

# Focus sur la physique des bulles et la

**Le laboratoire d'œnologie et de chimie appliquée de la faculté des sciences de Reims est unique au monde par l'approche qui y est faite, par ses chercheurs et ses techniciens, de la physique et de la physico-chimie des phénomènes d'effervescence et de la mousse des vins de Champagne... Leurs travaux font l'objet de publications dans les plus grandes revues anglaises et américaines.**

La qualité d'un champagne s'apprécie au premier abord par la qualité de son effervescence et de sa mousse qui représente pour le consommateur un critère qualitatif important. Ainsi, une lente chute de mousse, une collerette de bulles en périphérie du verre fine et persistante et un liquide effervescent sont appréciés et recherchés par le consommateur. Cependant, et cela peut surprendre, l'effervescence et la mousse des boissons sont encore mal connues, car elles s'adressent à des phénomènes métastables et donc difficiles à étudier.

Nous avons choisi de scinder ce sujet en deux parties, l'une traitant de la physico-chimie de la mousse et des composés qui semblent être responsables de la tenue de mousse des vins effervescents, l'autre concernant plus particulièrement la physique de la bulle de champagne. Les deux parties sont évidemment connexes et on sait que c'est l'effervescence du champagne qui conduit à la formation du cordon de mousse en périphérie du verre. Sans effervescence, il n'y a donc pas de collerette de bulles.

## Protéines du raisin et du vin

### Protéines du raisin et du vin, approche protéomique du vin de champagne, propriétés moussantes

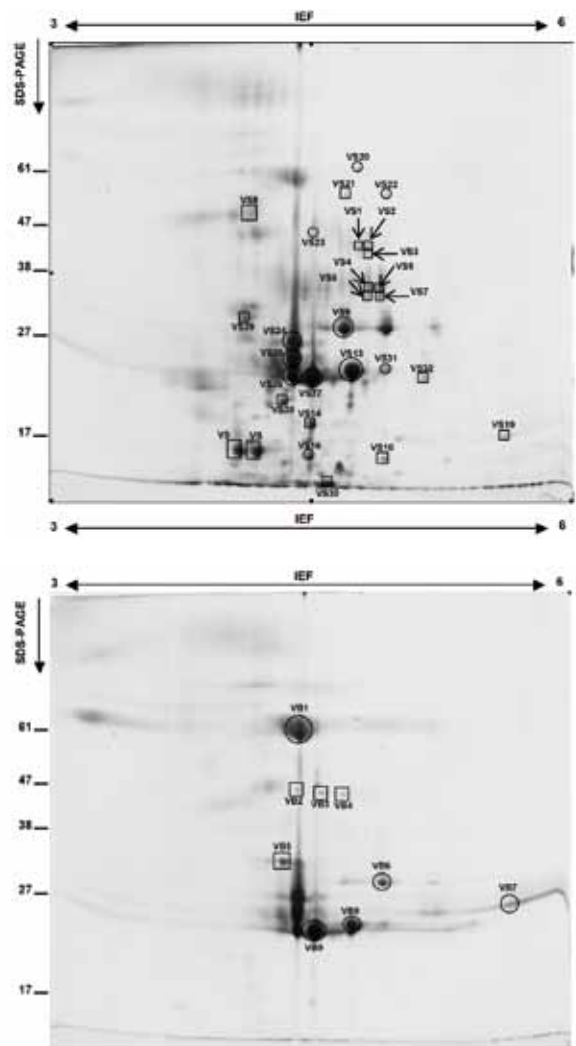
Les colloïdes du vin et, particulièrement, les protéines, peuvent influencer la qualité de la mousse des vins effervescents. En effet, les protéines jouent un rôle important comme surfactants macromoléculaires dans les mousses et les émulsions alimentaires. Les protéines du raisin et du vin ont déjà été étudiées mais les travaux s'y rapportant sont encore peu nombreux. Toutes les protéines ne contribuent pas de la même façon aux propriétés moussantes des vins. Des études

menées dans notre laboratoire ont établi une corrélation directe entre la teneur totale en protéines d'un vin de Champagne et ses propriétés moussantes. De la même façon, nous avons établi une relation entre la teneur en une protéine glycosylée, l'invertase du raisin (c'est-à-dire l'enzyme capable d'hydrolyser le saccharose en fructose et glucose), et les propriétés moussantes d'un vin. L'étude des protéines du raisin et du vin (notamment celles d'origine levurienne) est donc particulièrement intéressante. Les travaux que nous poursuivons actuellement concernent l'approfondissement de nos connaissances sur les protéines et les glycoprotéines du vin. L'utilisation, par exemple, de l'électrophorèse bi-dimensionnelle (2D) et de techniques immuno-chimiques permet d'étudier l'influence de la présence de certains champignons parasites de la vigne sur le contenu protéique du vin, notamment l'influence de *Botrytis cinerea*, l'agent responsable de la pourriture grise du raisin qui a des effets délétères sur la qualité du vin. Nous avons montré que les vins issus de raisins fortement infectés par ce micro-organisme (plus de 20 % d'infection) présentaient des profils électrophorétiques altérés (traduisant une modification du contenu en protéines) (Figure 1) ainsi que, dans certains cas, une diminution considérable de leurs propriétés moussantes.

L'électrophorèse 2D a permis de montrer que les protéines d'un vin de Champagne sont majoritairement situées dans une gamme de pI ou pl (point isoélectrique) variant de 3 à 6 et qu'elles sont fortement altérées par *B. cinerea*. En effet, près de 85 % des spots du vin sain sont absents ou partiellement dégradés dans le vin obtenu à partir de raisins infectés par le champignon.

Les différences observées entre les profils protéiques des deux vins (l'un provenant de raisins sains et l'autre de raisins infectés

par le champignon) pourraient être liées aux différences de propriétés moussantes qui ont été observées entre le vin sain et le vin vinifié à partir de raisins infectés, ce dernier ayant des propriétés moussantes moindres par rapport au témoin vinifié à partir de raisins sains. Les protéines sont des composés présents en faible quantité dans le vin, mais leur implication dans les propriétés moussantes d'un vin est généralement admise. Les résultats utilisant des méthodes immuno-chimiques et, en particulier, des anticorps polyclonaux anti-protéines de jus de raisin, permettent de conclure que des protéines ou des fragments de protéines de raisin sont présents dans le vin. Une partie de ces protéines végétales se retrouve dans le vin vinifié à partir de raisins botrytisés, une autre partie étant dégradée ou n'étant pas synthétisée par la baie (expression différentielle des gènes de défense de la plante suite à l'infection par le champignon?).



**Figure 1 :** Gels 2D des protéines de vin sain (en haut) et de vin issu de raisins infectés (en bas) colorés au bleu de Coomassie colloïdal. Les spots sélectionnés pour la nanoLC-MS/MS sont numérotés et représentés par un cercle pour les spots présents dans les deux vins ou par un carré pour ceux présents dans un seul vin. (Photos : docteur C. Cilindre)

# chimie de la mousse du champagne

Ces travaux ont apporté la première analyse protéomique approfondie des protéines d'un vin de Champagne. Les protéines étant considérées comme des facteurs favorisant la mousse des vins effervescents et la contamination des raisins par *B. cinerea* ayant des effets indésirables sur la mousse de ces vins, il était donc important de pouvoir identifier certaines protéines du vin de base. L'électrophorèse 2D couplée à une analyse par nanochromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (nanoLC-MS/MS), à l'immunodétection et à une détection des glycoprotéines sur gel, a donc été employée, pour la première fois, afin d'identifier et de caractériser les protéines de deux vins, préparés avec des raisins sains ou infectés. Les trente-sept spots analysés par nanoLC-MS/MS ont été choisis parmi les trois principaux groupes de protéines révélés par l'analyse comparative des gels 2D :

- les protéines modifiées suite à l'infection par *B. cinerea* (absentes dans le vin botrytisé);
- les protéines résistantes à l'infection de *B. cinerea* (les protéines communes aux deux vins);
- les nouvelles protéines dans le vin botrytisé.

Les résultats obtenus ont montré que les deux vins de base contiennent de nombreuses protéines de raisin (invertase et protéines de défense de type chitinases, endochitinases, b-glucanases...) et que de nombreux spots sont complètement, partiellement dégradés ou non synthétisés par la baie suite à l'infection de *B. cinerea*: particulièrement l'invertase de raisin, la chitinase et les protéines de défense PR-5.

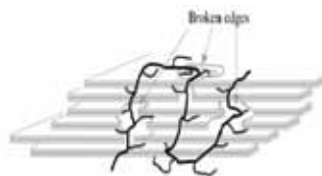
## Mécanismes de l'instabilité colloïdale des vins – interactions moléculaires protéines/argiles

Les protéines, qui sont des macromolécules, peuvent être responsables d'une certaine instabilité colloïdale (fréquente dans les vins blancs), plus connue sous le nom de casse protéique, se traduisant par la formation de précipités dans la bouteille. Pour pallier le problème posé par l'instabilité protéique des vins, différentes méthodes sont utilisées pour améliorer leur stabilité. Ces méthodes, connues sous le nom de collage des vins, comprennent l'addition de diverses substances telles qu'en particulier des argiles (les bentonites), des protéines animales (caséine, gélatine) ou des associations de type bentocaséine ou tannins-gélatine. Des problèmes liés à la crise de la vache folle (encéphalite spongiforme bovine) nous ont amenés aussi à réfléchir sur des traitements de collage de substitution à l'utilisation des protéines (ou colles) animales. Un certain nombre de travaux menés dans notre laboratoire dans les années 2000-2003 ont montré l'intérêt d'utiliser des protéines d'origine végétale (blé, luzerne) en place des protéines animales pour le collage des vins rouges et blancs.

La compréhension des mécanismes d'élimination des protéines lors d'un traitement de collage par des bentonites a fait l'objet d'études précises utilisant des argiles de synthèse. L'élimination des protéines dans un vin par les bentonites était considérée initialement comme un phénomène de charges électriques, les protéines étant chargées positivement au pH du vin et les bentonites étant chargées négativement. L'utilisation de la Résonance Magnétique Nucléaire de l'état solide (corrélations hétéronucléaires  $^1\text{H}$ - $^{27}\text{Al}$  et diffusion de spins  $^1\text{H}$ ) mais également de la spectroscopie de rayons X nous a permis d'étudier les phénomènes d'adsorption des protéines sur une argile de synthèse. Ces travaux ont conduit à préciser comment les protéines sont éliminées du vin lors d'un collage, démontrant que seules les chaînes latérales des protéines portant un résidu chargé positivement au pH du vin (résidus lysine) pénétraient dans les espaces interfoliaires des argiles et que, contrairement à ce qui était admis, le squelette de la protéine reste extérieur aux feuillets d'argile (Figure 2).

## Physique des bulles de champagne

L'étude des bulles de Champagne a été réalisée initialement dans un verre et dans les conditions de dégustation de ce vin par le consumma-



**Figure 2** : Schéma montrant le mécanisme hypothétique d'élimination d'une protéine par une bentonite. Le squelette protéique est représenté en noir, les chaînes latérales pénétrant dans les espaces interfoliaires (les feuillets d'argile sont schématiquement représentés par les plateaux gris clairs parallèles). (Schéma : docteur R. Gougeon)

teur. Les travaux initiés dans notre laboratoire ont donc porté sur l'étude en conditions réelles des différentes étapes fondamentales de la vie d'une bulle de champagne, que sont sa naissance, son décollement, son ascension dans le verre et son éclatement à la surface.

## Mécanismes de la nucléation des bulles

La première étape de la vie d'une bulle correspond à sa naissance dans le verre. Pour des raisons thermodynamiques, la création d'une interface gaz/liquide dans le champagne ne peut se faire de façon spontanée (phénomène de nucléation homogène) mais nécessite, afin de dépasser les barrières énergétiques liées à la création de l'interface entre le gaz (le  $\text{CO}_2$  du champagne) et la matrice liquide, la préexistence de germes gazeux: on parle alors de nucléation hétérogène non classique de type IV. Contrairement à ce qui était admis, nous avons montré que la nucléation des bulles n'apparaît pas sur des irrégularités du verre mais au niveau de poussières qui sont naturellement déposées lors de l'essuyage du verre, par exemple, ou moins fréquemment à partir de microcristaux pouvant être présents dans le vin. La Figure 3 décrit un exemple de nucléation d'une bulle de champagne au sein d'une flûte à partir d'une poussière dont le diamètre d'ouverture est d'environ d'une dizaine de micromètres. Cette poussière est grossièrement cylindrique et on aperçoit en son milieu une poche de gaz piégée à l'intérieur de la structure qui sert de germe gazeux et qui conduit à la produc-



**Figure 3** : Exemple de nucléation de bulles de champagne au sein d'une fibre constituée de cellulose. On voit au centre de la structure la poche de  $\text{CO}_2$  qui donne naissance au chaquet de bulles. (Photo : professeur Gérard Liger-Belair)

tion rythmique de bulles (avec des fréquences variant de 1 à 30 Hz, soit l'émission de 1 à 30 bulles par seconde!). Le petit miracle de la physique est que la poche piégée qui donne naissance aux bulles ne se fragmente pas et se « reconstitue » à chaque émission de bulles. Le site fonctionne tant qu'il y a du  $\text{CO}_2$  capable de diffuser du liquide (le champagne) vers la poche de gaz ou qu'il n'y a pas invasion du liquide dans la fibre. Des travaux récents montrent que ces structures sont de nature cellulosique.

## Dynamique ascensionnelle de la bulle – adsorption de composés tensio-actifs

Dès que la bulle est libérée de son site, elle commence son ascension à travers le liquide, le gaz carbonique continuant à diffuser à l'intérieur de sorte que le volume de la bulle peut croître d'un facteur 1000000 au cours de son trajet vers la surface de la flûte! Des travaux tout à fait originaux menés dans notre laboratoire ont montré que la bulle de champagne couvre son interface, c'est-à-dire la limite entre le gaz et le liquide, de molécules tensio-actives présentes dans le vin telles que, par exemple, les glycoprotéines. Ces dernières ont été étudiées en première partie de cet article et ont la particularité de posséder une structure glycanique (sucres), hydrophile et une partie protéique plus hydrophobe. Il est ainsi facile de comprendre que ces molécules s'adsorbent aisément à l'interface entre le gaz (milieu hydrophobe) et le liquide (milieu hydrophile). D'autres composés tensioactifs sont susceptibles de s'adsorber

sur cette interface. Nous avons montré, par la détermination du coefficient de traînée d'une bulle, que celle-ci couvre son interface de molécules tensio-actives mais que ces dernières sont, dans le champagne, à des concentrations trop faibles pour « rigidifier » totalement la surface de la bulle qui adopte, de ce fait, un comportement de sphère fluide ou bulle « propre ». Ce qui n'est pas le cas de la bière où l'interface est très vite couverte de molécules tensio-actives (dont la bière est plus riche), la bulle de bière adoptant un comportement de sphère rigide ou de « bulle sale ». Ce travail a été repris par une note sur le site Internet de la revue Nature : [www.nature.com/nsu/000302/000302-8.html](http://www.nature.com/nsu/000302/000302-8.html).

#### Eclatement de la bulle à l'interface air / liquide

La bulle a maintenant gagné la surface du liquide. Sa forme à l'interface entre le champagne et l'air résulte d'un équilibre entre la pression capillaire dans le film liquide intercalé entre le gaz de la bulle et l'air, et la poussée d'Archimède qui tend à faire émerger la bulle. Puis, sous l'action conjuguée de la gravité et de la pression capillaire, le film liquide qui délimite la bulle du côté de l'air s'amincit. C'est l'étape de drainage : en s'amincissant, le film se fragilise et devient très sensible et, lorsque le film devient trop mince, il se rompt. La bulle peut soit alors se résorber, éclater à la surface du liquide ou migrer vers la périphérie du verre pour y former ce qu'on appelle la collerette, c'est-à-dire un anneau fin de bulles autour de la circon-

férence du verre. Cette collerette est très appréciée du consommateur et caractérise les mousses fines et légères du champagne. Il est évident que la durée de vie de la bulle est conditionnée par la rigidité relative de l'interface gaz/liquide qui dépend, nous venons de le voir, de la quantité de molécules tensioactives susceptibles de s'être adsorbées à cette interface. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la description du phénomène d'éclatement d'une bulle isolée et des événements qui suivent immédiatement la rupture du film d'une bulle en surface (Figure 4).

A la Figure 4A, une bulle arrive en surface du liquide. La Figure 4B montre que le mince film liquide qui constitue la partie émergée de la bulle vient juste de s'ouvrir. Il reste alors un cratère ouvert à la surface du liquide qui correspond à la partie immergée de la bulle. Des différences de courbure autour de la cavité engendrent des gradients de pression capillaire dans la couche limite. Des flux liquides apparaissent et, en se refermant, cette cavité projette vers le haut un mince jet de liquide à haute vitesse (Figure 4C). Puis, une instabilité dite de Plateau-Rayleigh apparaît dans ce filet liquide qui se brise alors en de fines gouttelettes (Figure 4D). L'éclatement de la bulle a généré l'émission d'un train d'ondes circulaires centré sur la bulle originelle. L'éclatement incessant des bulles à la surface d'une flûte provoque ainsi la mise en suspension dans l'atmosphère au-dessus du verre d'un nuage de fines gouttelettes issues de la couche superficielle à l'interface air / champagne. Or, du

fait du transfert de molécules tensioactives du vin vers la surface liée au mouvement permanent des bulles et aux mouvements de convection du liquide, cette fine couche est nécessairement plus riche en molécules tensioactives que le liquide. Comme bon nombre de composés aromatiques du champagne présentent des propriétés plus ou moins tensioactives, ceux-ci se retrouveraient donc à une concentration plus élevée à l'interface. Y aurait-il là matière à expliquer le caractère exhausteur naturellement reconnu à l'effervescence du champagne ?

Les mouvements de convection dans une flûte de Champagne ont été révélés par l'utilisation de la tomographie Laser. Les premiers résultats

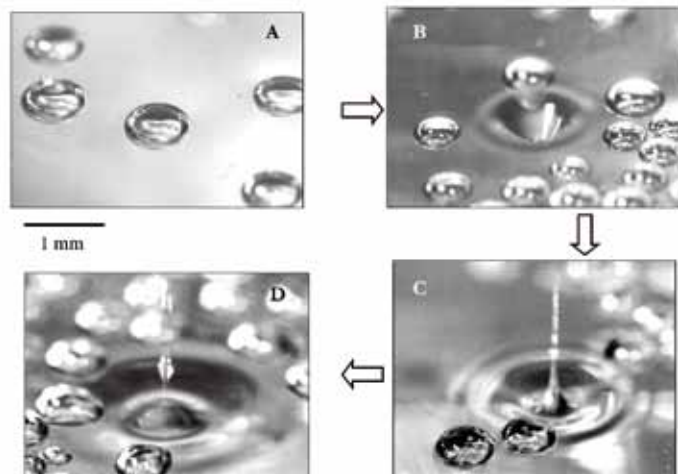


Figure 4 : Séquence d'éclatement d'une bulle isolée à la surface du champagne dans une flûte. (photos : professeur G. Liger-Belair)

obtenus montrent que les bulles mettent en mouvement le liquide les environnant, conduisant à des mouvements convectifs qui sans aucun doute « alimentent » la surface du liquide en bulles de CO<sub>2</sub> et, à leur surface, de composés odoriférants. Le « dégazage » de gaz carbonique



Figure 5 : Photographie utilisant la tomographie laser et mettant en évidence les jets de liquide résultant de l'éclatement de myriades de bulles à la surface d'une coupe de Champagne. Cette photo a fait la page de couverture du numéro de novembre 2008 de la revue Chemical Society Reviews. (Photos : professeur G. Liger-Belair, F. Beaumont et professeur G. Polidori)

Le nouveau produit **MERCIER**

**Force9**

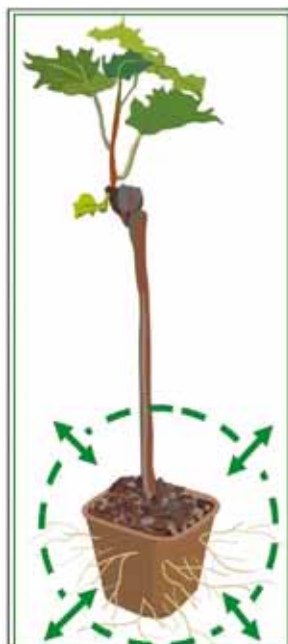
Réussissez la complantation  
avec un plant en symbiose avec l'environnement

Aoûtement renforcé  
Prévention des maladies du bois de la vigne  
Mycorhization des racines

[www.mercier-groupe.com](http://www.mercier-groupe.com) Tél. : +33 (0)2 51 00 65 14 Fax : +33 (0)2 51 00 67 60

Force9 bénéficie de la méthode de bio contrôle végétal et est conforme au cahier des charges BIORIZE. Utilisable en agriculture biologique, conforme au règlement CE 2092/91 annexe II B. Les plants sont traités selon le procédé Mercier avec I-1237 homologué pour le traitement préventif des maladies du bois de la vigne, ADE 208317 délivrée par dérogation octroyée 01/09. Substance active: Trichoderma atroviride souche I-1237. ENDORIZE préparation à base d'endomycorhizes à arbuscules Glomus pour apport au sol ou au support de culture. Homologation 9810002.

Force 9, marque déposée MERCIER  
FRERES RCS  
La Roche-sur-Yon B 343 656 237  
85770 VIX



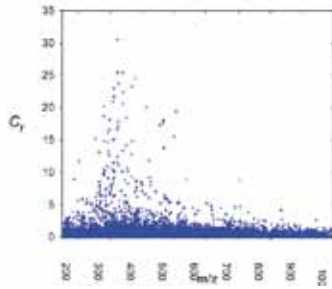
et d'arômes à l'interface air / liquide est donc augmenté, ce que nous mesurons par spectrométrie laser Infra-Rouge, par micro-chromatographie en phase gazeuse et par analyse en spectrométrie de masse à très haute résolution des gouttelettes formées.

Très récemment, nous venons de montrer en analysant les très nombreuses gouttelettes résultant de l'éclatement des bulles de champagne en surface (Figure 5, page précédente) qu'un phénomène de sur-concentration de certains composés apparaissait au niveau des gouttelettes.

En effet, nous avons pu mettre en évidence que des molécules odoriférantes transportées par les bulles au cours de leur ascension dans une flûte et qui viennent éclater à la surface du liquide se retrouvent 5 à 30 fois plus concentrées dans ces gouttelettes que dans le champagne lui-même (Figure 6) !

Parmi ces molécules, nous avons identifié des acides gras, des composés terpéniques et d'autres molécules (précurseurs de la b - damascénone) impliquées dans l'arôme des vins... Alors, les bulles de champagne, des ascenseurs pour les arômes du vin ?

••• P. Jeandet, C. Cilindre, R. Marchal, S. Villaume, A. Conreux, M. Parmentier, Y. Vasse-rot, V. Zeninari, R. Gougeon, P. Schmitt-Kopplin, G. Polidori et G. Liger-Belair



**Figure 6 :** Diagramme mettant en évidence la surconcentration de certains composés de masses différentes dans les gouttelettes résultant de l'éclatement des bulles. Le paramètre Cf définit la surconcentration des composés par rapport au Champagne lui-même. Ainsi, ce facteur varie de 5 à 30.

Pour aller plus loin quelques publications récentes de notre laboratoire...

— Cilindre C., Jégou S., Hovasse A., Castro A.J., Schaeffer C., Clément C., Van Dorsselaer A., Jeandet P. et Marchal R. Proteomic approach to identify Champagne wine proteins as modified by Botrytis cinerea infection, *Journal of Proteome Research*, 2008, 7, 1199-1208.

— Liger-Belair G., Beaumont F., Vialatte M.A., Jégou S., Jeandet P. et Polidori G. Kinetics and stability of the mixing flow patterns found in champagne glasses as determined by laser tomography techniques: likely impact on champagne tasting, *Analytica Chimica Acta*, 2008, 621, 30-37.

— Polidori G., Beaumont F., Jeandet P. et Liger-Belair G. Visualization of swirling flows in Champagne glasses. *Journal of Visualization (Japan)*, 2008, 11, 184.

— Polidori G., Beaumont F., Jeandet P. et Liger-Belair G. Artificial bubble nucleation in engraved champagne glasses. *Journal of Visualization (Japan)*, 2008, 11, 279.

— Liger-Belair G., Polidori G. et Jeandet P. Recent advances in the science of Champagne bubbles. *Chemical Society Reviews*, 2008, 37, 2490-2511.

— Liger-Belair G., Villaume S., Cilindre C. et Jeandet P. Kinetics of CO2 fluxes outgassing from champagne glasses in tasting conditions: the role of temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57, 4939-4947.

mistry, 2009, 74, 1997-2003.

— Mulier M., Zeninari V., Joly L., Decarpenterie T., Parvite B., Jeandet P. et Liger-Belair G. Development of a compact CO2 sensor based on near-infrared laser technology for enological applications. *Applied Physics B : Lasers and Optics*, 2009, 94, 725-733

— Jégou S., Conreux A., Villaume S., Hovasse A., Schaeffer C., Cilindre C., Van Dorsselaer A. et Jeandet P. One step purification of the grape vacuolar invertase. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 638, 75-78.

— Liger-Belair G., Jeandet P. et Polidori G. Bubbles and flow patterns in Champagne. *American Scientist*, 2009, 97, 294-301.

— Polidori G., Beaumont F., Jeandet P. et Liger-Belair G. Ring vortex scenario in engraved Champagne glasses. *Journal of Visualization (Japan)*, 2009, 12, 275-282.

— Liger-Belair G., Villaume S., Polidori G., Cilindre C. et Jeandet P. CO2 volume fluxes outgassing from champagne glasses in tasting conditions: flute vs coupe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57, 4939-4947.

— Liger-Belair G., Cilindre C., Gougeon R., Lucio M., Gebefugi I., Jeandet P. et Schmitt-Kopplin P. Unraveling different chemical fingerprints between a champagne wine and its aerosols. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2009, publication sous presse.



# TER'Informatique

*des solutions  
simples  
et évolutives*



## LOGICIELS VITICOLES

<b>GESTION PARCELLAIRE</b> VITICOLE	<b>GESTION COMMERCIALE</b> TER'VITI / TER'FACT
<b>GESTION DES SALAIRES</b> TER'PAIE / TER'VEND	<b>COMPTABILITÉ</b> CEGID
<b>REGISTRE DE CAVE</b> TER'REGISTRE	<b>GESTION DU PRESOIR</b> TER'MARC
<b>MATÉRIELS</b> ORDINATEURS, TOUS PÉRIPHÉRIQUES, CONNEXION INTERNET	<b>CONCEPTION</b> LOGICIELS et SITES INTERNET

CONSEILS-FORMATION-ASSISTANCE

VITeff 2009

HALL CHAMPAGNE

ALLÉE A - STAND 10

Contact : 03 26 35 00 50

e-mail : [terinformatique@wanadoo.fr](mailto:terinformatique@wanadoo.fr)

Site : [www.ter-informatique.com](http://www.ter-informatique.com)

2 rue Léon Patoux - 51664 REIMS Cedex 2

