitements d'activation.

$$\text{Bentonite - Ca} + Na_2CO_3 \longrightarrow \text{Na - bentonite - Na} + CaCO_3$$

$$\text{Bentonite - Mg} + Na_2CO_3 \longrightarrow \text{Na - bentonite - Na} + MgCO_3$$

Les bentonites seront sodiques, calciques ou magnésiennes en fonction du cation majoritaire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I — MATÉRIEL

1) Descriptif du vin

Le vin utilisé est un préassemblage de cuvées de Pinot noir, élaboré par le Centre Vinicole de la Champagne (C.V.C.) situé à Chouilly (Marne). Le moût d'origine n'a subi aucun traitement préfermentaire de décoloration ou de clarification.

L'analyse courante de ce vin est la suivante :

Acide malique : absence

Acidité volatile : 0,24 g H_2SO_4/l

Acidité totale : 4,60 g H_2SO_4/l

pH : 3,11

Alcool : 11,0 p. cent vol

SO_2 libre : 13 mg/l

SO_2 total : 44 mg/l

Protéines : 12,4 mg/l EBSA (équivalent BSA) (Bradford)

Le vin a traité par le froid (48 h à - 4°C), puis filtré sur cartouche.

TABLEAU I

Aspect des argiles

Produit	Couleur	Présentation	Produit	Couleur	Présentation
B1	blanc	P	B8	blanc-crème	P
B2	blanc-crème	P	B9	crème-verdâtre	P
B3	blanc	P	B10	blanc	P
B4	gris-bleuté	G	B11	gris-bleuté	G
B5	crème	P	B12	crème-verdâtre	G
B6	grisâtre	P	B13	crème-verdâtre	P
B7	grisâtre	P	B14	crème-verdâtre	P

2) Bentonites

Les bentonites étudiées nous ont aimablement été fournies par les divers revendeurs champenois.

Ces préparations œnologiques (il s'agit parfois de mélanges d'argiles) seront notées de B1 à B14. Elles se présentent sous forme de poudre (P) ou de granulés (G), de couleur variable (tableau I). B10 n'est pas une bentonite mais un adjuvant de remuage composé exclusivement d'argiles.

II — MÉTHODES

1) Diffraction RX

Le goniomètre utilisé, Philips DX 1940, est équipé d'un générateur Philips PW 1010/80 et d'un enregistreur Philips PW 8203.

Le tube de cuivre à foyer fin est un FOCUS FW 1500 KV Philips (10 mm x 0,04 mm). La raie Kβ est éliminée par un filtre de Nickel (épaisseur 20 µm).

Conditions expérimentales :

- puissance utilisée : 720 W (36 KV, 20 mA)

- vitesse de balayage : 1°/min (en 2Θ)

- déroulement du papier : 2 cm/min

D'après la formule de BRAGG, on obtient un pic chaque fois que $\lambda = 2\ d \sin \Theta$

d = distance inter-réticulaire ou interfoliaire (en Å)

Θ = angle correspondant à l'ordonnée maximale du pic (mesuré en 2Θ)

$\lambda_{cuivre} = 1{,}5405$ pour l'anticathode utilisée (en Å)

Dans un premier temps, les diffractogrammes des 14 bentonites sous forme sèche sont enregistrés. Les granulés de bentonite sont auparavant finement broyés dans un mortier en agate. L'indexation des diffractogrammes est réalisée à l'aide du fichier JCPDS qui indique, pour chaque minéral pur, les distances inter-réticulaires d (appelées distances interfoliaires pour les bentonites) et les intensités des raies.

Les bentonites sont ensuite mises à gonfler avec de l'éthylène glycol et à nouveau analysées par diffraction RX. L'augmentation de $d_{(0,0,1)}$ permet de confirmer l'identification des pics de montmorillonite.

Les poudres argileuses sont disposées sur un porte-échantillons entraîné par un moteur (90 rpm), permettant ainsi une étude de tous les plans.

2) Solubilisation des cations totaux

Elle est réalisée par attaque à l'acide fluorhydrique (GUERIN, 1975). Cette technique permet de détruire l'édifice cristallin des minéraux.

3) Cations échangeables

Les bentonites (1 g) sont mises en solution dans de l'acétate d'ammonium 1M (100 ml) pendant 24 heures. Du fait de sa petite taille et sous l'effet du gradient de concentration, le cation NH_4^+ va déplacer les ions Ca, Na, K ou Fe qui passent en solution. La solution est filtrée sur membrane 0,65 mm et le filtrat ajusté à 250 ml.

4) Dosage des cations

Les cations libérés des bentonites par attaque fluor-

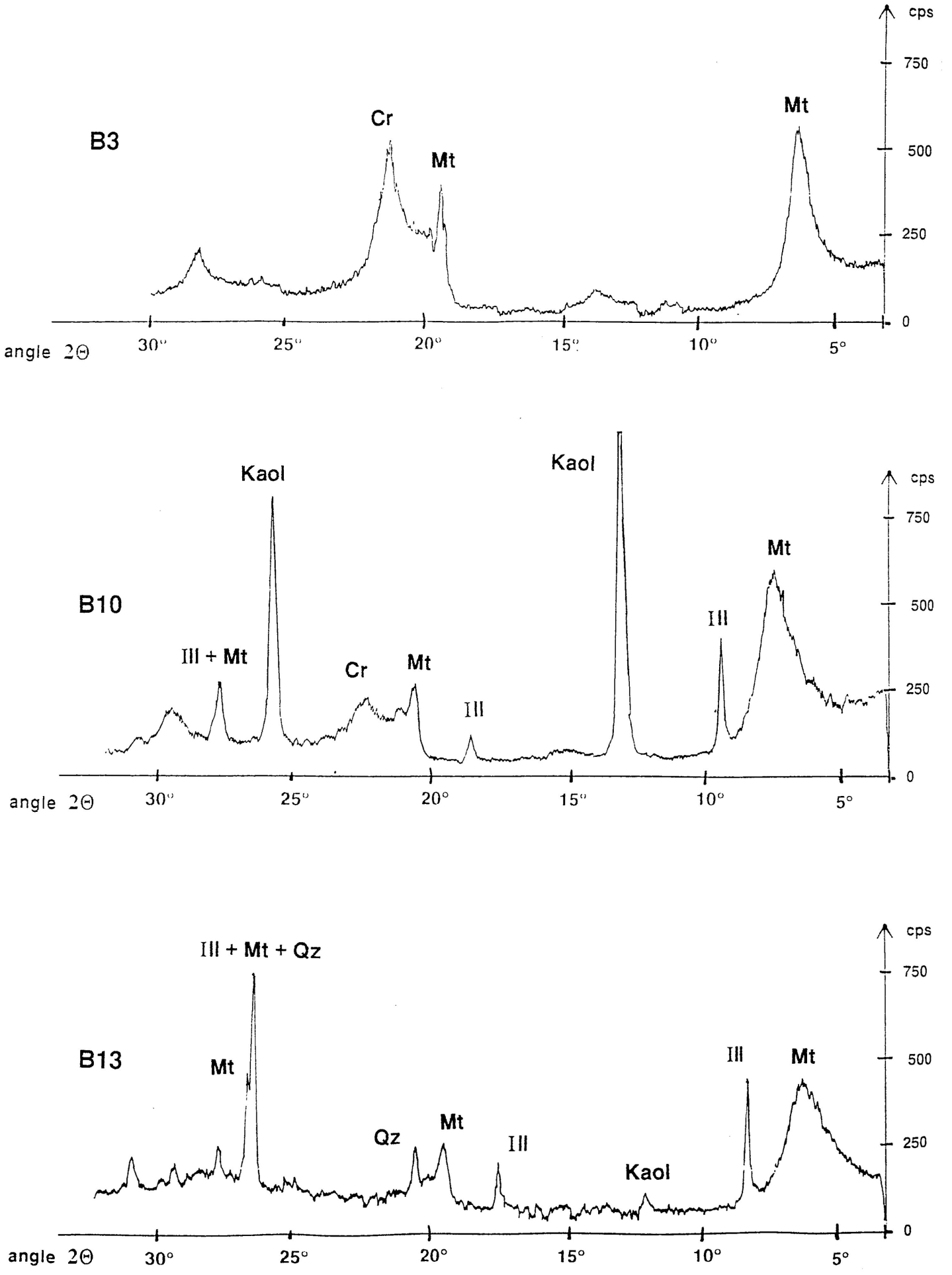


Fig. 1 — Diffractogrammes des bentonites sèches B3, B10 et B13

hydrique ou déplacés par les ions ammonium sont dosés par spectrophotométrie d'émission de flamme (Na, K) ou d'absorption atomique (Fe, Ca, Mg). Le spectrophotomètre utilisé est un VARIAN 11- 1275 monofaisceau.

5) Indices de gonflement

Le volume occupé par 5 g d'argile sèche et tassée est mesuré. On saupoudre ensuite les 5 g de bentonite par petites fractions à 500 ml d'eau distillée, d'eau du robinet ou de vin soumis à une vive agitation magnétique afin d'éviter que les fines particules ne forment des grumeaux difficiles à déliter. Après 24 h, on détermine l'indice de gonflement IG = volume du sédiment (ml)/volume d'argile sèche (ml).

Pour notre étude, ce protocole a été préféré à celui préconisé par le Codex Œnologique International, car il correspond mieux à la pratique œnologique.

6) Détermination de la surface spécifique d'adsorption

La valeur au bleu de méthylène d'un sol (VBS) permet une classification et une identification des sols (SCHAEFFNER, 1989). Pour les bentonites, le « test au bleu » emprunté au génie géologique permet de déterminer la surface spécifique des argiles (JOHNSON, 1957 ; TRAN NGOC, 1977).

La surface spécifique d'adsorption ou encore surface active de la fraction argileuse, notée Sa, est déterminée selon le mode opératoire décrit dans la norme AFNOR P18-592. Dans le principe, on verse à la burette du bleu de méthylène dans une solution de bentonite. Après chaque addition, une goutte de suspension argileuse est déposée sur du papier. Lorsqu'un anneau bleu ciel apparaît à la périphérie de la tache, les particules argileuses sont saturées en colorant. On détermine alors Sa.

7) Adsorption des protéines

a) Solution de BSA

30 mg d'argile sèche sont saupoudrés dans 40 ml d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) à 500 mg/l, sous agitation magnétique (500 rpm). Après 24 h de contact, la solution est centrifugée 5 minutes à 3000 g et les protéines sont dosées dans le surnageant (BRADFORD, 1976). Les résultats sont exprimés en équivalents Bovine Serum Albumine (EBSA).

b) Adsorption des protéines du vin

- Influence du type d'argile

Le vin est traité par chaque bentonite à la dose de 10 g/hl. Après 24 h de contact, temps pour lequel l'équilibre est atteint, le vin est centrifugé et les protéines dosées.

- Influence combinée de la dose et du type de bentonite

Le vin est traité avec 3 bentonites aux doses de 5, 10, 20 et 30 g/hl. Ces trois bentonites ont été sélectionnées sur la base de leur capacité d'adsorption de la BSA. B1 et B9 correspondent aux capacités d'adsorption respectivement maximale et minimale. B11 présente une capacité d'adsorption intermédiaire. Après 24 h de contact (temps pour lequel l'équilibre d'adsorption est atteint), les protéines du vin sont dosées (BRADFORD, 1976).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1) Diffraction RX

A partir des diffractogrammes enregistrés (figure 1), la distance inter-réticulaire d (exprimée en Å) des pics est calculée et les minéraux identifiés (tableau II).

Tous les produits œnologiques étudiés présentent un pic caractéristique de la montmorillonite à environ 12-14 Å. Le traitement à l'éthylène glycol des ces argiles provoque une augmentation de d(0,0,1) qui passe à 16-17 Å. Il s'agit donc bien de montmorillonite (Mt). Son pourcentage par rapport à l'ensemble des composés argileux est déterminé de la manière suivante : % Mt = IMt /(IMt + IIll + I Kaol), où I représente l'intensité de chacun des pics en coups par seconde.

Dans une précédente étude menée dans ce même laboratoire sur les adjuvants de remuage (et pas seulement les bentonites), MAUJEAN (1993) a identifié des argiles composées presque exclusivement d'illite ou de kaolinite, argiles non gonflantes et totalement dépourvues de Mt. Ces types de produits ne nous ont pas été fournis, probablement parce qu'ils ne répondaient pas à notre demande. Il se peut aussi que la qualité des produits argileux ait simplement évolué.

Le % Mt permet de classer les bentonites en 4 catégories dont l'altération géologique est de plus en plus importante et la CEC de plus en plus faible.

Catégorie a) % Mt = 100 : B2, B3, B5, B6, B7, B8, B9, B11, B12. Cette catégorie est de loin la plus représentée (9/14). Le seul composé argileux présent est la Mt, il serait donc logique de trouver parmi ces produits les plus fortes capacités d'adsorption.

TABLEAU II

Compositions minérales des bentonites étudiées

Les valeurs représentent les coups par seconde (cps) sur les diffractogrammes

Composants	d sèche	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14
Montmorillonite	12,16-14,48	804	288	464	536	392	448	572	364	192	440	572	352	312	364
Illite	9,77-9,93	56	—	—	56	—	—	—	—	—	316	—	—	352	440
Kaolinite	7,02-7,08	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1168	—	—	60	44
Illite	4,46-4,98	—	—	—	—	—	—	—	—	—	76	—	—	128	240
Montmorillonite	4,44-4,47	368	192	268	332	296	324	356	236	—	152	248	180	136	156
Quartz	4,21-4,25	—	80	—	—	—	42	—	52	—	—	48	108	124	120
Cristobalite	4,02-4,09	—	—	328	—	—	—	—	192	84	92	136	424	—	—
Feldspaths	3,98-4,02	—	396	—	176	—	176	68	—	—	—	—	—	—	—
Feldspaths	3,73-3,75	60	76	—	—	—	48	72	—	—	—	—	—	—	—
Kaolinite	3,56	—	—	—	—	—	—	—	—	—	544	—	—	—	—
Illite (+ montmorillonite)	3,32-3,33	52	—	—	—	—	—	236	—	—	168	—	436	624	712
Montmorillonite	3,30-3,33	—	—	—	292		—	—	—	—	—	—	—	312	560
Quartz (+illite+montmorill.)	3,31-3,33	—	264	—	—	—	268	—	132	488	—	340	436	624	712
Feldspaths	3,21-3,24	100+76	—	—	1380	—	128	—	—	—	—	—	—	—	
Feldspaths	3,16-3,17	60	—	—	—	124	56	—	—	84	—	120	100	—	1168
Feldspaths	3,11-3,12	—	—	124	—	—	848	—	52	—	92	—	296	—	92

Catégorie b) % Mt = 90 : B1, B4. On note dans ces deux produits la présence d'illite en quantités toutefois inférieures ou égales à 10 p. cent.

Catégorie c) % Mt < % illite : B13, B14. Pour ces deux argiles, la Mt n'est plus le composé majeur. On note également la présence de kaolinite, produit géologique dérivant de l'illite.

Catégorie d) % Mt + % illite < 50 : B10. La principale argile est la kaolinite, produit non gonflant en raison de sa structure cristalline et du dernier stade de l'altération géologique des feldspaths.

Il est également intéressant de noter, à côté de ces composés argileux, la présence de minéraux non argileux en quantités variables : quartz, feldspaths alcalins, cristobalite et calcite.

- la cristobalite est rencontrée dans les bentonites provenant de gisements américains : elle permet pour B3, B8, B12 de connaître l'origine des produits.

- la calcite identifiée dans B12 provient probablement du traitement d'activation qu'a subi l'argile puisqu'elle n'est pas naturellement présente dans les bentonites.

- l'intensité des pics de feldspaths renseigne sur l'altération géologique également : B4, B14, B2.

Néanmoins, la caractérisation par diffraction aux RX permet seulement de faire une analyse semi-quantitative. La comparaison des intensités des pics est donc à considérer avec une certaine réserve.

2) Cations

Pour des raisons de neutralisation électrique, des cations se logent dans les espaces interfoliaires ainsi qu'à la surface des feuillets. Le cation majoritairement représenté conditionne largement les propriétés physico-chimiques des bentonites (BLADE et BOULTON, 1988 ; WEGER, 1965). Nous avons vu, à ce propos, qu'une activation chimique permet de modifier le cation principal.

Le dosage des cations permet donc de déterminer la nature de l'argile : sodique, calcique ou magnésienne. BLADE et BOULTON (1988) classent les bentonites en tenant compte des deux principaux cations échangeables. Pour le Na et le Ca, ils obtiennent ainsi 4 catégories : Na, Na-Ca, Ca-Na, Ca. Pour le calcul des corrélations entre les divers paramètres étudiés, nous ne pratiquerons pas une telle classification en raison du nombre trop faible d'échantillons. Les résultats obtenus dans ces conditions n'auraient aucune valeur statistique.

Les teneurs en cations totaux (C.T.) et échangeables (C.E.), exprimées en mg/100g de bentonite, sont rassemblées dans le tableau III. Seules B9 et B14 présentent un rapport Na/Ca nettement inférieur à 1. Elles constituent donc le groupe des bentonites calciques. Les 12 autres argiles sont de nature sodique, si l'on se réfère aux rapports Na/Ca, au demeurant variables.

Concernant le fer, les teneurs varient entre 450 et 3600 mg/100 g bentonite, soit un rapport de 1 à 8. L'analyse des impuretés recueillies à l'échelle industrielle au fond du récipient d'hydratation des bentonites démontre la présence de limaille de fer. Le fer dosé après attaque acide ne correspond donc pas aux éléments présents dans le système cristallin ou à la surface des feuillets, mais à une contamination.

3) Indices de gonflement

Il est parfois malaisé de déterminer l'indice de gonflement (I.G.) d'une bentonite mise à gonfler dans de l'eau distillée, donc dépourvue en cations, comme le préconise le Codex Œnologique. L'argile sédimente mal et forme une suspension colloïdale. La limite sédiment-surnageant n'est pas nettement définie en raison d'une absence de floculation des particules minérales (tableau IV).

Dans l'eau du robinet ou dans le vin en revanche, le surnageant après 24 h de contact est limpide. L'eau du robinet utilisée contient principalement des ions calcium (tableau V) dont le rayon ionique est supérieur à celui du sodium. Pour les bentonites sodiques, l'hydratation et le déplacement du sodium par le calcium provoquent donc un important gonflement de l'argile. Pour les bentonites calciques, seule l'hydratation s'opère et les I.G. déterminés dans l'eau distillée sont sensiblement identiques à ceux mesurés dans l'eau de la concession (tableau IV), voire même supérieurs (MAUJEAN, 1993).

Dans le vin, la bentonite fixe des cations (tableau IV), mais également tous les composés électropositifs : acides aminés, acides organiques, peptides et protéines, complexées ou non à d'autres macromolécules (polysaccharides, polyphénols). L'indice de gonflement d'une argile dans un milieu hydroalcoolique aussi complexe reste toujours plus faible que dans l'eau du robinet, surtout pour les bentonites sodiques. Cependant, il existe une étroite corrélation entre les I.G. déterminés dans le vin et dans l'eau du robinet avec r = 0,96.

Dans la pratique, l'utilisation de bentonites calciques donne des lies plus tassées qu'avec les bentonites sodiques, avec lesquelles les lies restent plus floconneuses.

Les bentonites calciques (B9 et B14) présentent les rapports Na/Ca et les I.G. (dans l'eau ou dans le vin) les plus faibles (tableau IV). Toutefois, pour l'ensemble des bentonites, il n'existe pas de corrélation entre ces deux paramètres.

4) Surface spécifique d'adsorption

Les bentonites sont surtout utilisées en œnologie pour leurs propriétés d'adsorption et d'élimination des protéines notamment. Le choix d'une bentonite doit donc être basé sur l'activité du produit, déterminable entre autres par le « test au bleu ».

Le bleu de méthylène par son caractère électropositif (figure 2) présente une affinité pour les particules d'argile électronégatives. Il faut néanmoins préciser que Sa dépend, outre le nombre de charges, de la granulométrie des particules argileuses ainsi que du mode d'empilement des feuillets.

TABLEAU III

Teneurs en cations échangeables (C.E.) et en cations totaux (C.T.) dans les bentonites étudiées

Les valeurs sont exprimées en mg/100 g de bentonite

Produits	Dosage	Na	Ca	K	Fe	Na/Ca
B1	C.E. C.T.	1625 2250	500 650	0 280	1,1 1400	3,3
B2	C.E. C.T.	1125 1450	1160 1800	0 750	2,7 1300	1
B3	C.E. C.T.	1500 1550	1100 1150	0 70	0 540	1,3
B4	C.E. C.T.	1000 1450	500 750	0 120	1,1 2200	2
B5	C.E. C.T.	2625 3000	705 800	0 70	1,4 1950	3,7
B6	C.E. C.T.	1000 1150	600 650	0 210	3 2150	1,7
B7	C.E. C.T.	1125 1450	530 650	0 220	0,7 2200	2,1
B8	C.E. C.T.	1375 1550	1100 1250	0 390	0,9 1600	1,3
B9	C.E. C.T.	375 950	723 1050	0 720	0,3 3550	0,5
B10	C.E. C.T.	2250 2300	1225 1150	0 30	3 450	1,8
B11	C.E. C.T.	1000 1400	588 700	0 220	2,3 2010	1,7
B12	C.E. C.T.	1125 1450	833 1850	0 830	2,3 1350	1,4
B13	C.E. C.T.	2000 2100	1358 1800	0 750	2,6 3600	1,5
B14	C.E. C.T.	500 650	765 850	0 740	2,5 3100	0,6

TABLEAU IV

Indices de gonflement des bentonites

Produits	Indice de gonflement dans l'eau distillée	Indice de gonflement dans l'eau du robinet	Indice de gonflement dans le vin	Na/Ca
B1	suspension	25,8	10	3,3
B2	suspension	10	3,8	1
B3	suspension	7	2,9	1,3
B4	4,2	18,1	10,6	2
B5	2,9	9,8	4,9	3,7
B6	2	20,5	10,2	1,7
B7	1,9	36,4	16,7	2,1
B8	suspension	15,7	5,9	1,3
B9	1,7	1,9	1,9	0,5
B10	suspension	12,4	6,3	1,8
B11	4	13	5	1,7
B12	suspension	14,2	5,5	1,4
B13	suspension	29	9,3	1,5
B14	2,1	1,1	0,6	0,6

D'après CUISSET (1980), les « ions de bleu de méthylène » s'échangent avec les cations compensateurs. L'auréole observée en fin d'essai témoigne d'une saturation des fines particules argileuses devenues électropositives. Le test au bleu mesure donc une surface spécifique par excès et donne des valeurs supérieures à celles obtenues par les méthodes physico-chimiques utilisées en géologie. Les valeurs correspondant aux deux méthodes d'essais sont cependant proportionnelles. Il est donc permis de comparer les bentonites entre elles par rapport à leur Sa (tableau VI).

Les bentonites calciques présentent, sans grande surprise, les valeurs les plus basses avec 276 m^2/g, ce qui reste toutefois largement supérieur à la surface généralement développée par une illite (80 à 100 m^2/g) ou une kaolinite (20 à 40 m^2/g). Les bentonites sodiques présentent des Sa comprises entre 400 et 800 m^2/g, données normales au sens statistique du terme pour les Mt.

Le graphe Sa vs Na/Ca (figure 3) donne une corrélation r = 0,88. Ainsi, la bentonite adsorbera d'autant plus qu'elle sera riche en cation compensateur Na. En revanche, il n'y a pas de corrélation entre la surface active Sa et l'I.G. (r = 0,56).

Un matériel peu onéreux permet donc d'estimer rapidement et de manière répétitive, l'activité d'adsorption d'une préparation œnologique contenant de l'argile.

5) Adsorption de BSA en solution aqueuse

La capacité d'adsorption de la BSA est mesurée pour chacune des bentonites. Il est intéressant de constater, une fois encore, que les bentonites calciques adsorbent beaucoup moins que les bentonites sodiques (tableau VI). Ces résultats sont en accord avec ceux de BLADE et BOULTON (1988), qui démontrent par ailleurs qu'il n'existe pas de relation entre la capacité d'adsorption d'une bentonite et sa C.E.C.

TABLEAU V

Compositions en cations de l'eau du robinet et du vin

Les teneurs sont exprimées en mg/l

Cations	Eau	Vin
Ca^{++}	116	74
Mg^{++}	5,7	54
Na^{+}	11,6	9,6
K^{+}	3,9	265
NH_4^{+}	< 0,05	91

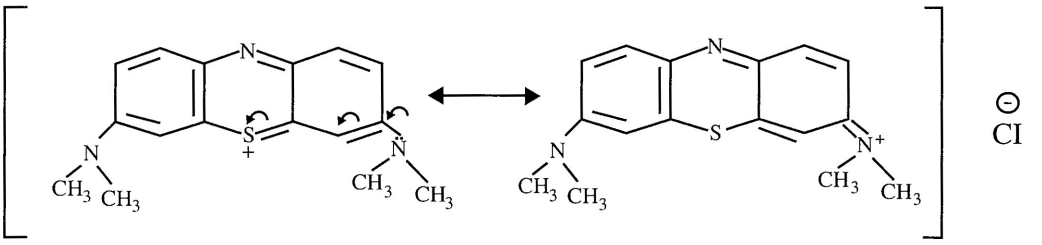


Fig. 2 — Structure chimique du bleu de méthylène

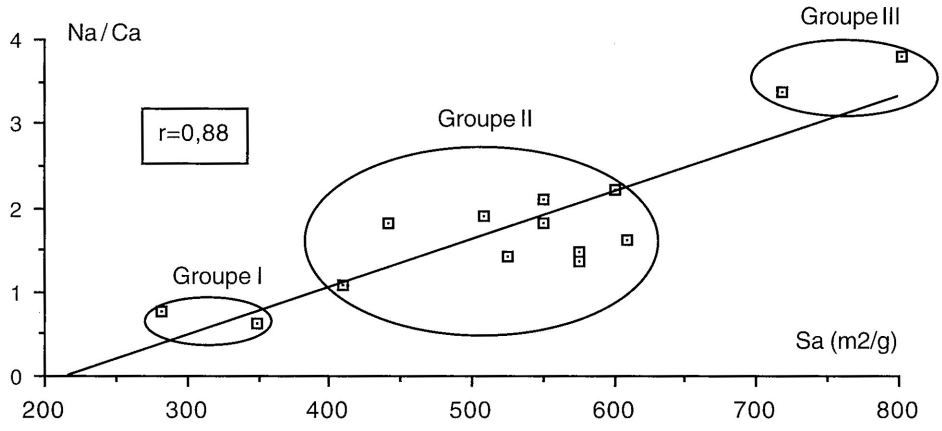


Fig. 3 — Relation entre le rapport Na/Ca d'une bentonite et sa surface active Sa

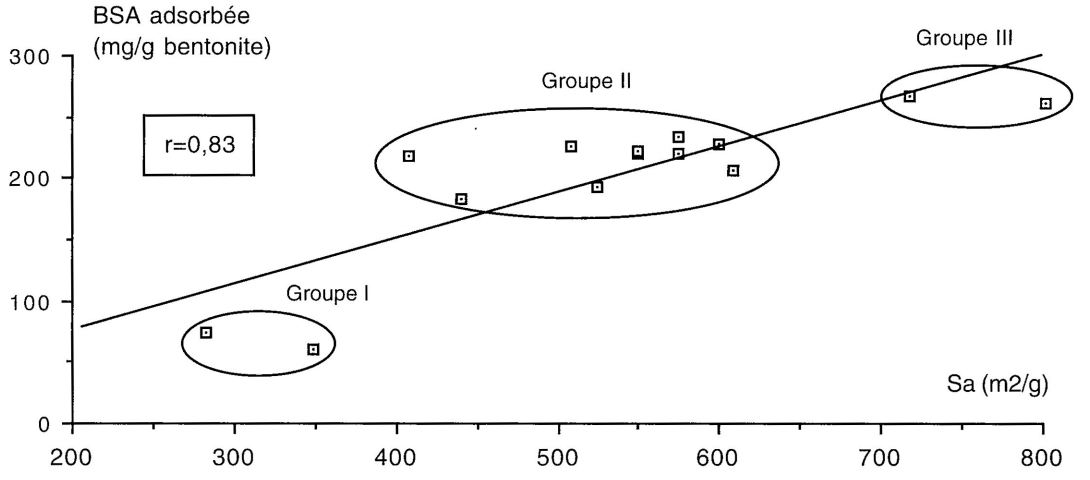


Fig. 4 — Relation entre la surface active Sa d'une bentonite et sa capacité d'adsorption de la BSA

Pour l'ensemble des bentonites, le droite de régression Sa vs BSA adsorbée (figure 4) donne une corrélation r = 0,83. Le test au bleu de méthylène et la capacité d'adsorption de la BSA fournissent par conséquent des renseignements sensiblement équivalents. Il faut noter que notre choix s'est porté sur la BSA de manière quelque peu arbitraire. SUDRAUD et *al.* (1985) démontrent que le rapport % N éliminé par la bentonite sodique sur le % N éliminé par la bentonite calcique varie selon la nature de la protéine utilisée. Ainsi, notre expérience menée avec une autre protéine que la BSA aurait pu donner un tout autre coefficient de corrélation entre Sa et le taux de protéines adsorbées, paramètres qui reflètent pourtant, en théorie, la même propriété. La droite de régression Na/Ca vs BSA adsorbée (figure 5) donne une corrélation plus modeste avec r = 0,73.

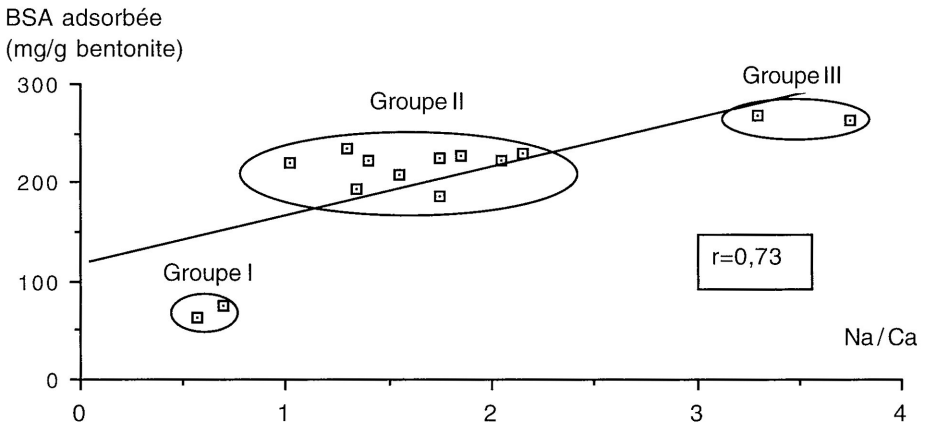


Fig. 5 — Relation entre la quantité de BSA adsorbée par une bentonite et son rapport Na/Ca échangeables

A partir des graphes 3 à 5, les bentonites peuvent se classer en 3 groupes :

- groupe I : il est composé des 2 bentonites calciques (B9 et B14) pour lesquelles les valeurs Na/Ca, BSA adsorbée et Sa sont les plus faibles, avec un rapport Na/Ca < 0,7.

- groupe II : il comprend 10 bentonites sodiques pour lesquelles Na/Ca est compris entre 1 et 2. Leurs propriétés d'adsorption sont cependant plus proches du groupe III que du groupe I.

- groupe III : il comprend B1 et B5. Ces bentonites sodiques, avec Na/Ca >3, présentent les valeurs de Sa et de BSA adsorbée maximales.

En revanche, les catégories établies après identification aux RX ne correspondent pas aux trois groupes observés sur les figures 3 à 5. Ainsi B10 contient une proportion importante d'illite et de kaolinite surtout. Elle présente cependant des capacités d'adsorption voisines de B6, B7, B8 et B12 où la montmorillonite représente 100 p. cent des composés argileux.

Par conséquent, la technique de diffraction aux RX ne permet en aucun cas, pour l'analyse de la fraction argileuse, de prévoir ou même de comparer les propriétés d'adsorption des préparations de bentonites commerciales.

6) Adsorption des protéines du vin

a) Influence du type de bentonite

Les échanges entre les ions compensateurs d'une bentonite et les nombreux composés électropositifs du vin sont beaucoup plus complexes que dans le cas de la BSA.

Les bentonites calciques (groupe I) provoquent les baisses en protéines les plus faibles (tableau VI). En revanche, les groupes II et III ne peuvent plus être distingués par ce paramètre bien qu'on obtienne pour la droite de régression Na/Ca vs protéines adsorbées, une corrélation r = 0,71 quasiment égale à la précédente. Cet essai permet notamment de démontrer que les bentonites les plus actives dans une solution aqueuse de BSA le sont également dans le vin étudié, bien que les caractéristiques biochimiques de cette protéine soient très différentes de celles des vins champenois (BRISSONNET et MAUJEAN, 1993 ; TUSSEAU et VAN LAER, 1993).

La droite de régression BSA adsorbée vs protéines du vin adsorbées, donne une corrélation r = 0,85 (figure 6). De même que précédemment, les groupes II et III ne peuvent plus être différenciés. Si l'on considère seulement les bentonites sodiques, la corrélation pour cette même droite n'est plus que de 0,47. Cette faible valeur indique que la méthode de BRADFORD (1976) rend imparfaitement compte de la véritable quantité de protéines du vin adsorbées.

Aussi, le classement des bentonites sur la base de leur capacité d'adsorption des « protéines » du vin n'aurait pas nécessairement été identique si l'expérience avait été menée sur un autre vin. En effet, les bentonites adsorbent les protéines, mais aussi les protéines liées aux polysaccharides, aux composés phénoliques (dont les anthocyanes) ou aux deux. Or, les rapports qualitatif et quantitatif entre ces trois classes de macromolécules varient en fonction des cépages, du millésime ou de la région géographique dont le moût provient. En Champagne notamment, ce phénomène d'adsorption explique en partie l'effet décolorant d'un traitement à la bentonite sur des moûts ou des vins provenant de raisins à peaux noires.

TABLEAU VI

Surface active et propriétés d'adsorption des bentonites

Bentonites	Sa (m^2/g)	BSA adsorbé (mg/g bentonite)	Protéines du vin adsorbées (mg/g bentonite)	Na/Ca
B1	712	260	83	3,3
B2	402	211	53	1
B3	519	185	56	1,3
B4	544	213	81	2
B5	795	253	72	3,7
B6	544	215	80	1,7
B7	594	220	76	2,1
B8	569	225	68	1,3
B9	343	53	31	0,5
B10	502	218	85	1,8
B11	435	176	67	1,7
B12	569	213	60	1,4
B13	602	198	68	1,5
B14	276	66	39	0,6

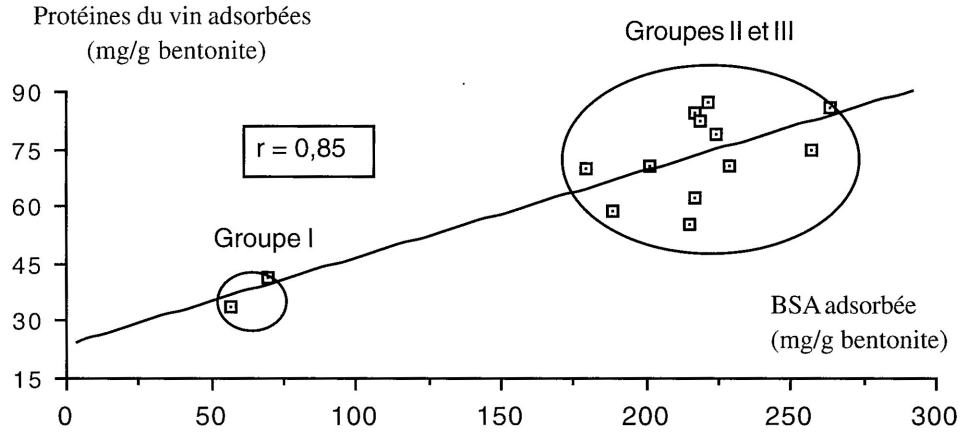


Fig. 6 — Relation entre l'adsorption par les bentonites de la BSA et des protéines du vin

Il est également intéressant de remarquer que la droite de régression protéines du vin adsorbées vs l'I.G. donne une corrélation r = 0,74.

b) Influence combinée de la dose de bentonite et du rapport Na/Ca

Sur la base des précédents résultats, trois bentonites « types » furent retenues pour étudier leur capacité d'adsorption des protéines d'un vin à différentes doses. Il s'agit de B1 (groupe III, Na/Ca>3), B9 (groupe I, Na/Ca<0,7) et B11 (groupe II, 1<Na/Ca<2).

BLADE et BOULTON (1988) ont caractérisé, dans un vin modèle, l'adsorption de la BSA par des bentonites de divers types, en faisant varier le rapport

BSA/bentonite. Ils démontrent que ce phénomène répond à l'équation de LANGMUIR (1916).

$P/B = (P/B)_{max} \times [P^* / (K_L + P^*)]$

P* : concentration en protéines à l'équilibre

K_L : constante de LANGMUIR

B : quantité d'adsorbant (bentonite)

P : quantité de soluté adsorbé (protéines)

(P/B)max : quantité max. de soluté adsorbé par unité d'adsorbant

Les auteurs démontrent qu'il y a un nombre fixe de sites d'adsorption sur une particule argileuse, et un site n'influence pas la fixation sur un site voisin. La représentation en double inverse B/P vs 1/P* permet le calcul exact de $(P/B)_{max}$ et de K_L.

Ils observent également, pour un rapport BSA/bentonite variable, que la quantité maximale de protéines adsorbées par unité d'adsorbant est d'autant plus faible, pour une concentration donnée de BSA à l'équilibre, que la bentonite contient plus de calcium.

Une expérience identique fut menée non plus en milieu synthétique contenant une protéine donnée, mais avec un vin de base champenois. Les teneurs en protéines du vin traité par les trois bentonites aux quatre doses sont consignées tableau VII. Le vin contenait avant traitement 12,4 mg/l EBSA.

La figure 7 montre que pour des doses de bentonite de 30 g/hl, quelque soit le rapport Na/Ca de la préparation argileuse utilisée, les concentrations en protéines sont quasiment identiques. Des traitements à des doses plus importantes donnent la même concentration en protéines résiduelles, et sembleraient indiquer une déprotéinisation totale, si l'on se réfère aux dosages des protéines résiduelles par gel filtration sur G25 avec détection U.V. ou par électrophorèse dénaturante en gel de polyacrylamide (LELEU, 1993). Il est en fait observé que l'adsorption des protéines, même aux doses les plus élevées de bentonite, n'est pas totale si l'on considère les résultats de dosage (2,9 mg/l EBSA) par la méthode de BRADFORD (1976). Certes, l'interférence de l'alcool et des composés phénoliques dans ce dosage spectrophotocolorimétrique des protéines est démontrée, mais ne peut expliquer totalement la distorsion entre les résultats. De plus, peut-on, en théorie, puisque l'adsorption relève d'un équilibre de partage, imaginer une déprotéinisation totale ? Par ailleurs, l'élimination complète des protéines dans les vins champenois n'est pas recherchée pour diverses raisons. Tout d'abord, les teneurs en protéines de nos vins sont faibles : 5 à 10 mg/l pour un Champagne, 8 à 16 mg/l pour un vin de base ; les casses protéiques ne sont donc pas à craindre. Ensuite, les protéines sont des composés mousse-actifs (BRISSONNET, 1992 ; ROBILLARD et *al.*, 1993), et leur disparition entraîne des effets désastreux sur les propriétés moussantes des vins (MAUJEAN et *al.*, 1990). Enfin, les protéines sont des supports de composés d'arômes (LUBBERS,

TABLEAU VII

Influence de la dose de bentonite sur la quantité de protéines du vin adsorbées

Doses de bentonite B (g/hl)		5	10	15	20
Protéines à l'équilibre P* (mg/l EBSA)	B1	7,4	4	2,8	2,8
	B9	n.d.(1)	8,8	5,4	3,1
	B11	8,6	5,6	3,4	2,7
Protéines à l'équilibre P* valeur corrigée (mg/l EBSA)	B1	4,5	1,1	0	0
	B9	n.d.(1)	5,9	2,5	0,2
	B11	5,7	2,7	0,5	0
Protéines adsorbées P à l'équilibre (mg/l EBSA)	B1	5	8,4	9,6	9,6
	B9	n.d.(1)	3,6	7	9,3
	B11	3,8	6,8	9	9,7
P/B	B1	1	0,84	0,48	0,32
	B9	n.d.(1)	0,36	0,35	0,31
	B11	0,76	0,68	0,45	0,32

(1)n.d. : valeur non déterminée

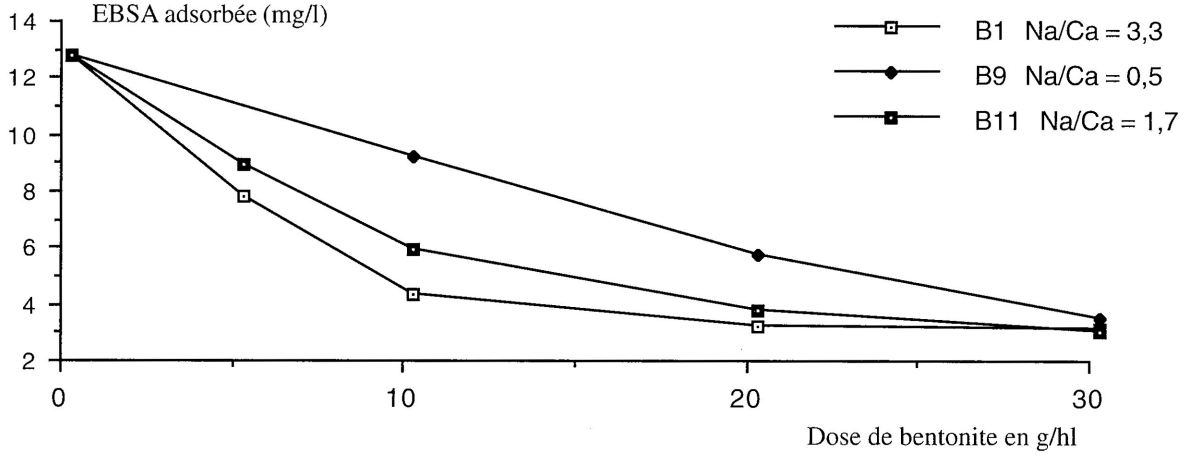


Fig. 7 — Influence du type de bentonite sur l'évolution de la teneur en protéines du vin traité

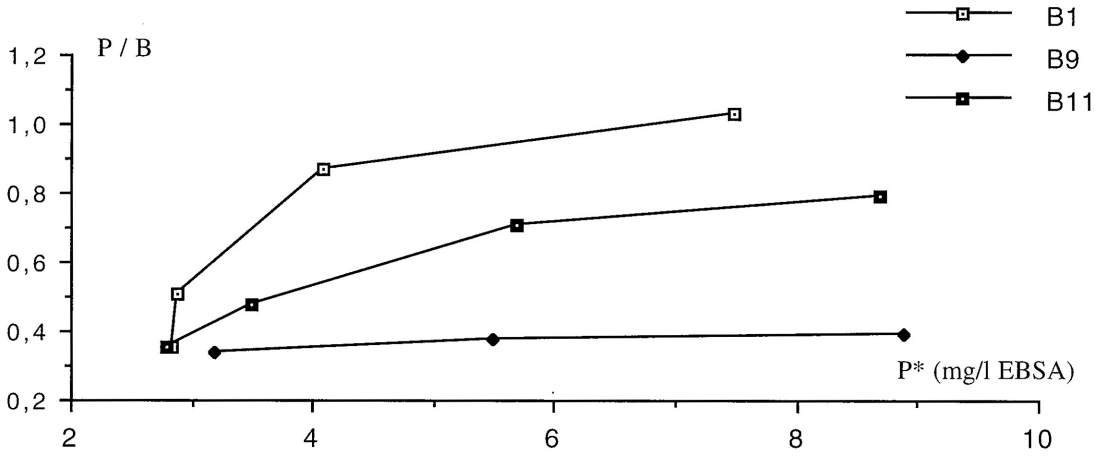


Fig. 8 — Représentations de LANGMUIR pour différents types de bentonite

1993 ; LELEU, 1993). FEUILLAT et *al.* (1987) remarquent que les vins fortement appauvris en colloïdes (dont les protéines) semblent « dépouillés ».

Par ailleurs, LEDOUX et *al.* (1992) démontrent en séparant les protéines d'un vin de Sauvignon par électrophorèse capillaire, que les conséquences d'un traitement à la bentonite varient selon la nature de la fraction protéique. Ainsi, il faut considérer les protéines d'un point de vue qualitatif et non plus seulement de manière quantitative.

Il est donc primordial, malgré les impératifs qu'impose la production industrielle du vin, de préserver autant que possible les protéines pour des raisons de qualité.

A partir des données du tableau VII sont également tracées les représentations normales de LANGMUIR (1916) (figure 8) permettant l'extrapolation approximative des valeurs $(P/B)_{max}$: $(P/B1)_{max} = 1,1$; $(P/B11)_{max} = 0,8$; $(P/B9)_{max} = 0,4$. Une détermination rigoureuse de cette caractéristique aurait demandé une mesure supplémentaire correspondant à un traitement à 2 g de bentonite/hl de vin. Le nombre insuffisant de points ne nous a pas permis de réaliser le calcul de K_L. Toutefois, à l'inverse des essais réalisés en milieu synthétique, les courbes (figure 8) ne coupent jamais l'axe des ordonnées pour les raisons évoquées ci-dessus. Le calcul de $(P/B)_{max}$ n'est toutefois pas entaché d'erreur puisque le décalage se fait par rapport à l'axe des abscisses.

Il ressort de cette étude sur vin, que la quantité maximale de protéines adsorbables par unité d'adsorbant est d'autant plus élevée que le rapport Na/Ca d'une bentonite est élevé. Ces conclusions vont dans le même sens que celles de BLADE et BOULTON (1988) à partir d'une étude menée en milieu synthétique.

CONCLUSION

A l'issue de cette étude, les corrélations et comparaisons existant entre les paramètres étudiés permettent de tirer les conclusions suivantes.

A partir des essais décrits, il ressort que la mesure de l'indice de gonflement, déterminée dans le but de comparer des bentonites, peut se réaliser indifféremment dans l'eau du robinet ou dans le vin. Mais, ce paramètre ne donne pas une bonne indication de l'activité d'une bentonite. Il en va de même pour la détermination de la composition argileuse par diffraction aux RX. En effet, c'est le rapport Na/Ca qui permet le mieux de prévoir les propriétés d'adsorption d'un mélange argileux. En effet, la quantité de protéines adsorbées par unité d'adsorbant est d'autant plus élevée que le rapport [Na échangeable/Ca échangeable] est élevé.

Par ailleurs, on observe aussi une bonne proportionnalité entre le pouvoir déprotéinisant des bentonites mesuré dans le vin et dans une solution de BSA.

Enfin, la déprotéinisation maximale impose d'employer, quelle que soit la nature des argiles, des doses sensiblement identiques.

Remerciements :

Nous tenons à remercier MM AMIOT (LASSI), DOUGLADE (Electrochimie), GUERIN et PASCAL (Géologie) de la Faculté des Sciences de Reims, pour l'aide qu'il nous ont apportée dans la caractérisation des bentonites par diffraction aux RX. Nous remercions également le Centre Viticole de la Champagne qui nous a fourni le vin nécessaire à l'étude.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

AFNOR, Norme Française NF P 18-592, Granulats. Essai au bleu de méthylène.

BLADE W.H. et BOULTON R., 1988. Adsorption of protein by bentonite in a model wine solution. *Am. J. Enol. Vitic.*, **39**, n°3, 193-199.

BRADFORD M.M.,1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities utilizing the principle of protein dye-binding. *Anal. Biochem.*,**72**, 248-254.

BRISSONNET F., 1992. Identification des composés mousse-actifs des vins de Champagne. *Thèse de Doctorat*, nouveau régime, Université de Reims.

BRISSONNET F. et MAUJEAN A. 1993. Characterization of foaming proteins in a Champagne base wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **44**, n°3, 297-301.

CUISSET O., 1980. Propriétés électrocinétiques des particules argileuses. Application de la méthode électrophorétique aux problèmes d'environnement et d'identification des sols. *Rapp. Rech. LCPC*, 96, sept., 101.

DERIBERE M. et ESME A., 1951. *La bentonite, les argiles colloïdales et leurs emplois.* Dunod, Paris.

FEUILLAT M.,1974. Contribution à l'étude des composés azotés dans les moûts de raisins et les vins. *Thèse de Doctorat*, Université de Dijon.

FEUILLAT M., PEYRON D. et BERGER J.L., 1987. Influence de la microfiltration tangentielle des vins sur leur composition physico-chimique et leurs caractères sensoriels. Applications aux vins de Bourgogne. *Bull. OIV.*, **60**, 673-674, 227-244.

GUERIN H., 1975. Analyse par voie humide des roches et minéraux silicates. *Ann. Univ. A.R.E.R.S*, Reims, **13**, fasc. 1 et 2, 66-72.

HSU J.C. et HEATHERBELL D.A., 1987. Heat-unstable protein in wine. I. Characterization and removal by bentonite fining and heat- treatment. *Am. J. Enol. Vitic.*, **38**, n°1, 11-16.

HOLDEN C., 1954. Combined method for the heat and cold stabilization of wine. *Food Technol.*, **8**, 565-566.

JOHNSON, 1957. Methylene blue adsorption and surface areas measurements. *131st National Meeting of the American Chemical Society*, 7-12 Avril

JCPDS - ICDD, 1992. Joint Committee for Powder Diffraction Standards - International Centre for Diffraction Data. Alphabetical Indexes - Inorganic Phases, Powder Diffraction File.

KEAN C.E. et MARSH G.L., 1956. Copper complexes causing cloudiness in wines. II - Bentonite treatment of wines. *Food technol.*, **10**, 355-359.

KOCH J. et SAJAK E., 1959. A review and some studies on grape protein. *Am. J. Enol. Vitic.*,**10**, 114-123.

LANGMUIR I.,1916. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. Part I : Solids. *J. Am. Chem. Soc.*, **38**, 2221-2295.

LEDOUX V., DULAU L. et DUBOURDIEU D., 1992. Interprétation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **26**, n°4, 239-251.

LELEU F., 1993. Etude comparative de l'effet déprotéinisant de quatre bentonites dans les moûts et dans les vins. Mise en évidence d'interactions entre les bentonites et la γ-décalactone. *Diplôme d'Etudes Approfondies*, Université de Bordeaux II - Université de Dijon.

LUBBERS S., 1993. Caractérisation de macromolécules d'origine levurienne du vin. Etude des interactions avec les substances d'arômes. Application à la stabilisation tartrique. *Thèse de Doctorat*, Université de Bourgogne.

MAUJEAN A., POINSAUT P., BRISSONNET F. et COSSIEZ E., 1990. Etude de la tenue et de la qualité de mousse des vins effervescents. I - Mise au point d'une technique de mesure de la moussabilité, de la tenue et de la stabilité de la mousse des vins effervescents. *Bull. O.I.V.*, **711-712**, 405-427.

MAUJEAN A., 1993. Propriétés physico-chimiques des bentonites : Applications œnologiques. *Rev. Fr. Œnol.*, **143**, 43-53.

MILISAVLJEVIC D., 1963. Prévention des troubles protéiques du vin par l'emploi de bentonites dans les moûts. *Ann. Technol. Agric.*, **12**, 315-330.

MILLER G., AMON J.M., GILSON R.L. et SIMPSON R.F., 1985. Loss of wine aroma attributed to protein stabilization with bentonite or tangential ultrafiltration. *Austr. Grapr. Winemaker*, **256**, 49-50.

MORETTI R.H. et BERG H.W., 1965. Variability among wines to protein clouding. *Am. J. Enol. Vitic.*, **16**, 69-78.

MURPHEY J.M., SPAYD S.E. et POWERS J.R., 1989. Effect of grape maturation on soluble proteins characteristics of Gewurztraminer and white Riesling juice and wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **40**, n°3, 199-207.

RIBÉREAU-GAYON J., 1932. Les matières albuminoïdes des vins blancs. *Ann. Falsif. Fraudes*, **25**, 518-524, 602-609.

ROBILLARD B., DELPUECH E., VIAUX L., MALVY J., VIGNES-ADLER M. et DUTEURTRE B., 1993. Improvements of methods for sparkling base wine foam measurements and effect of wine filtration on foam behavior. *Am. J. Enol. Vitic.*, **44**, n°4, 387-392.

SAYWELL L.G., 1934. Clarification of wine. *Ind. Eng. Chem.*, **26**, 981-982.

SCHAEFFNER M., 1989. Introduction de la valeur de bleu de méthylène d'un sol dans la classification des sols de la recommandation des terrassements routiers. *Bull. liaison Labo. P. Ch.*, **163**, 9-16.

SUDRAUD P., SUDRAUD F. et GAYE J., 1985. Observations sur la composition et le contrôle d'efficacité des bentonites. *Rev. Fr. Œnol.*, **97**, 21-24.

TRAN NGOC L., 1977. Un nouvel essai d'identification des sols : l'essai au bleu de méthylène. *Bull. Liaison Labo. P. et Ch.*, **88**, mars-avril, 136-137.

TUSSEAU D. et VAN LAER S., 1993. Etude des macromolécules des vins de Champagne. *Sci. Alim.*, **13**, n°3, 463-482.

WEGER B., 1965. Calcium and natrium bentonites. *Wein-Wiss.*, **20**, 545-559.

Manuscrit reçu le 3 septembre 1994 ;
accepté pour publication le 17 janvier 1995