HAL
open science

Etude de l'influence de l'emballage et de la matrice sur la qualité du jus d'orange

Cécilia Berlinet

To cite this version:

Cécilia Berlinet. Etude de l'influence de l'emballage et de la matrice sur la qualité du jus d'orange. Sciences du Vivant [q-bio]. ENSIA (AgroParisTech), 2006. Français. NNT : 2006EIAA0158 . pastel-00003516

HAL Id: pastel-00003516

https://pastel.hal.science/pastel-00003516

Submitted on 22 May 2008

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

présentée à

l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires (ENSIA)

pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'ENSIA
Discipline : Sciences Alimentaires

par

Cécilia BERLINET

le 13 avril 2006

ETUDE DE L'INFLUENCE DE L'EMBALLAGE ET DE LA MATRICE SUR LA QUALITE DU JUS D'ORANGE

Jury

Mme C. PROST, ENITIAA	Rapporteur
M. S. DESOBRY, ENSAIA	Rapporteur
Mme V. DUCRUET, INRA UMR SCALE	Directeur de Thèse
M. P. BRAT, CIRAD	Examinateur
M. J.P. PAIN, Université Montpellier II	Examinateur
M. P. GIRARD, Délifruits	Invité

THESE

présentée à

l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires (ENSIA)

pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'ENSIA
Discipline : Sciences Alimentaires

par

Cécilia BERLINET

le 13 avril 2006

ETUDE DE L'INFLUENCE DE L'EMBALLAGE ET DE LA MATRICE SUR LA QUALITE DU JUS D'ORANGE

Jury

Mme C. PROST, ENITIAA	Rapporteur
M. S. DESOBRY, ENSAIA	Rapporteur
Mme V. DUCRUET, INRA UMR SCALE	Directeur de Thèse
M. P. BRAT, CIRAD	Examinateur
M. J.P. PAIN, Université Montpellier II	Examinateur
M. P. GIRARD, Délifruits	Invité

REMERCIEMENTS

Cette thèse s'est déroulée pour moitié à l'INRA UMR SCALE (Sciences de l'Aliment et de l'Emballage) de Massy et pour autre moitié au CIRAD FLHOR de Montpellier. J'adresse mes remerciements pour leur accueil dans leur structure à Monsieur Gérard CUVELIER, chef du département Science de l'Aliment à l'ENSIA de Massy et à Messieurs Hubert DE BON et Max REYNES, respectivement chef du département FLHOR et chef de l'UR Tropiqual de Montpellier. Pendant ces 3 années, j'ai également passé 2 jours par mois chez Délifruits, je remercie donc le Comité de Direction constitué de Messieurs Gilles MONTEIL, Directeur des Ressources Humaines, Frédéric THORAVAL, Directeur Industriel, Frédéric DAVAL, Directeur Production et Vincent DELOZIERE, Directeur Commercial. Enfin, 2 mois de cette thèse ont eu lieu à l'INRA UMR FLAVIC (Flaveur, Vision et Comportement du Consommateur) de Dijon, dirigée par Elisabeth GUICHARD, Directeur de Recherche.

J'exprime ma profonde gratitude à Violette DUCRUET, directeur de thèse et Ingénieur de Recherche à l'INRA UMR SCALE, pour sa démarche et son exigence scientifique qui m'ont permis de prendre de bonnes leçons pour la suite de mon parcours. Elle a été la garante des orientations de ce travail.

« Il est plus facile de nager quand on vous tient le menton »

J'adresse mes plus vifs remerciements à mes co-encadrants :

A Patrick GIRARD, Responsable R&D Délifruits, pour son intérêt, son important investissement, sa motivation et ses actions décisives qui ont fait avancer le projet. Merci pour avoir accepté le principe de fonctionnement de cette thèse et pour les nombreux échanges constructifs pendant ces trois années.

A Pierre BRAT, Ingénieur de Recherche au CIRAD, département FLHOR, pour son enthousiasme, ses conseils et sa confiance qui ont été une grande source d'appui, de motivation et d'encouragement pour mener à bien ce travail.

A Elisabeth GUICHARD, co-directrice de thèse, pour son implication et ses interventions dans les réunions du comité de thèse.

A Jean-Claude FAUVET, Directeur Qualité Innovation Délifruits pendant la première moitié de cette thèse (aujourd'hui chez Danone), pour sa confiance depuis le premier entretien, son exigence et son professionnalisme.

Je remercie Jean-Marc BRILLOUET, Directeur de Recherche INRA au CIRAD FLHOR, qui, bien que n'étant pas impliqué officiellement dans cette thèse, m'a toujours reçue et conseillée. Il a donc participé à une partie importante de ce travail. Je lui en suis très reconnaissante.

J'ai eu la chance, pendant ces 3 années de thèse, de connaître plusieurs équipes de chercheurs et de techniciens dans des structures de recherche variées. Merci à tous pour les nombreux échanges scientifiques et humains, et les amitiés qui se sont tissées avec un certain nombre d'entre vous :

- au CIRAD FLHOR de Montpellier avec Max REYNES, Eric ODOUX, Claudie DHUIQUE-MAYER, Manuel DORNIER, Guy SELF, Dominique PALLET, Marie-Noëlle DUCAMP COLLIN, Pascaline ALTER, Marc LEBRUN. Merci à Tatiana Rodrigues Lima, que j'ai encadrée pendant 6 mois. Merci à Jocelyne RENDA pour son efficacité administrative.
- à l'INRA UMR SCALE de Massy avec Barbara REGA, Anne-Marie RIQUET, Flavien LECOURTIER, Perla RELKIN. Merci à Mélanie MASSEY, que j'ai eu comme stagiaire pendant 3 mois. Un remerciement tout particulier pour Cédric PLESSIS, pour sa participation aux études de mesures des coefficients de partage et de perméation et encore plus pour son amitié, son écoute et tous les bons moments passés ensemble. Ce fût une grande chance de te rencontrer !
- à l'INRA UMR FLAVIC avec Isabelle ANDRIOT, Dominique LANGLOIS, Karine PERRIN, Etienne SEMON et beaucoup d'autres et plus particulièrement Nicole FOURNIER, Assistante Ingénieur, pour le travail de GC/Olfactométrie mené ensemble, pour son investissement et pour ses nombreuses qualités professionnelles et humaines.

Chez Délifruits, merci à l'ensemble des personnes qui se sont investies à un moment ou à un autre dans le projet : Jean-Emmanuel CHANTRE, Sophie ORCHAMPT, Carole BLASSENAT, Catherine etc…

Merci à Yann PERNEL et Emmanuel GARREAU, de la société SIDEL (Le Havre), pour le traitement Actis et pour les mesures de perméabilités à l'oxygène des matériaux.

Merci à Ana MORENO et José NAVARRO, de la société INTERFRUIT, à Valence, Espagne, pour leur accueil lors de notre visite, pour la prise et l'envoi d'échantillons de jus d'orange.

Merci à tous les amis qui m'ont apporté leur soutien :

à Massy : Solenn, Nishat, Laure, Leena, Barbara, Olivier.

à Montpellier : Gabriela, Amanda, Tatiana, Patricia, Amezziane, Hoa, Anne-Laure, Phuong, By, Séverine, Hasnaa.

Gracias a Araceli y a Miguelito, mis mejores amigos México-Montpelliérains. También gracias a Juan, por su gran amistad y un fuerte abrazo a Karine. Les deseo mucha felicidad. Quiero enviar todo mi cariño a Yanine hasta Costa Rica, gracias por todo chapulincita, eres una persona de excepción, tu apoyo y tu amistad me ayudaron muchísimo.

Merci à Marjorie, Matthieu et Simon, pour leur fidèle amitié.

Mes pensées vont particulièrement vers mes parents, et vers Emilie et Amaël.

A Carlos, du fond du coeur.

PREFACE

Ce travail a fait l'objet de trois publications, deux posters et une communication orale dans des congrès internationaux :

Publications

Berlinet C., Ducruet, V., Brillouet, J-M., Reynes, M., Brat, P., 2005. Evolution of aroma compounds in orange juice stored in PET. Food Additives and Contaminants, 22(2), 185-195.

Berlinet, C., Brat, P., Brillouet, J-M., Ducruet, V, 2006. Ascorbic acid, aroma compounds and browning of orange juices related to PET packaging materials and pH, accepté dans Journal of the Science of Food and Agriculture.

Berlinet, C., Guichard, E., Fournier, N. and Ducruet, V. Effect of pulp reduction and pasteurisation on the release of aroma compounds in industrial orange juice, *soumis*.

Congrès internationaux

Posters

Berlinet, C., Ducruet, V., Brillouet, J-M., Reynes, M., Brat, P., 2004. Effects of PET packaging on the quality of an orange juice made from concentrate. Proceedings ICEF9 (International Congress on Engineering and Food), 7-11 mars, Montpellier, n°645.

Berlinet, C., Brat, P., Plessis C., Ducruet, V., 2005. Influence of pasteurisation and pulp amount on partition coefficients of aroma compounds in orange juice. Proceedings of the XI th Weurman Flavour research Symposium, 21-24 juin, Copenhague, Danemark.

Communication orale

Berlinet, C., Brat, P., Ducruet, V., 2006. Quality of orange juice considering the matrix and the packaging material : an integrated approach. Proceedings of the SLIM 2006 (Shelf Life International Meeting), 21-23 juin, Catane, Italie.

Sommaire

INTRODUCTION 1

TRAVAUX BIBLIOGRAPHIQUES 7

1. LE JUS D'ORANGE 7

1.1 DE L'ORANGE AU JUS D'ORANGE 7

1.1.1 Généralités sur l'orange 7

1.1.1.a *Structure du fruit* 7

1.1.1.b *Les espèces et les principales variétés* 8

1.1.2 Production d'oranges et oranges transformées 10

1.1.2.a *Production mondiale d'oranges* 10

1.1.2.b *Part de la production destinée à la transformation* 11

1.1.3 Les différentes appellations de jus d'orange 12

1.1.3.a *La réglementation européenne des jus de fruits* 12

1.1.3.b *Les dénominations courantes de jus d'orange en France* 12

1.1.3.c *Le marché du pur jus et du jus à base de concentré* 13

1.1.4 Procédé de fabrication du pur jus d'orange 14

1.1.4.a *Extraction du jus* 15

1.1.4.b *Raffinage et centrifugation* 16

1.1.4.c *Pasteurisation* 17

1.1.4.d *Transport* 18

1.1.5 Procédé de fabrication du jus à base de concentré 18

1.1.5.a *Pasteurisation après extraction et raffinage* 18

1.1.5.b *Concentration et congélation* 19

1.1.5.c *Transport du concentré congelé* 20

1.1.6 Conditionnement 20

1.1.6.a *Pur jus d'orange* 20

1.1.6.b *Jus à base de concentré* 21

1.2 LES CONSTITUANTS NON VOLATILS DU JUS D'ORANGE 22

1.2.1 Composition chimique du jus d'orange 22

1.2.2 La vitamine C, réactivité dans le jus d'orange et lien avec le brunissement non-enzymatique 22

1.2.2.a *Voie de dégradation aérobie* 23
1.2.2.b *Voie de dégradation anaérobie* 24
1.2.2.c *Modifications de couleur du jus : brunissement non-enzymatique* 25
1.2.2.d *Effet du procédé de fabrication et du stockage sur la stabilité de la vitamine C* 28
1.3 LES COMPOSÉS D'ARÔME DU JUS D'ORANGE 29
1.3.1 Les principaux composés d'arôme du jus d'orange 29
1.3.2 Effet du procédé sur la composition aromatique du jus d'orange 34
1.3.3 Evolution de la fraction aromatique pendant le stockage du jus d'orange 38
2. L'EMBALLAGE DU JUS D'ORANGE 42
2.1 LES CONDITIONNEMENTS ACTUELS DU JUS D'ORANGE 42
2.1.1 Présentation du marché des jus en France 42
2.1.2 Les emballages plastiques 43
2.1.3 Les techniques de conditionnement 45
2.2 LES INTERACTIONS ENTRE L'EMBALLAGE ET L'ALIMENT 46
2.2.1 Définitions 46
2.2.2 La réglementation des emballages 47
2.2.3 Les équations régissant les phénomènes de perméation 49
2.3 INTERACTIONS DES COMPOSÉS D'ARÔME AVEC LES POLYMÈRES PLASTIQUES 51
2.3.1 Influence de la nature du polymère 51
2.3.2 Influence des conditions de stockage 51
2.3.3 Affinité entre le polymère et les composés d'arôme 52
2.3.3.a *En solutions modèles* 52
2.3.3.b *Influence de la matrice alimentaire* 53
2.3.4 Effet de la sorption des composés d'arôme sur la perméabilité à l'oxygène de l'emballage 55
2.4 QUALITÉ DU JUS D'ORANGE CONDITIONNÉ AVEC UN MATÉRIAU D'EMBALLAGE AU COURS DU STOCKAGE 55
2.4.1 Influence de la sorption sur la qualité aromatique 55
2.4.2 Influence de la perméabilité à l'oxygène du matériau sur les teneurs en vitamine C 56

MATÉRIELS ET MÉTHODES 59

1. MATÉRIELS 59
1.1 JUS D'ORANGE À BASE DE CONCENTRÉ 59
1.1.1 Fabrication pilote du jus avec ajout d'arômes 59
1.1.2 Conditionnement du jus à base de concentré 60
1.1.2.a *Bouteilles* 60
1.1.2.a.1 Bouteilles verre 60
1.1.2.a.2 Bouteilles PET 60
1.1.2.b *Bouchons* 61
1.1.2.b.1 Opercules en aluminium 61
1.1.2.b.2 Bouchons en PEHD 61
1.1.3 Stockage du jus à base de concentré 62
1.2 PUR JUS D'ORANGE PRESSÉ À LA MAIN ET MODULATION DE SON PH 63
1.2.1 Fabrication et conditionnement en verre 63
1.2.2 Stockage du pur jus pressé à la main 63
1.3 PURS JUS D'ORANGE INDUSTRIELS 63
1.3.1 Fabrication sur site 63
1.3.2 Conditionnement des purs jus industriels 64
2. MÉTHODES 65
2.1 JUS D'ORANGE 65
2.1.1 Détermination de la teneur en acide ascorbique 65
2.1.2 Evaluation de la couleur du jus 66
2.1.2.a *Mesure de la couleur du jus à base de concentré dans l'espace CIE L*a*b** 66
2.1.2.b *Détermination de l'indice de brunissement* 66
2.1.3 Détermination du taux de pulpe et séparation des fractions pulpe/trouble/sérum 67
2.1.3.a *Jus à base de concentré* 67
2.1.3.b *Purs jus industriels* 67
2.1.4 Mesure de la répartition de taille des particules dans les purs jus industriels 67
2.1.5 Extraction par un mélange azéotropique de solvants et analyse des composés d'arôme du jus d'orange 68
2.1.5.a *Extraction du jus à base de concentré* 68
2.1.5.b *Extractions des phases aromatique aqueuse et huileuse utilisées dans la formulation du jus à base de concentré* 68

2.1.5.c *Extraction du pur jus avec un Potter Elvejhem* 68
2.1.5.d *Analyse CPG/SM* 69
2.1.6 Extraction SPME des purs jus d'orange 70
2.1.6.a *Protocole expérimental* 70
2.1.6.b *Analyse CPG/SM* 70
2.1.6.c *Analyse olfactométrique des extraits SPME* 71
2.1.6.c.1 CPG/Olfactométrie Directe et représentativité des extraits 71
Sélection du jury 71
Choix des conditions d'extraction 72
Tests de discrimination des purs jus industriels par CPG/Olfactométrie Directe 72
Discrimination entre les jus pasteurisés 72
Discrimination entre un jus frais et le même jus pasteurisé 72
2.1.6.c.2 CPG/Olfactométrie 72
2.1.7 Mesure des coefficients de partage des composés d'arôme par la méthode de Variation du Rapport de Phase (PRV) 73
2.1.7.a *Méthode* 73
2.1.7.b *Analyse sur le jus à base de concentré* 76
2.1.7.b.1 Jus entier 76
2.1.7.b.2 Sérum, sérum + pulpe, sérum + trouble 77
2.1.7.c Analyse sur les purs jus industriels entiers 77
2.1.7.d *Instrumentation* 78
2.1.7.d.1 Analyse HS40 et CPG/DIF du jus à base de concentré 78
2.1.7.d.2 Analyse Combipal et CPG/DIF des purs jus industriels 78
2.1.7.e Identification indirecte de plusieurs composés d'arôme 79
2.2 EMBALLAGES 80
2.2.1 Détermination de la perméabilité à l'oxygène des matériaux plastiques 80
2.2.2 Détermination de la cristallinité par Analyse Enthalpique Différentielle 80
2.2.3 Extraction des composés d'arôme sorbés dans les matériaux plastiques 81
2.2.4 Mesure de la perméation des composés d'arôme au travers de l'emballage (bouteille + bouchon) 81
2.2.4.a *Cellules de perméation* 81
2.2.4.a.1 Protocole 82
2.2.4.a.2 Analyse CPG/DIF 82

2.2.4.b *Extraction dynamique de l'espace de tête par un injecteur « Purge and Trap » (PTI)* 83
2.2.4.b.1 Protocole 83
2.2.4.b.2 Analyse CPG/SM 84
2.3 ANALYSES STATISTIQUES 86
2.3.1 Analyse de variance 86
2.3.1.a *Analyse de variance ANOVA à un facteur* 86
2.3.1.b *Comparaison multiple de moyennes* 86
2.3.2 Analyse en Composantes Principales 86
2.3.3 Classification Ascendante Hiérarchique 87

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS – CHAPITRE 1. SUIVI DE PARAMÈTRES DE QUALITÉ D'UN JUS D'ORANGE À BASE DE CONCENTRÉ PENDANT SON STOCKAGE. HIÉRARCHISATION DES PHÉNOMÈNES DE DÉGRADATION. 91

1. SORPTION DES COMPOSÉS D'ARÔME DANS LE PET 91
2. PERMÉABILITÉ À L'OXYGÈNE DES EMBALLAGES PET AU COURS DU STOCKAGE 93
3. EVOLUTION DE LA TENEUR EN VITAMINE C DANS LES DIFFÉRENTS EMBALLAGES TESTÉS 95
3.1 STOCKAGE AMBIANT AVEC ÉCLAIRAGE ARTIFICIEL 95
3.2 STOCKAGE AMBIANT AVEC IMMERSION DES BOUTEILLES DANS L'EAU 99
3.3 STOCKAGE AMBIANT À L'OBSCURITÉ 100
4. EFFET DU STOCKAGE SUR LA COULEUR DU JUS 102
4.1 EVALUATION DE LA COULEUR DU JUS PAR LE SYSTÈME L*A*B* 102
4.2 EVOLUTION DE L'INDICE DE BRUNISSEMENT DU JUS À BASE DE CONCENTRÉ AU COURS DU STOCKAGE 107
4.3 ASPECT VISUEL DES JUS ET CORRÉLATION AVEC LES MESURES DE CHROMAMÉTRIE L*A*B* ET D'INDICE DE BRUNISSEMENT 109
5. EFFET DES DIFFÉRENTS EMBALLAGES PET SUR L'ÉVOLUTION AROMATIQUE DU JUS À BASE DE CONCENTRÉ 111
5.1 MISE AU POINT DE LA MÉTHODE D'EXTRACTION DES COMPOSÉS D'ARÔME DU JUS D'ORANGE À BASE DE CONCENTRÉ PAR UN MÉLANGE DE SOLVANTS 111
5.2 EFFETS DE LA PASTEURISATION SUR LES COMPOSÉS D'ARÔME DU JUS À BASE DE CONCENTRÉ : ANALYSE DU CONCENTRÉ, DES PHASES AQUEUSE ET HUILEUSE 116

5.3 EVOLUTION DES COMPOSÉS D'ARÔME DES JUS CONDITIONNÉS AU COURS DU STOCKAGE : ASPECTS PHYSICOCHIMIQUES 120
5.4 EVOLUTION DES COMPOSÉS D'ARÔME DES JUS CONDITIONNÉS AU COURS DU STOCKAGE : IMPACT OLFACTIF 129
6. PERMÉATION DES COMPOSÉS D'ARÔME AU TRAVERS DE L'EMBALLAGE 132
6.1 MESURE SEMI-QUANTITATIVE DE LA PERMÉATION PAR EXTRACTION STATIQUE DE L'ESPACE DE TÊTE (SPME) 134
6.1.1 Choix des couples bouteille/bouchon testés 134
6.1.2 Choix des conditions d'extraction par SPME 135
6.1.3 Perméation des composés d'arôme après 1 mois de stockage pour les séries 1 et 2 136
6.1.4 Perméation des composés d'arôme après 2 mois de stockage pour les séries 1 et 2 139
6.2 MESURE QUANTITATIVE DE LA PERMÉATION PAR EXTRACTION DYNAMIQUE DE L'ESPACE DE TÊTE (PTI) 141
6.2.1 Choix des couples bouteille/bouchon testés 141
6.2.2 Courbes de calibration 142
6.2.3 Mesure quantitative de la perméation des composés d'arôme pendant 4 mois (16 semaines) 143
7. CONCLUSION DU CHAPITRE 1 ET HIÉRARCHISATION DES PHÉNOMÈNES DE DÉGRADATION 152

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS – CHAPITRE 2. QUALITÉ AROMATIQUE DU JUS D'ORANGE : RECHERCHE SUR LA MATIÈRE PREMIÈRE (JUS ET ARÔMES) ET INFLUENCE DU PROCÉDÉ 155

1. REFORMULATION DES PHASES AROMATIQUES UTILISÉES DANS LE JUS À BASE DE CONCENTRÉ 155
2. AUGMENTATION DU PH D'UN PUR JUS PRESSÉ À LA MAIN : EFFET SUR LA QUALITÉ APRÈS 1 MOIS DE STOCKAGE 159
2.1 EFFET SUR LA TENEUR EN VITAMINE C 159
2.2 EFFET D'UNE AUGMENTATION DU PH SUR LES TENEURS EN COMPOSÉS D'ARÔME 160
2.3 EFFET D'UNE AUGMENTATION DU PH SUR LE BRUNISSEMENT 166
2.4 CHOIX D'UN PH OPTIMAL ET FAISABILITÉ POUR LA FABRICATION DE JUS 168
3. EFFET DES FRACTIONS PULPE/TROUBLE/SÉRUM DANS LE JUS À BASE DE CONCENTRÉ SUR LA RÉTENTION DES COMPOSÉS D'ARÔME 170

3.1 DÉTERMINATION DES POURCENTAGES MASSIQUES DE PULPE/TROUBLE/SÉRUM ET CHOIX D'UN PROTOCOLE 171
3.2 COMPARAISON DES COEFFICIENTS DE PARTAGE POUR LE JUS ENTIER ET AVEC LES DIFFÉRENTES FRACTIONS 171
4. INFLUENCE DU TAUX DE PULPE ET DE LA PASTEURISATION DES PURS JUS SUR LA PERCEPTION ORGANOLEPTIQUE 174
4.1 TESTS DE REPRÉSENTATIVITÉ DES EXTRAITS SPME PAR D-GC-O 175
4.1.1 Optimisation des conditions d'extraction 176
4.1.2 Test de différenciation des jus d'orange par D-GC-O 177
4.2 OLFACTOMÉTRIE DES EXTRAITS SPME DES JUS D'ORANGE 178
4.2.1 Choix de la méthode 178
4.2.2 Résultats des fréquences de détection des composés d'arôme 179
4.3 ANALYSE PAR CPG-SM DES EXTRAITS SPME 183
4.4 ANALYSE PAR CPG-SM DES EXTRAITS LIQUIDE-LIQUIDE DES COMPOSÉS D'ARÔME 186
4.5 COEFFICIENTS DE PARTAGE GAZ/LIQUIDE DES COMPOSÉS D'ARÔME DES JUS 189

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES 197

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 203

ANNEXE 1 225

ANNEXE 2 227

Liste des Abréviations

ACP	Analyse en Composantes Principales
ACTIS	Amorphous Carbon Treatment on Internal Surface
CAH	Classification Ascendente Hiérarchique
CPG	Chromatographe en Phase Gazeuse
DIF	Détecteur à Ionisation de Flamme
DLUO	Date Limite d'Utilisation Optimale
DVB/CAR/PDMS	Divinylbenzène/Carboxen/Polydiméthylsiloxane
EvOH	Copolymère d'éthylène et d'alcool vinylique
FMC	Food Machinery Corporation
IRL	Indice de Rétention Linéaire
LMG	Limite de Migration Globale
LMS	Limite de Migration Spécifique
PA	Polyamide
PAN	Polyacrylonitrile
PC	Polycarbonate
PE	Polyéthylène
PEBD	Polyéthylène Basse Densité
PEHD	Polyéthylène Haute Densité
PEN	Polyéthylène naphtalate
PET	Polyéthyléne téréphtalate
PP	Polypropylène
PRV	Phase Ratio Variation ou Variation du Rapport de Phase
PS	Polystyrène
PTI	Purge and Trap Injector
PVC	Polychlorure de vinyle
QM	Concentration maximale dans le matériau
QMA	Concentration maximale par unité de surface
SM	Spectrométrie de Masse
SPME	Solid Phase Micro Extraction ou microextraction sur phase solide
VP	Valeur Pasteurisatrice

Liste des Figures

FIGURE 1. COUPE ÉQUATORIALE D'UNE ORANGE (D'APRÈS HUET, 1991) 7
FIGURE 2. PROCÉDÉ DE FABRICATION DU PUR JUS D'ORANGE ET DU CONCENTRÉ D'ORANGE (EN BLEU : VALORISATION DE SOUS-PRODUITS) 14
FIGURE 3. SCHÉMA DES EXTRACTEURS BROWN (A) ET FMC (B) 15
FIGURE 4. STRUCTURE CHIMIQUE D'UNE RÉDUCTONE 23
FIGURE 5. VOIES DE DÉGRADATION DE LA VITAMINE C ET EFFETS SUR LA QUALITÉ DU JUS D'ORANGE 23
FIGURE 6. VOIE DE DÉGRADATION AÉROBIE DE LA VITAMINE C EN SOLUTION AQUEUSE, D'APRÈS YUAN ET CHEN (1998) 24
FIGURE 7. VOIE DE DÉGRADATION ANAÉROBIE DE LA VITAMINE C EN SOLUTION AQUEUSE, D'APRÈS YUAN ET CHEN, 1998 25
FIGURE 8. SCHÉMA GÉNÉRAL DE LA RÉACTION DE MAILLARD 26
FIGURE 9. STRUCTURE DU TRANS-*B*-CAROTÈNE 27
FIGURE 10. COMPOSÉS DE DÉGRADATION APPARAISSANT AU COURS DU STOCKAGE DANS LES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES PAR CATALYSE ACIDE (D'APRÈS NAGY *ET AL.*, 1989 ; CLARK ET CHAMBLEE, 1992) 39
FIGURE 11. SCHÉMA D'UN PROCÉDÉ DE REMPLISSAGE ASEPTIQUE À FROID 46
FIGURE 12. LES DIFFÉRENTS TYPES D'INTERACTION ENTRE LA MATRICE ALIMENTAIRE ET L'EMBALLAGE PLASTIQUE 47
FIGURE 13. FACTEURS INFLUENÇANT LA SORPTION PAR LES POLYMÈRES PLASTIQUES, D'APRÈS VAN WILLIGE *ET AL.*, 2000B 52
FIGURE 14. SCHÉMA DU PROCÉDÉ DE FABRICATION DU PUR JUS D'ORANGE À BASE DE CONCENTRÉ 59
FIGURE 15. BOUTEILLES PET1, PET2 ET PET4 (DE LA GAUCHE VERS LA DROITE) NE MONTRANT AUCUNE DIFFÉRENCE VISUELLE ENTRE LES MATÉRIAUX PLASTIQUES UTILISÉS (LA BOUTEILLE DE PET3 NON PHOTOGRAPHIÉE EST SIMILAIRE) 61
FIGURE 16. BOUCHON A (ORANGE) EN PEHD, B (ROUGE) PEHD ET JOINT EN PEBD BLANC AVEC ABSORBEUR D'OXYGÈNE ET C (JAUNE) AVEC JOINT MULTICOUCHE BLANC PEBD/EVOH/PEBD 62
FIGURE 17. SCHÉMA DU PROCÉDÉ DE FABRICATION DES PURS JUS D'ORANGE INDUSTRIELS 64
FIGURE 18. LE POTTER ELVEJHEM 69
FIGURE 19. DISPOSITIF DE MESURE SEMI-QUANTITATIVE DE LA PERMÉATION DES COMPOSÉS D'ARÔME DU JUS AU TRAVERS DU CONTENANT PAR EXTRACTION SPME 82
FIGURE 20. CELLULE DE PERMÉATION POUR LA MESURE QUANTITATIVE DE LA PERMÉATION ... 83

FIGURE 21. SCHÉMA DU DISPOSITIF DE MESURE DE LA PERMÉATION PAR COUPLAGE AVEC UN INJECTEUR « PURGE AND TRAP » RELIÉ À UN DISPOSITIF DE CPG-SM 84
FIGURE 22. QUANTITÉS DE β-MYRCÈNE ET DE LIMONÈNE (μG.DM^{-2}) SORBÉES DANS LES BOUTEILLES DE PET (PET1 : MONOCOUCHE, PET2 : BINDOX, PET3 : ACTIS) APRÈS 5 MOIS DE STOCKAGE DU JUS À 20°C. 92
FIGURE 23. EVOLUTION DE LA PERMÉABILITÉ À L'OXYGÈNE (U) DES PET 1, 2 ET 3 PENDANT 9 MOIS DE STOCKAGE (N=3) 94
FIGURE 24. TENEURS EN VITAMINE C (MG.L^{-1}) DANS LE JUS À BASE DE CONCENTRÉ PENDANT 9 MOIS DE STOCKAGE AMBIANT DANS LE VERRE ET DANS LES PET1, 2 ET 3. POUR UN MÊME EMBALLAGE, DES LETTRES DIFFÉRENTES INDIQUENT UNE DIFFÉRENCE SIGNIFICATIVE AU COURS DU STOCKAGE (P<0,05)..... 96
FIGURE 25. SPECTRES DE POURCENTAGES DE TRANSMISSION (% T) DES LONGUEURS D'ONDE COMPRISES ENTRE 200 ET 500 NM POUR LE VERRE, LE PET ET LE PET TRAITÉ ACTIS LITE™ OU ACTIS™ 102
FIGURE 26. EVOLUTIONS DE L* DANS LE JUS À BASE DE CONCENTRÉ CONSERVÉ 9 MOIS DANS LE VERRE ET DANS LES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™). 103
FIGURE 27. EVOLUTIONS DE A* DANS LE JUS À BASE DE CONCENTRÉ CONSERVÉ 9 MOIS DANS LE VERRE ET DANS LES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™). 104
FIGURE 28. EVOLUTIONS DE B* DANS LE JUS À BASE DE CONCENTRÉ CONSERVÉ 9 MOIS DANS LE VERRE ET DANS LES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™). 105
FIGURE 29. EVOLUTIONS DE ΔE* DANS LE JUS À BASE DE CONCENTRÉ CONSERVÉ 9 MOIS DANS LE VERRE ET DANS LES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™). 106
FIGURE 30. ABSORBANCE À 420 NM DU JUS À BASE DE CONCENTRÉ APRÈS 2, 3, 5 ET 6 MOIS DE STOCKAGE AMBIANT (N=3) POUR LES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™). 107
FIGURE 31. BOUTEILLES DE JUS D'ORANGE EMBALLÉES AVEC LE PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™) ET LE VERRE APRÈS 9 MOIS DE STOCKAGE AMBIANT (L : ÉCLAIRAGE ARTIFICIEL, O : OBSCURITÉ)..... 109
FIGURE 32. UNE BOUTEILLE DE PET2 (BINDOX®) JUSTE APRÈS LE REMPLISSAGE DU JUS AU TEMPS T_0..... 109

FIGURE 33. DISTRIBUTION DES INDIVIDUS (JUS CONSERVÉS DANS LES DIFFÉRENTS EMBALLAGES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™)) DE L'ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES APRÈS 0, 2, 3 ET 5 MOIS DE STOCKAGE 120
FIGURE 34. DISTRIBUTION DES VARIABLES (COMPOSÉS D'ARÔME) DE L'ACP (A AUGMENTANT; D, DIMINUANT)..... 121
FIGURE 35. CLASSIFICATION ASCENDANTE HIÉRARCHIQUE APRÈS 0, 2, 3 ET 5 MOIS DE STOCKAGE DANS LE VERRE ET DANS LES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™). 122
FIGURE 36. DIMINUTION DES CONCENTRATIONS DES FAMILLES DE COMPOSÉS D'ARÔME DANS LE JUS AU COURS DU STOCKAGE AVEC LE PET2 (BINDOX®), PENDANT 5 MOIS 124
FIGURE 37. DIMINUTIONS DES CONCENTRATIONS DE PLUSIEURS COMPOSÉS D'ARÔME DANS LE JUS CONSERVÉ DANS LE PET2 (BINDOX®) PENDANT 5 MOIS À 20°C..... 125
FIGURE 38. AUGMENTATIONS DES CONCENTRATIONS DE PLUSIEURS COMPOSÉS D'ARÔME DANS LE JUS CONSERVÉ DANS LE PET2 (BINDOX®)PENDANT 5 MOIS À 20°C..... 125
FIGURE 39. COUPLES BOUTEILLE/BOUCHON TESTÉS DANS LA SÉRIE 1 134
FIGURE 40. COUPLES BOUTEILLE/BOUCHON TESTÉS DANS LA SÉRIE 2 135
FIGURE 41. COMPARAISON DES AIRES DE COMPOSÉS D'ARÔME EN FONCTION DE LA DURÉE DE MISE EN CONTACT DE LA FIBRE DANS L'ESPACE DE TÊTE DE LA CELLULE DE PERMÉATION (N = 1)..... 136
FIGURE 42. AIRES DES PICS (SPME-CPG/DIF) DE PLUSIEURS COMPOSÉS D'ARÔME POUR LES COUPLES DE LA SÉRIE 1 (PETITES CELLULES) APRÈS 1 MOIS DE STOCKAGE DANS LES CELLULES DE PERMÉATION (N=3). LA VALEUR DU BUTANOATE D'ÉTHYLE POUR PET4/A EST DIVISÉE PAR 2. 137
FIGURE 43. AIRES DES PICS (SPME-CPG/DIF) DE PLUSIEURS COMPOSÉS D'ARÔME POUR LES COUPLES DE LA SÉRIE 2 APRÈS 1 MOIS DE STOCKAGE DES BOUTEILLES (N=3)..... 138
FIGURE 44. AIRES DES PICS DE COMPOSÉS D'ARÔME POUR LES SÉRIES 1 ET 2 APRÈS 1 MOIS DE STOCKAGE DANS LES CELLULES DE PERMÉATION 139
FIGURE 45. AIRES DES PICS DE COMPOSÉS D'ARÔME POUR LES SÉRIES 1 ET 2 APRÈS 2 MOIS DE STOCKAGE DANS LES CELLULES DE PERMÉATION. 140
FIGURE 46. QUANTITÉ PERMÉÉE ACCUMULÉE DES COMPOSÉS D'ARÔME EN FONCTION DU BOUCHON UTILISÉ A : BOUCHON PEHD, E : PEHD AVEC DÉPÔT PLASMA EXTERNE ET AVEC JOINT ET ABSORBEUR D'OXYGÈNE, B : PEHD AVEC JOINT ET ABSORBEUR D'OXYGÈNE, D : PEHD + ADDITIF 145

FIGURE 47. FLUX DE PERMÉATION EN µG.M^{-2}.JOUR^{-1} DES COMPOSÉS D'ARÔME EN FONCTION DU BOUCHON UTILISÉ A : BOUCHON PEHD, E : PEHD AVEC DÉPÔT PLASMA EXTERNE ET AVEC JOINT ET ABSORBEUR D'OXYGÈNE, B : PEHD AVEC JOINT ET ABSORBEUR D'OXYGÈNE, D : PEHD + ADDITIF 146
FIGURE 48. SCHÉMA D'UNE COUPE TRANSVERSALE DU BOUCHON B (PEHD ET JOINT EN PEBD SUPPORT D'UN ABSORBEUR D'OXYGÈNE) 148
FIGURE 49. CONCENTRATIONS EN *A*-TERPINÉOL, FURFURAL ET 4-VINYLGAÏACOL (MOYENNE ± ÉCART-TYPE, N=3) APRÈS 1 MOIS DE STOCKAGE EN FONCTION DU PH DU JUS 164
FIGURE 50. MÉCANISME DE DÉGRADATION DE L'ACIDE FÉRULIQUE PAR DES MICROORGANISMES (D'APRÈS KARMAKAR *ET AL.*, 2000) 166
FIGURE 51. COEFFICIENTS DE PARTAGE K (AIR/LIQUIDE) DE COMPOSÉS D'ARÔME DANS LE SÉRUM, LE SÉRUM SUPPLÉMENTÉ EN PULPE, EN TROUBLE ET LE JUS ENTIER À BASE DE CONCENTRÉ (N=3), MÉTHODE LINÉAIRE 172
FIGURE 52. POURCENTAGES DE RÉTENTION DES COMPOSÉS D'ARÔME DANS LES DIFFÉRENTS MILIEUX ÉTUDIÉS PAR RAPPORT AU JUS ENTIER 173
FIGURE 53. SCHÉMA DE FABRICATION DES PURS JUS D'ORANGE INDUSTRIELS 175
FIGURE 54. REPRÉSENTATION DES INDIVIDUS, LES JUS (A1), (B1), (A2) ET (B2) SELON LE PREMIER PLAN FACTORIEL DE L'ACP1 181
FIGURE 55. DISTRIBUTION DES VARIABLES SELON LE PREMIER PLAN FACTORIEL DE L'ACP1 . 181
FIGURE 56. DISTRIBUTION DES JUS SUIVANT L'ACP RÉALISÉE AVEC LES AIRES CPG DES COMPOSÉS D'ARÔME PRÉSENTS DANS LES EXTRAITS SPME. CHAQUE ANALYSE EST RÉPÉTÉE 3 FOIS (NOTÉE -1, -2 ET -3) SAUF POUR LE JUS (A1) (2 RÉPÉTITIONS, -1 ET -2)... 184
FIGURE 57. DISTRIBUTION DES COMPOSÉS D'ARÔMES PRÉSENTS DANS LES EXTRAITS SPME DES JUS PAR ACP2 185
FIGURE 58. EVOLUTION EN POURCENTAGE DES CONCENTRATIONS DE QUELQUES COMPOSÉS D'ARÔME DANS LES EXTRAITS LIQUIDE-LIQUIDE APRÈS PASTEURISATION DANS (A2) COMPARÉ À (A1) ET DANS (B2) COMPARÉ À (B1)..... 188
FIGURE 59. COEFFICIENTS DE PARTAGE (K, MG.L^{-1}) DE 7 COMPOSÉS D'ARÔME PAR LA MÉTHODE PRV À 45°C, APRÈS 3H D'ÉQUILIBRE, AVEC UN TRAITEMENT LINÉAIRE DES DONNÉES POUR LES JUS (A1), (A2), (B1) ET (B2) (N=3)..... 189

Liste des Tableaux

TABLEAU 1. PRINCIPALES VARIÉTÉS D'ORANGES DE L'ESPÈCE *CITRUS SINENSIS* (L.) OSBECK : LIEUX DE PRODUCTION ET UTILISATION COURANTE (D'APRÈS SAUNT, 1990) 9
TABLEAU 2. PRODUCTION MONDIALE D'ORANGES (EN MILLIERS DE TONNES) (D'APRÈS FAO, 2003)..... 10
TABLEAU 3. PRODUCTION MONDIALE D'ORANGES DESTINÉES À LA TRANSFORMATION (EN MILLIERS DE TONNES) (D'APRÈS FAO, 2003). 11
TABLEAU 4. DÉNOMINATIONS DE JUS DE FRUITS EN FRANCE ET PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES (HTTP://WWW.JUSDEFRUITS.ORG/JUICE/SITE/FO/UNIJUS/MEMO.HTML#) 13
TABLEAU 5. QUANTITÉ POUR 100 G DE JUS DES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DU JUS D'ORANGE22
TABLEAU 6. PRINCIPAUX TERPÈNES DU JUS D'ORANGE (D'APRÈS SHAW ET NAGY, 1993 ARCTANDER, 1969)..... 32
TABLEAU 7. QUELQUES ALDÉHYDES, ESTERS ET ALCOOLS DU JUS D'ORANGE..... 33
TABLEAU 8. CONCENTRATIONS DE PLUSIEURS COMPOSÉS D'ARÔME DANS DES PURS JUS PRESSÉS À LA MAIN EN FONCTION DE LA VARIÉTÉ D'ORANGES (D'APRÈS MOSHONAS ET SHAW, 1994)..... 34
TABLEAU 9. COMPOSÉS VOLATILS IMPORTANTS POUR LA FLAVEUR DU JUS D'ORANGE, DANS UN JUS D'ORANGES « VALENCIA » PRESSÉ À LA MAIN ET INDUSTRIEL (EXTRACTEUR FMC), CONCENTRATION EN $\mu G.G^{-1}$, D'APRÈS MOSHONAS ET SHAW (1994) 35
TABLEAU 10. DÉNOMINATIONS DE JUS DE FRUITS AMBIANTS EN FRANCE ET PRINCIPAUX TYPES DE CONDITIONNEMENT UTILISÉ 43
TABLEAU 11. PERMÉABILITÉ À L'OXYGÈNE (23°C 50 % OU 0 % D'HUMIDITÉ RELATIVE) ET À LA VAPEUR D'EAU (23°C, 85 % D'HUMIDITÉ RELATIVE) ET TRANSITION VITREUSE DE PLUSIEURS POLYMÈRES, D'APRÈS LANGE ET WYSER, 2003. 44
TABLEAU 12. RÉPARTITION DES COMPOSÉS AROMATIQUES MAJORITAIRES ENTRE LA PULPE ET LE SÉRUM DU JUS D'ORANGE (D'APRÈS RADFORD *ET AL.*, 1974)..... 54
TABLEAU 13. CARACTÉRISTIQUES PRINCIPALES DES BOUTEILLES EN PET UTILISÉES..... 61
TABLEAU 14. CARACTÉRISTIQUES PRINCIPALES DES BOUCHONS EN PEHD UTILISÉS..... 62
TABLEAU 15. CARACTÉRISTIQUES DES PRINCIPAUX COMPOSÉS D'ARÔME ÉTUDIÉS (DANS DONNÉES DE LEFFINGWELL, 2005)..... 79
TABLEAU 16. BILAN DES MATÉRIELS ET MÉTHODES..... 85
TABLEAU 17. COMPARAISON DES TENEURS EN VITAMINE C ($MG.L^{-1}$) ENTRE UN STOCKAGE AMBIANT ET UN STOCKAGE AMBIANT AVEC IMMERSION DES BOUTEILLES DANS L'EAU APRÈS 2 ET 4 MOIS DE STOCKAGE (N=3) 99

TABLEAU 18. COMPARAISON DES TENEURS EN VITAMINE C (MG.L^{-1}) ENTRE UN STOCKAGE AMBIANT SOUS ÉCLAIRAGE ARTIFICIEL ET UN STOCKAGE AMBIANT À L'OBSCURITÉ APRÈS 3 MOIS ET 9 MOIS (N=3) 100
TABLEAU 19. COMPARAISONS DES QUANTITÉS DE QUELQUES COMPOSÉS EXTRAITS D'UN JUS D'ORANGE COMMERCIAL ÂGÉ DE 6 MOIS PAR LE PENTANE/ÉTHER ET PAR LE DICHLOROMÉTHANE EN µG.G^{-1} 112
TABLEAU 20. EVALUATION DE LA RÉPÉTABILITÉ DE LA MÉTHODE D'EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE : 3 SÉRIES DE 3 EXTRACTIONS SUR 3 BOUTEILLES D'UN MÊME LOT, MOYENNE ET CŒFFICIENT DE VARIATION (%) POUR CHAQUE BOUTEILLE, POUR LES 3 MOYENNES ET POUR LES 9 MESURES 114
TABLEAU 21. INFLUENCE DE LA PASTEURISATION SUR LES CONCENTRATIONS EN COMPOSÉS D'ARÔME DU JUS À BASE DE CONCENTRÉ : CONCENTRATIONS DES COMPOSÉS D'ARÔME DANS LE CONCENTRÉ, DANS LES FRACTIONS AQUEUSE ET HUILEUSE, TOTAL THÉORIQUE (SOMME DU CONCENTRÉ ET DES 2 FRACTIONS) ET CONCENTRATION RÉELLE DANS LE JUS PASTEURISÉ, POUR 1 L DE JUS RECONSTITUÉ 115
TABLEAU 22. COMPOSÉS D'ARÔME DU JUS D'ORANGE À BASE DE CONCENTRÉ CONSERVÉ DANS LE VERRE, LES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS LITE™) APRÈS 2, 3 ET 5 MOIS DE STOCKAGE (NOTÉS 2M, 3M ET 5M RESPECTIVEMENT). 118
TABLEAU 23. COMPOSÉS D'ARÔME DU JUS D'ORANGE À BASE DE CONCENTRÉ CONSERVÉ DANS LE PET1 (MONOCOUCHE) APRÈS 3 MOIS À L'OBSCURITÉ ET APRÈS 3 MOIS SOUS ÉCLAIRAGE ARTIFICIEL 128
TABLEAU 24. EVOLUTION DES OAV DES COMPOSÉS VOLATILS DU JUS D'ORANGE APRÈS 5 MOIS DE STOCKAGE DANS LE VERRE ET DANS LES PET1 (MONOCOUCHE), PET2 (BINDOX®) ET PET3 (ACTIS) 130
TABLEAU 25. COMPOSÉS D'ARÔME QUANTIFIÉS DANS L'ÉTUDE DE PERMÉATION AU TRAVERS DES COUPLES BOUTEILLE/BOUCHON, VALEURS DES COEFFICIENTS DE PARTAGE K ET CONCENTRATIONS DANS LE JUS (EN µG.G^{-1}) 133
TABLEAU 26. CARACTÉRISTIQUES PRINCIPALES DES BOUCHONS UTILISÉS DANS L'ÉTUDE QUANTITATIVE DE PERMÉATION 141
TABLEAU 27. EQUATIONS LINÉAIRES DES COURBES DE CALIBRATION DES COMPOSÉS ÉTUDIÉS ET COEFFICIENT DE RÉGRESSION R^2 142
TABLEAU 28. QUANTITÉ TOTALE DE PLUSIEURS COMPOSÉS D'ARÔME AYANT PERMÉÉ APRÈS 16 SEMAINES AVEC LE COUPLE PET4/BOUCHON A 143

TABLEAU 29. PERTES EN POURCENTAGE DE PLUSIEURS COMPOSÉS D'ARÔME DU JUS À BASE DE CONCENTRÉ (PET1) AU COURS DU STOCKAGE DU JUS 144
TABLEAU 30. BILAN MATIÈRE TENANT COMPTE DES PERTES PAR SORPTION, PERMÉATION ET DUES À LA RÉACTIVITÉ DANS LA MATRICE APRÈS 5 MOIS DE STOCKAGE (EN µG ET EN % PAR RAPPORT À LA QUANTITÉ INITIALE DE CHAQUE CA) POUR UNE BOUTEILLE DE JUS À BASE DE CONCENTRÉ DE 33 CL. 149
TABLEAU 31. BILAN DE MATIÈRE POUR LE BUTANOATE D'ÉTHYLE APRÈS 2 MOIS DE STOCKAGE: AVEC LE PET1 TENANT COMPTE DES PERTES PAR SORPTION ET DUES À LA RÉACTIVITÉ DANS LA MATRICE, ET DE LA PERMÉATION (EN µG ET EN % PAR RAPPORT À LA QUANTITÉ D'ARÔME INITIALE) 151
TABLEAU 32. COMPOSÉS D'ARÔME RETENUS POUR LA REFORMULATION, DESCRIPTEUR OLFACTIF À LA DÉGUSTATION DANS LE CONCENTRÉ DILUÉ ET ÉVOLUTIONS DANS LE JUS À LA PASTEURISATION ET AU STOCKAGE 156
TABLEAU 33. CONCENTRATIONS DES COMPOSÉS D'ARÔME D'UN JUS D'ORANGE À BASE DE CONCENTRÉ PENDANT SA FABRICATION INDUSTRIELLE, EFFET DU DÉGAZAGE ET DE LA PASTEURISATION, PERTES EN % 157
TABLEAU 34. TENEURS EN ACIDE ASCORBIQUE (MG.L^{-1}) (MOYENNE ± ÉCART-TYPE, N=3) DU PUR JUS D'ORANGE EN FONCTION DE SON PH APRÈS 1 MOIS DE STOCKAGE AMBIANT 159
TABLEAU 35. CONCENTRATIONS* DES COMPOSÉS D'ARÔME DU PUR JUS PRESSÉ À LA MAIN ET PASTEURISÉ À T_0 ET APRÈS 1 MOIS DE STOCKAGE EN FONCTION DU PH DU JUS 162
TABLEAU 36. INDICES DE BRUNISSEMENT (MOYENNE ± ÉCART-TYPE, N=3) DES JUS APRÈS 1 MOIS DE STOCKAGE EN FONCTION DU PH 167
TABLEAU 37. MOYENNES DES NOTES DES TESTS DE SIMILARITÉ OBTENUES AVEC LA FIBRE DVB/CAR/PDMS LORS D'EXTRACTIONS À 40°C SOUS AGITATION AVEC 2 TEMPS D'INCUBATION ET D'EXPOSITION DE LA FIBRE, AVEC LE JUS (B2) PRIS POUR RÉFÉRENCE 176
TABLEAU 38. MOYENNE DES NOTES DE SIMILARITÉ POUR LE TEST DE DIFFÉRENCIATION DES JUS PASTEURISÉS (A2), (B2) ET (C2) 177
TABLEAU 39. NOTES DE SIMILARITÉ POUR LE TEST DE DIFFÉRENCIATION DES JUS FRAIS ET PASTEURISÉS 178
TABLEAU 40. COMPOSÉS D'ARÔME ODORANTS DANS LES ANALYSES DE GC-OLFACTOMÉTRIE ET FRÉQUENCES DE DÉTECTION DANS LES EXTRAITS SPME DES JUS : (A1) 12 % DE PULPE ET NON PASTEURISÉ, (A2) 12 % DE PULPE PASTEURISÉ, (B1) 6 % NON PASTEURISÉ ET (B2) 6% PASTEURISÉ 180

TABLEAU 41. MOYENNES (N=3) DES AIRES CPG DES COMPOSÉS VOLATILS IDENTIFIÉS DANS LES EXTRAITS SPME DES JUS (A1), (A2), (B1) ET (B2) 183
TABLEAU 42. MOYENNE (N=3) DES CONCENTRATIONS DES COMPOSES D'ARÔME EN PPM DANS LES EXTRAITS LIQUIDE-LIQUIDE DES JUS (A1), (A2), (B1) ET (B2) 187
TABLEAU 43. COEFFICIENTS DE PARTAGE (K) +/- ÉCART-TYPE (N=3) DE PLUSIEURS COMPOSÉS D'ARÔME PAR LE TRAITEMENT LINÉAIRE MESURÉS À 45°C APRÈS 3H DE MISE À L'ÉQUILIBRE 190
TABLEAU 44. POURCENTAGE DE PARTICULES < 10 µM ET 100 µM POUR LES JUS À 12 % DE PULPE AVANT (A1) ET APRÈS (A2) PASTEURISATION, ET DANS LES JUS À 6 % DE PULPE AVANT (B1) ET APRÈS PASTEURISATION (B2) 192

Introduction

Introduction

Le jus d'orange est le plus consommé de tous les jus de fruit. 90 % des jus d'orange consommés en 2003 étaient des jus d'orange à base de concentré et 10 % des purs jus. Cependant, le consommateur souhaite de plus en plus des jus de haute qualité, qui ressemblent au niveau organoleptique au jus frais pressé chez soi, et qui lui garantissent une bonne qualité nutritionnelle. Ainsi, la consommation de pur jus d'orange est en augmentation par rapport au jus à base de concentré.

Les industriels de l'agro-alimentaire doivent répondre aux préoccupations et exigences des consommateurs. Pour cela, ils cherchent à améliorer la qualité de la matière première tout en utilisant un procédé et un conditionnement qui préservent cette qualité. Le rendu sensoriel est la résultante de ces différentes étapes, allant du procédé de fabrication jusqu'à l'évolution du produit au cours de son stockage. Des réseaux de recherche associant la Recherche Publique à des partenaires industriels ont été mis en place pour répondre à cette demande avec, en particulier, le programme CANAL « Conception Assistée de Nouveaux Aliments ». La thèse s'inscrit dans le projet CANAL-ARLE « Interactions Arômes Aliment Emballage » qui a pour but d'étudier la stabilité des arômes dans les matrices alimentaires conservées dans différents emballages, leur libération et perception en condition de mastication. La thèse fait partie du groupe de travail étudiant plus particulièrement le rôle joué par l'emballage dans la stabilité aromatique des aliments.

Le jus d'orange évolue d'un point de vue nutritionnel (vitamine C) et organoleptique (arômes et couleur) pendant sa conservation. Les conditionnements en polymère de synthèse remplacent de plus en plus le conditionnement verre. Le PET (polyéthylène téréphtalate) est un des matériaux les plus utilisés pour le conditionnement des eaux minérales et sodas. En effet, ce matériau présente des avantages en terme de légèreté, de coût et d'attractivité chez le consommateur grâce à sa transparence qui permet d'apprécier la couleur du produit. L'utilisation du PET pour l'emballage des jus d'orange est plus récente et son impact sur l'évolution du jus est encore mal connu. Contrairement au verre, le PET n'est pas un matériau inerte. D'une part, il présente une perméabilité aux gaz, en particulier à l'oxygène qui provoque une dégradation des marqueurs de qualité du jus. Des technologies de PET barrière

à l'oxygène se développent pour améliorer les performances de ce type d'emballage. Elles présentent un coût supplémentaire pour l'industriel et compliquent le recyclage des emballages. Leur utilisation doit donc être justifiée et prouver leur efficacité dans l'allongement de la DLUO du produit et ainsi sa qualité à l'instant de consommation. D'autre part, l'utilisation d'un matériau plastique entraîne des transferts entre l'aliment et l'emballage. Ces transferts peuvent s'accompagner d'une altération de l'équilibre aromatique et (ou) d'une perte d'intensité sensorielle. L'influence de la matrice alimentaire sur ces transferts en particulier a été montrée pour un contact avec des polyoléfines mais peu d'informations sont disponibles pour des matériaux vitreux comme le PET.
Le jus d'orange est un milieu multiphasique où les composés d'arôme se distribuent entre les différents phases, la pulpe et le sérum. L'existence d'interactions entre les composés d'arôme et les constituants non volatils, notamment la pulpe, pourrait jouer un rôle stabilisateur au cours des traitements thermiques, et donc une amélioration des propriétés organoleptiques du jus d'orange. De plus, une meilleure connaissance des transferts des composés d'arôme vers l'emballage et l'influence de la matrice (jus) sur ces transferts doit conduire à une formulation raisonnée du couple contenant-contenu. Ce travail de thèse propose donc une approche globale d'évaluation de la qualité d'un couple aliment (jus) / emballage (corps creux et bouchon).

La première partie de ce mémoire est une étude bibliographique présentant les procédés industriels de transformation des oranges puis les principales molécules volatiles et non volatiles caractéristiques de la qualité du jus et leurs évolutions pendant le stockage. La deuxième partie de l'étude bibliographique aborde l'état actuel des connaissances sur les transferts des composés d'arôme vers l'emballage et leur incidence sur la qualité du jus d'orange. Après une description des matériels et méthodes, les résultats et discussions sont présentés dans deux chapitres.

Le premier chapitre est un suivi des paramètres de qualité d'un jus d'orange à base de concentré pendant son stockage. Différentes technologies d'emballage bouteille et bouchon sont testées et comparées avec un emballage en verre. Les transferts de composés d'arômes vers l'emballage par sorption ou par perméation ainsi que la perméabilité à l'oxygène du matériau sont mesurés sur des temps longs de conservation de plusieurs mois. Un bilan des pertes aromatiques dans le produit est réalisé tenant compte de la matrice jus et des transferts entre le jus et l'emballage.

Les travaux menés dans le deuxième chapitre ont pour objectif d'améliorer la qualité aromatique du produit en tenant compte de la matière première (matrice jus et arômes). Le rôle de la pulpe et du procédé de fabrication sur la rétention des composés d'arôme sont également abordés d'un point de vue physico-chimique par la détermination des coefficients de partage et d'un point de vue sensoriel par une étude olfactométrique.

Travaux bibliographiques

Travaux Bibliographiques

1. Le jus d'orange

1.1 De l'orange au jus d'orange

1.1.1 Généralités sur l'orange

1.1.1.a Structure du fruit

L'orange est un agrume qui peut aussi être appelé hesperidium. L'hesperidium diffère de fruits comme la tomate ou le raisin car il possède une peau dure et solide qui protège la partie comestible du fruit (Davies et Albrigo, 1994). La structure d'une orange est présentée dans la Figure 1. Les parties caractéristiques communes aux agrumes sont les suivantes :

- une couche extérieure colorée, le flavedo, rappelant le mot « flaveur » car elle contient les glandes à huiles essentielles,
- une couche intérieure blanche et spongieuse, l'albedo (ou mésocarpe), riche en pectines,
- une partie comestible, l'endocarpe ou épiderme interne. Dans le cas des oranges, les cellules très juteuses formant des sacs à jus ou encore vésicules à jus sont des poils produits par l'endocarpe. Les segments (ou quartiers) qui comprennent de nombreuses vésicules sont séparés par des parois carpellaires ou membranes constituées de cellulose, pectine et hémicelluloses. Les segments sont attachés à la partie centrale du fruit appelée columelle.

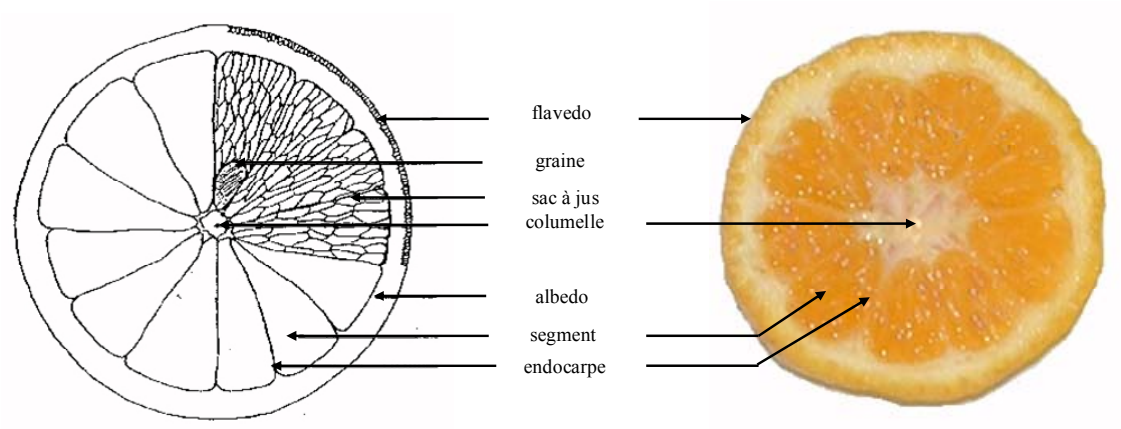


Figure 1. Coupe équatoriale d'une orange (d'après Huet, 1991)

1.1.1.b Les espèces et les principales variétés

L'orange fait partie du genre *Citrus* de la famille des *Rutaceae*. Le genre *Citrus* contient deux espèces d'orange. La première, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, correspond aux oranges douces, la deuxième, *Citrus aurantium* L., aux oranges amères. Ces dernières sont également appelées bigarades, elles sont peu comestibles et leur utilisation est principalement réservée à la production de marmelades ou d'huiles essentielles. (Kimball, 1999).

Les oranges douces *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sont les plus consommées. Elles sont utilisées « en fruits » et certaines variétés servent à l'élaboration des jus (Saunt, 1990). Parmi cette espèce, trois catégories principales sont communément dénombrées :

- **les oranges navels**, caractérisées par une excroissance « ombilic » ou « navel » en anglais dans leur partie inférieure et une quasi absence de pépins. Ces oranges sont les plus consommées en fruits de bouche. D'après Saunt (1990), elles sont moins juteuses que la plupart des autres variétés et elles développent une certaine amertume lors du pressage ce qui peut les rendre impropres à une production de jus.
- **les oranges blondes**, dont la principale variété est la Valencia, première variété commerciale de tous les types d'agrumes. Celle-ci peut être rencontrée dans toutes les zones principales de production d'oranges (Kimball, 1999). Les oranges blondes développent beaucoup moins d'amertume que les oranges navels lors de leur pressage. Elles sont donc principalement transformées en jus.
- **les oranges sanguines**, caractérisées par leur chair colorée due à des pigments rouges, des anthocyanes. Ceux-ci sont sensibles aux techniques d'extraction des jus et au stockage du jus, et leur dégradation peut donner une couleur brune indésirable au produit.

Une dernière catégorie, mineure, peut également être décrite, il s'agit des oranges faiblement acides, encore appelées **oranges douceâtres**. Ces oranges sont consommées en fruits de bouche. Les principales variétés des catégories navels, blondes, sanguines et douceâtres, lieux de production et utilisation principale sont présentées dans le Tableau 1.

Les variétés les plus importantes utilisées pour la fabrication de jus sont Hamlin, Pineapple, Valencia et Pera. Ces oranges appartiennent à la catégorie des oranges blondes. Fellers (1985) a classé les diverses variétés d'oranges en ordre décroissant selon des critères sensoriels. Les oranges Valencia sont classées premières (donc présentées comme produisant le meilleur jus), suivies des oranges brésiliennes Pera puis des oranges Pineapple et Hamlin. Néanmoins, la

qualité du jus d'orange dépendra également d'un grand nombre d'autres facteurs comme le climat, les conditions de culture, le processus de maturation des fruits et le procédé de fabrication du jus.

Tableau 1. Principales variétés d'oranges de l'espèce *Citrus Sinensis* (L.) Osbeck : lieux de production et utilisation courante (d'après Saunt, 1990)

Oranges *Citrus Sinensis* (L.) Osbeck			
Catégorie	Variété	Lieu de production	Utilisation principale
Navels	Bahianinha	Brésil	Fruits de bouche
	Navelate	Espagne, Maroc, Afrique du Sud	
	Naveline	Espagne, Portugal, Maroc	
	Washington ou Bahia	Brésil, Californie, Floride, Mexique, Région Méditerranéenne	
Blondes	**Valencia**	Espagne, Argentine, Australie, Californie, Floride, Maroc, Afrique du Sud, Uruguay, Brésil, Israël	**Jus**
	Pera	Brésil	**Jus**
	Pineapple	Floride, Argentine, Brésil, Mexique, Inde	**Jus**
	Hamlin	Brésil, Floride, Maroc, Turquie, Chine	**Jus** et Fruits de bouche
	Shamouti	Israël, Turquie, Afrique du Sud, Egypte, Chine, Inde	Fruits de bouche
Sanguines	Maltaise	Tunisie, Maroc	Fruits de bouche
	Moro	Italie, Sicile	Jus
	Sanguinelli	Espagne	Fruits de bouche
Douceâtres	Succari	Egypte	Fruits de bouche
	Lima	Brésil	

1.1.2 Production d'oranges et oranges transformées

1.1.2.a Production mondiale d'oranges

En 2002, les agrumes occupaient la première place des productions fruitières dans le monde avec plus de 97 millions de tonnes produites (FAO, 2003). A elles seules, les oranges représentent 66 % de la production totale en agrumes. Entre 1980 et 2002, la quantité d'oranges produites a été multipliée par plus de 1,5 (Tableau 2). Les pays qui ont connus la plus forte augmentation sont la Chine, l'Iran et le Mexique. Le premier producteur mondial demeure le Brésil qui représente près de 30 % de la production mondiale, suivi des Etats-Unis (17 %).

Tableau 2. Production mondiale d'oranges (en milliers de tonnes) (d'après FAO, 2003)

	Moyenne des années 1980/81 et 1988/89	Moyenne des années 1990/91 et 1998/99	2001/02
MONDE	**39109**	**54337**	**64026**
Hémisphère Nord[a]	**23783**	**33626**	**40185**
Etats-Unis[b]	6754	9104	10686
Région méditerranéenne	8959	10485	11280
Grèce	661	918	1077
Italie	1929	1980	1829
Espagne	1885	2659	2924
Maroc	774	902	726
Egypte	1159	1549	1985
Turquie	689	832	1250
Autres	1861	1645	1490
Mexique	1602	3109	4020
Iran	668	1606	1880
Chine	410	1792	3672
Inde	1326	2201	2890
Pakistan	928	1288	1400
Autres	3136	4041	4358
Hémisphère Sud[c]	**15326**	**20711**	**23842**
Afrique du Sud	565	824	1263
Argentine	628	734	780
Brésil	10837	15712	18360
Autres	3296	3442	3439

[a]La campagne s'étend d'octobre/novembre à mai/juin. [b]Non comprise la production californienne d'oranges Valencia, qui est comptabilisée avec la production de la campagne d'été (hémisphère sud). [c] La campagne s'étend d'avril/mai à novembre/décembre

1.1.2.b Part de la production destinée à la transformation

Le Tableau 3 précise les quantités destinées à la transformation. En 2002, le volume mondial d'oranges transformées correspond à plus de 40 % de la production mondiale d'oranges. Cette part d'oranges transformées a peu évolué au cours des vingt dernières années. Des disparités géographiques notables existent entre des pays essentiellement transformateurs comme le Brésil et les Etats-Unis (73 et 87 % des oranges produites sont transformées) et une région comme la Méditerranée peu transformatrice (16 % des oranges produites) en 2001/02.

Tableau 3. Production mondiale d'oranges destinées à la transformation (en milliers de tonnes) (d'après FAO, 2003).

	Moyenne des années 1980/81 et 1988/89	Moyenne des années 1990/91 et 1998/99	2001/02
MONDE	**15729**	**22402**	**26027**
Hémisphère Nord[a]	**7558**	**10560**	**11774**
Etats-Unis[b]	5757	7956	9316
Région méditerranéenne	1439	1892	1805
Grèce	109	219	320
Italie	526	630	691
Espagne	156	481	485
Maroc	128	84	17
Egypte	7	146	96
Turquie	84	60	76
Autres	429	272	120
Mexique	265	424	340
Chine	0	108	23
Autres	97	180	290
Hémisphère Sud[c]	**8171**	**11842**	**14253**
Afrique du Sud	143	196	313
Argentine	147	166	160
Brésil	7610	11169	13423
Autres	271	311	357

[a]La campagne s'étend d'octobre/novembre à mai/juin. [b]Non comprise la production californienne d'oranges Valencia, qui est comptabilisée avec la production de la campagne d'été (hémisphère sud). [c] La campagne s'étend d'avril/mai à novembre/décembre

1.1.3 Les différentes appellations de jus d'orange

1.1.3.a La réglementation européenne des jus de fruits

Dans le dernier décret français nº 2003-838 du 1er septembre 2003 qui reprend la directive européenne2001/112/CE, les différentes appellations réglementées de jus de fruits sont :

- le « **jus de fruits** » : « produit fermentescible mais non fermenté, obtenu à partir de fruits sains et mûrs, frais ou conservés par le froid, d'une espèce ou de plusieurs espèces en mélange, possédant la couleur, l'arôme et le goût caractéristiques du jus des fruits dont il provient. Les arômes des fruits, les pulpes et les cellules (vésicules renfermant le jus) provenant du jus et séparés pendant la transformation peuvent être restitués. Dans le cas des agrumes, le jus de fruits doit provenir de l'endocarpe […] conformément aux bonnes pratiques de fabrication»,
- le « **jus de fruits obtenu à partir d'un concentré** » : « produit obtenu en remettant dans le jus de fruits concentré l'eau extraite du jus lors de la concentration, ainsi qu'en restituant les arômes et le cas échéant, les pulpes et les cellules que le jus a perdus mais qui ont été récupérés lors du processus de production du jus de fruits dont il s'agit ou de jus de fruits de même espèce.»,
- le « **jus de fruits concentré** » : « produit obtenu à partir d'une ou plusieurs espèces par l'élimination physique d'une partie déterminée de l'eau de constitution. Lorsque le produit est destiné à la consommation directe, cette élimination est d'au moins 50 % »,
- le « **jus de fruits déshydraté/en poudre** » : « produit obtenu à partir d'une ou plusieurs espèces par l'élimination physique de la quasi-totalité de l'eau de constitution »,
- le « **nectar de fruits** » : le produit fermentescible mais non fermenté obtenu en ajoutant de l'eau et des sucres et/ou du miel aux produits définis précédemment, à de la purée de fruits ou à un mélange de ces produits».

Le texte complet du décret français nº 2003-838 est donné en annexe 1. Les ingrédients autorisés (dont le sucre) sont également précisés.

1.1.3.b Les dénominations courantes de jus d'orange en France

La réglementation européenne appliquée depuis le 12 juillet 2004 ne définit pas une catégorie de « pur jus de fruits ». Cette appellation apparaissait cependant dans l'ancienne réglementation (directive européenne 93/77 et décret français 78-1109 de novembre 1978) et précisait alors qu'aucune addition n'était autorisée dans ce type de jus. Aujourd'hui encore, en

France, les étiquetages comportent des mentions « pur jus » (ou « 100 % pur jus ») alors que la réglementation en vigueur ne reconnaît que l'appellation « jus ». L'appellation « pur jus » est en effet toujours utilisée car elle est synonyme de qualité pour le consommateur. Les dénominations courantes et leurs principales caractéristiques comme l'ajout d'additifs ou la durée de vie du produit sont présentées dans le Tableau 4. La composition légale d'un jus d'orange toujours en vigueur selon la norme française V76-005 de 1995 est donnée en annexe 2.

Tableau 4. Dénominations de jus de fruits en France et principales caractéristiques (http://www.jusdefruits.org/juice/site/fo/unijus/memo.html#)

Dénomination		Teneur en fruits	Autres ingrédients	Pasteurisation	Durée de vie
Pur Jus ou 100 % Pur jus	frais	100 %	Non	non	1 semaine
	réfrigéré	100 %	Non	oui	4 à 5 semaines
	ambiant	100 %	Non	oui	12 mois
Jus de fruits à base de jus concentré	réfrigéré	100 %	eau de reconstitution : oui sucre : rarement utilisé, autorisé avec mention obligatoire	oui	4 à 5 semaines
	ambiant	100 %	eau de reconstitution : oui sucre : rarement utilisé, autorisé avec mention obligatoire	oui	jusqu'à 12 mois
Nectar	réfrigéré	25 à 50 % mini	eau : oui sucre : autorisé avec mention obligatoire	oui	3 à 4 semaines
	ambiant	25 à 50 % mini	eau : oui sucre : autorisé avec mention obligatoire	oui	12 mois

L'offre des jus et boissons de fruits est donc diversifiée et elle a conduit les industriels à élaborer sur un même site des produits qui répondent à des attentes de consommation variées.

1.1.3.c Le marché du pur jus et du jus à base de concentré

Concernant les exportations d'oranges transformées en vrac en 2000, 90 % des exports se font sous la forme de concentré et seulement 10 % en pur jus d'orange. L'Europe est le plus gros importateur de concentré (80 % des imports) et la France le premier pays européen. Pour le pur jus, le Canada importe la plus grande quantité (60 % des imports). En Amérique du Nord, on assiste à une stabilisation de la demande du jus d'orange à base de concentré et à une

augmentation constante de la demande de pur jus avec des quantités importées dix fois plus importantes en 1999 par rapport à 1981 (FAO, 2003). En France, une chute de la consommation de jus à base de concentré et nectars est observée. Les jus à base de concentré et nectars ont respectivement diminué de 6 % et 8 % entre 2004 et 2005 (données www.rayon-boissons.com). Le jus à base de concentré subit de nombreuses étapes de transformation qui peuvent engendrer une baisse de la qualité et augmenter les différences avec un pur jus frais. Les industriels doivent répondre aux exigences de qualité des consommateurs et maîtriser de mieux en mieux leur procédé de fabrication et de conservation pour assurer une qualité optimale.

1.1.4 Procédé de fabrication du pur jus d'orange

L'industrie du jus d'orange comporte un grand nombre d'opérations qui peuvent se regrouper en trois filières : la production agricole, l'industrie d'extraction et de conditionnement et la filière de stockage, transport et commercialisation du jus conditionné. La Figure 2 présente les différentes étapes de fabrication d'un pur jus d'orange et d'un concentré à partir de l'étape d'extraction du jus. Les paragraphes suivants donnent les caractéristiques générales de chacune de ces étapes.

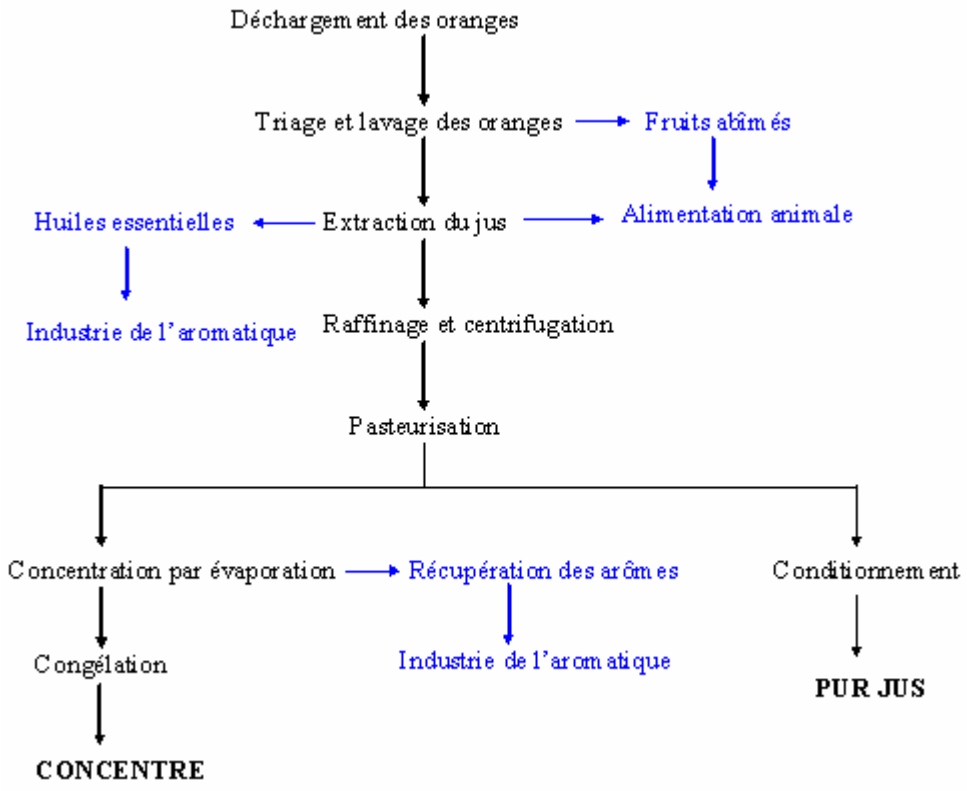


Figure 2. Procédé de fabrication du pur jus d'orange et du concentré d'orange (en bleu : valorisation de sous-produits)

1.1.4.a Extraction du jus

Les oranges arrivent dans les usines de transformation dans des camions bennes : elles sont soit utilisées immédiatement soit déchargées dans des silos et stockées. Au moment de leur utilisation, après un passage sous des rampes d'aspersion d'eau, les oranges sont triées, le plus souvent manuellement, et les fruits abîmés sont écartés. Deux technologies d'extraction de jus adaptées sont le plus souvent utilisées : l'extracteur Brown (Automatic Machinery and Electronics Co) et le procédé FMC (Food Machinery Corporation).

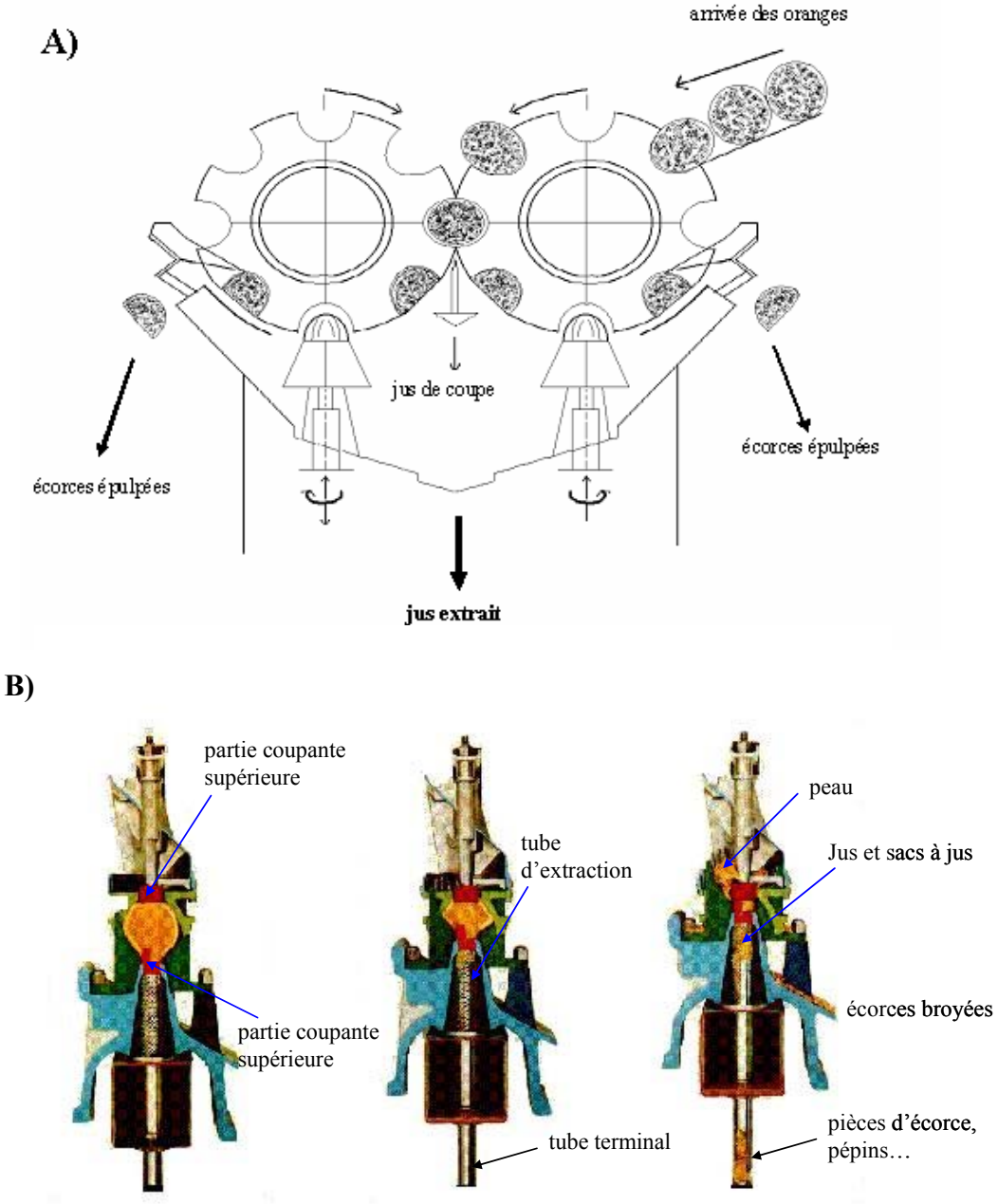


Figure 3. Schéma des extracteurs Brown (A) et FMC (B)

Dans le procédé Brown, les oranges sont coupées en deux puis pressées à l'aide de deux demi-sphères perforées, l'une concave et l'autre convexe (Figure 3, A). L'extracteur Brown effectue un « fraisage » de chaque partie du fruit. La vitesse de déplacement des têtes d'extraction et la pression qu'elles exercent sont contrôlées de façon à s'adapter à l'épaisseur de l'écorce (Baron, 2002).

Dans le procédé FMC, dont les premières lignes d'extractions ont été implantées dans les années 1950, en début de cycle, une coupelle supérieure descend et pousse le fruit sur le couteau circulaire inférieur (Figure 3, B). Les coupelles maintiennent le fruit. Les constituants intérieurs du fruit sont aspirés dans le tube tamis par le mouvement descendant du piston. Pour optimiser le rendement, la taille de la tête doit être adaptée au calibre des fruits. Albedo et flavedo sont dilacérés et évacués au travers de griffes dans la coupelle inférieure. Un piston remonte et presse la pulpe, le jus s'écoule au travers du tamis et est recueilli par le collecteur. Les particules trop grosses (pépins, fragments d'albedo) sont éliminées par le centre, creux, du piston (Baron, 2002).

Le procédé FMC est le procédé le plus utilisé : son intérêt majeur est qu'il permet la récupération des huiles essentielles pendant le procédé d'extraction du jus et donc leurs valorisations. Néanmoins, le coût d'achat d'un extracteur FMC reste bien supérieur à celui d'un extracteur Brown.

La pression exercée par chacun des procédés dépend de la taille du fruit, et les extracteurs sont réglés pour exercer des pressions appropriées sur des oranges préalablement triées en fonction de leur calibre.

1.1.4.b Raffinage et centrifugation

Le jus d'orange, après extraction, est très pulpeux et contient des morceaux de pépins et autres impuretés. Il passe alors par une étape de raffinage, appelée en anglais « finishing ». Ce terme désigne la séparation physique d'une partie de la pulpe et d'autres matériels fibreux du jus. Les « finishers » ou modules de finitions vont tamiser ce jus pulpeux et séparer les pulpes grossières et éléments non désirables. Fellers *et al.* (1975) ont montré que l'élimination de ces pulpes grossières, contrairement à l'étape d'extraction n'avait pas d'influence sur la flaveur des jus d'orange. Le jus peut alors ensuite être centrifugé pour affiner une teneur en pulpes fines entre 6 et 12 %, ce qui permet d'obtenir un jus dont la viscosité répond aux attentes des consommateurs (Braddock, 1999).

Enfin, avant le traitement thermique, le jus est chauffé à 50ºC dans des échangeurs de chaleur tubulaires puis soumis à un procédé de désaération dans des tanks sous vide. Cette opération présente l'intérêt pour l'industriel d'éviter la formation de mousse et d'éviter l'oxydation du produit. Le jus une fois dégazé ne doit pas être stocké plus d'une heure avant l'étape suivante de pasteurisation.

1.1.4.c Pasteurisation

Une étape indispensable de stabilisation microbiologique a lieu sur le lieu de production, celle-ci doit se faire très rapidement après l'extraction. Excepté pour une petite quantité de jus consommé frais (pas de traitement thermique), la pasteurisation est le traitement thermique qui est le plus utilisé pour la conservation des jus de fruits. Cette pasteurisation vise à tuer les micro-organismes, et à inactiver les enzymes (comme la pectine méthylestérase (PME) ou la polyphénoloxydase) pouvant altérer le produit ou le rendre impropre à la consommation humaine (Chen *et al*., 1993). Elle est effectuée selon un barème temps-température qui peut varier mais qui généralement dure de 30 à 60 secondes. Pour le pur jus, la température est rapidement portée à 90-96ºC dans des échangeurs de chaleur tubulaires puis elle descend en une trentaine de secondes jusqu'à une température de quelques degrés, c'est la « flash pasteurisation ».

En particulier, la température atteinte doit permettre d'inactiver la PME, enzyme connue pour provoquer la déméthylation des pectines du trouble, qui précipitent et entraînent une chute du trouble dans les jus. Dans le jus, la PME étant associée à la pulpe, l'activité de la PME va dépendre du taux de pulpe, mais aussi d'autres facteurs comme la maturité (Snir *et al*., 1996). Certaines formes de PME des agrumes sont cependant thermo résistantes et présentent encore une activité après pasteurisation. Cameron *et al.* (1994) ont mesuré qu'une forme de PME thermorésistante présentait encore 29 % d'activité dans ces cellules d'agrumes traités à 95°C pendant 30s. Lee *et al*. (2003) ont ainsi proposé un modèle pour prédire l'activité résiduelle de l'enzyme en fonction des différents traitements temps-température appliqués.

Le traitement par la chaleur permet de réduire la population microbienne. La notion de valeur pasteurisatrice peut être utilisée pour quantifier l'effet de destruction du barème thermique appliqué sur un micro-organisme de référence. Ainsi, pour une pasteurisation isotherme, le calcul de la valeur pasteurisatrice (VP) est donnée par la relation :

$VP = t \times 10^{(\theta - \theta réf)/z}$

Où t = durée de la pasteurisation

θ = température appliquée en ºC

θréf = température de référence en ºC. Pour la pasteurisation, θréf = 70ºC.

z = élévation de température nécessaire pour réduire D au dixième de sa valeur

D = temps nécessaire pour réduire une population microbiologique au dixième de sa valeur à la température θ.

Pour la pasteurisation, généralement z = 7 ou z = 10ºC.

La VP présente l'avantage d'être indépendante de l'état du produit et de son niveau de contamination et elle caractérise exclusivement le barême temps/température appliqué par rapport à une température de référence. Si l'on traite des matières premières d'état sanitaire et de qualité siffisamment stables, la connaissance de la valeur minimale de VP permettra de fixer le durée du traitement à appliquer pour une température fixée.

Dans l'industrie cependant, il n'existe pas de traitement thermique qui permette de maintenir un produit un temps t à une température θ, après et avant lequel cette température serait si basse qu'elle serait sans effet sur les micro-organismes. Ainsi, la température croît pendant la phase de chauffage puis décroît au cours du refroidissement. Dans ce cas, la VP est définie à partir de l'évolution constatée de la température $\theta(t)$ par la formule :

$VP = \int[10^{(\theta(t) - \theta réf)/z}]dt$ évaluée par $\sum i\ [10^{(\theta i - \theta réf)}]\Delta ti$ où les θi sont les températures relevées à des intervalles de temps Δti dans le produit (Trystram *et al.*, 2002)

Le calcul des valeurs pasteurisatrices permet de comparer des procédés et d'expliquer les phénomènes observés pour mieux compléter l'information donnée par les couples temps/température du traitement. De plus, le calcul de la VP d'un barème temps/température peut permettre de trouver un compromis entre une efficacité microbiologique et un maitien de la qualité du produit.

1.1.4.d Transport

Le pur jus pasteurisé peut être conditionné sur le site de production juste après le traitement thermique, comme cela se pratique beaucoup en Espagne. Il peut également être entreposé jusqu'à 12 mois dans des réservoirs aseptiques munis d'un système de réfrigération ou encore transporté après fabrication en camions citerne (réfrigérés ou non) vers les usines de conditionnement.

1.1.5 Procédé de fabrication du jus à base de concentré

1.1.5.a Pasteurisation après extraction et raffinage

Pour la fabrication du concentré, le jus est extrait comme décrit dans les paragraphes 1.1.4.a et 1.1.4.b. La pasteurisation est ensuite également le plus souvent une flash-pasteurisation (environ 95ºC pendant une trentaine de secondes) puis la descente de température est plus longue que pour le pur jus, de l'ordre de 10 minutes et le jus n'est pas complètement refroidi, il reste chaud jusqu'à l'étape suivante de concentration.

1.1.5.b Concentration et congélation

La concentration et la congélation du concentré ont lieu sur les sites de production (Brésil, Etats-Unis) après l'étape de pasteurisation. L'opération de concentration consiste à éliminer environ 80 % de l'eau contenue dans le jus, en altérant le moins possible les pulpes ainsi que les composés d'arôme. Le procédé le plus couramment utilisé est la concentration par les effets combinés de la chaleur et du vide (évaporation) dans des échangeurs thermiques qui séparent les vapeurs formées du produit liquide concentré. Cette technologie d'évaporateurs est connue sous le nom de TASTE (Thermally Accelerated Short Time Evaporator) D'autres procédés sont également décrits comme la cryoconcentration (concentration par le froid) et l'osmose inverse. L'osmose inverse est un procédé de séparation en phase liquide par perméation à travers des membranes semi-sélectives sous l'effet d'un gradient de pression. Ces procédés sont connus pour être plus respectueux de la qualité du jus mais ils restent 2 à 3 fois plus coûteux (Fox, 2000).

Les arômes étant très volatils, ils sont rapidement entraînés avec l'eau d'évaporation. Cet effet d'entraînement à la vapeur provoque un appauvrissement très net de la solution concentrée en composés d'arôme. Pour pallier ce problème, les concentrateurs sont équipés de récupérateurs d'arômes : les composés d'arôme du jus extraits avec la vapeur sont séparés par distillation et concentrés. Les extraits, une phase aromatique aqueuse et une phase aromatique huileuse, sont vendus aux industriels de l'aromatique qui les revendront aux conditionneurs après transformation. Ces derniers les réincorporeront lors de la fabrication du jus à base de concentré. La phase aqueuse contient les composés d'arôme les plus volatils, responsables des notes de tête dans le jus, des aldéhydes de faible poids moléculaire et des alcools. La phase huileuse contient les composés les plus hydrophobes, comme les terpènes, les alcools terpéniques, les aldéhydes et les esters.

Les concentrés de jus d'orange obtenus sont d'abord refroidis rapidement jusqu'à 0°C, puis congelés dans des échangeurs de chaleur; la masse pâteuse obtenue est refroidie à -40°C, puis entreposée à une température ne dépassant pas -18°C.

La plupart des concentrés congelés de jus d'orange ainsi obtenus ont des degrés Brix de 65 à 66,5°, le jus de départ ayant un Brix d'environ 11-12º. Le degré Brix exprime la quantité de sucres : 1 degré Brix est défini par une teneur de 1 g de saccharose dans 100 g d'eau (% massique). Le degré Brix est mesuré par réfractométrie. La déviation de l'angle lumineux est rapportée à la teneur en éléments solubles présents dans le milieu (sucres, acides organiques, alcools…). Les sucres étant très majoritaires dans les oranges, l'indice réfractométrique est converti par approximation à la teneur en sucres dans le milieu.

1.1.5.c Transport du concentré congelé

Le concentré congelé peut être transporté en vrac dans des camions citernes vers des entreprises de conditionnement. Il peut également être dédié à l'export, les camions citernes déchargent dans ce cas le concentré dans des réservoirs localisés dans des ports d'échanges commerciaux. Le concentré est ensuite chargé dans des bateaux et traverse les océans, comme par exemple du Brésil vers l'Europe. En Europe, un nouvel acheminement du concentré jusqu'à l'entreprise de conditionnement est effectué avec des camions citerne. Le concentré peut aussi être stocké dans des fûts métalliques contenant une poche plastique de polyéthylène.

1.1.6 Conditionnement

1.1.6.a Pur jus d'orange

Du fait des nombreuses étapes de transport, les usines de conditionnement effectuent une nouvelle étape de pasteurisation du jus avant le conditionnement. Deux types de pur jus peuvent donc être distingués, les jus ayant été conditionnés sur place et qui n'ont subi qu'une étape de pasteurisation et les jus conditionnés sur un autre site qui subissent deux traitements de pasteurisation.

Les deux procédés de conditionnement aujourd'hui utilisés chez le conditionneur après la flash-pasteurisation sont :

- le remplissage à chaud,
- le remplissage aseptique à froid.

Lors du remplissage à chaud, après la flash-pasteurisation le jus est refroidi jusqu'à 82-85ºC. Il est introduit immédiatement à cette température dans les récipients, ceux-ci sont aussitôt fermés, retournés ou agités de sorte que le liquide chaud vienne au contact de toute la surface intérieure du récipient et l'aseptise. Le remplissage aseptique à froid est une autre technique

de remplissage qui consiste à refroidir le jus jusqu'à température ambiante (17-22ºC) après la flash-pasteurisation et à remplir et fermer les récipients en conditions aseptiques. L'opération dure entre 20 et 30 minutes entre le remplissage et le refroidissement. Les bouteilles ont au préalable été décontaminées par lavage avec une solution de peroxyde d'hydrogène ou d'acide péracétique puis rinçage à l'eau. Cette étape de nettoyage et de remplissage aseptique est détaillée dans la partie bibliographique sur l'emballage.

1.1.6.b Jus à base de concentré

Le concentré est transporté vers un autre site avec des camions non aseptiques. Chez le conditionneur, une nouvelle pasteurisation est donc indispensable pour éliminer tout risque microbiologique. Cette pasteurisation a lieu après ré-aromatisation avec une phase huileuse et une phase aqueuse. La phase huileuse est réincorporée dans le concentré qui est ensuite dilué avec de l'eau pour revenir à un degré Brix de 11-12. Une phase aqueuse est alors ajoutée, le jus est dégazé puis pasteurisé pendant environ 30 s vers 95ºC dans le cas d'une flash-pasteurisation.

Les deux procédés de conditionnement aujourd'hui utilisés chez le conditionneur après la flash-pasteurisation sont, comme pour le pur jus, soit le remplissage à chaud soit le remplissage aseptique à froid.

Ainsi, les procédés d'élaboration des jus de fruits qui viennent d'être décrits montrent que les fruits subissent un premier traitement thermique pour passer du stade « fruits » au stade « jus de fruits ». Ensuite, ces jus doivent subir d'autres traitements pour permettre leur conservation et leur conditionnement et garantir leur qualité microbiologique jusqu'à l'instant de consommation. Ceci est particulièrement le cas pour le jus à base de concentré. Ces traitements multiples vont affecter la qualité du jus d'orange, qui va ensuite être conservé plusieurs mois. Les paragraphes suivants décrivent les principaux constituants non volatils et volatils d'intérêt nutritionnel et organoleptique, en prenant en compte l'effet du procédé et du stockage sur leurs évolutions dans le jus.

1.2 Les constituants non volatils du jus d'orange

1.2.1 Composition chimique du jus d'orange

Le Tableau 5 représente la composition chimique moyenne d'un jus d'orange.

Tableau 5. Quantité pour 100 g de jus des principaux constituants du jus d'orange

Constituant (unité)	Quantité pour 100 g de jus	Référence
Eau (g)	87-92	
Glucides (g)	9,2-9,5	Farnworth *et al.*, 2001
Protéines (g)	0,109	Brat *et al.*, 2003
Lipides (g)	0,189	Brat *et al.*, 2003
Flavonoïdes (mg)		
Caroténoïdes (mg)	0,2-3,5	Mouly *et al.*, 1999
Acide ascorbique (mg)	44,5-68,8	Park *et al.*, 1983
Acides organiques		
Acide malique (mg)	937-966	Farnworth *et al.*, 2001
Acide citrique (mg)	160-164	Farnworth et al., 2001

Le jus d'orange est une source importante de composés caractérisés par une activité anti-oxydante et reconnus comme bénéfiques pour la santé humaine. Il contient des teneurs élevées en caroténoïdes comme le β-carotène (précurseur de la vitamine A), en acide ascorbique et en flavonoïdes. Gardner *et al*. (2000) ont mesuré la contribution de ces différents composés à l'activité antioxydante globale du jus. L'acide ascorbique représentait entre 65 et 100 % de l'activité anti-oxydante globale. Ce résultat a été confirmé par Gil-Izquierdo *et al*. (2002) qui ont montré que 77 à 96 % de l'activité anti-oxydante globale était due à la vitamine C et par Sanchez-Moreno *et al.* (2003) avec un pourcentage de 99 %. La vitamine C est donc un marqueur important de la qualité nutritionnelle du jus. Sa stabilité va dépendre du procédé et du stockage ainsi que de l'influence des autres constituants présents dans le jus.

1.2.2 La vitamine C, réactivité dans le jus d'orange et lien avec le brunissement non-enzymatique

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble dont seule la forme lévogyre ou acide L-ascorbique est active. La vitamine C naturelle est d'ailleurs sous la forme

lévogyre alors que la vitamine C artificielle est constituée de 50 % de L-ascorbate (lévogyre) et 50 % de D-ascorbate (dextrogyre). La dégradation de la vitamine C dans le jus d'orange provoque une perte de qualité nutritionnelle mais aussi l'apparition de composés volatils odorants à impact négatif et la formation de composés bruns responsables d'une modification de couleur (Figure 5). Lors de son évolution dans le jus, la vitamine C peut donner naissance à différentes formes de réductones qui ont la structure chimique suivante :

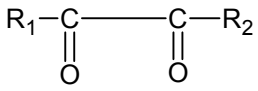


Figure 4. Structure chimique d'une réductone

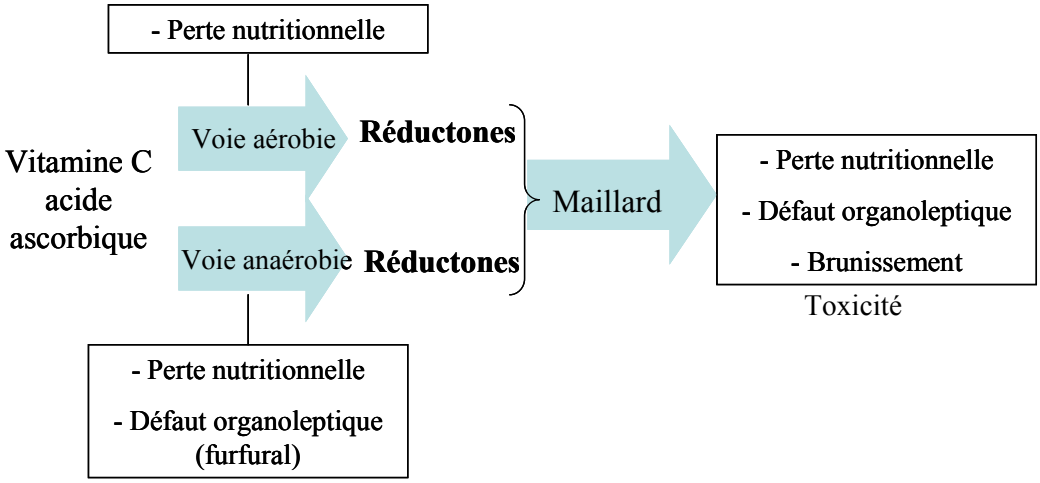


Figure 5. Voies de dégradation de la vitamine C et effets sur la qualité du jus d'orange

Il existe ainsi deux voies de dégradation de la vitamine C : la voie aérobie et la voie anaérobie qui conduisent à l'apparition de réductones, qui sont des intermédiaires dans la réaction de Maillard et participent à la formation du brunissement non-enzymatique.

1.2.2.a <u>Voie de dégradation aérobie</u>

L'acide ascorbique par oxydation donne naissance à l'acide déhydroascorbique (Figure 6), qui a la même activité biologique que l'acide ascorbique. Cette oxydation est réversible mais dans les aliments, l'acide déhydroascorbique subit le plus souvent une hydrolyse irréversible qui conduit à la formation de l'acide 2,3-dicétogulonique. Ce dernier, en solution aqueuse, après

décarboxylation, peut donner la 3-hydroxy-2-pyrone et l'acide 2-furoïque (Yuan et Chen, 1998). L'acide 2-furoïque est pratiquement sans odeur (Arctander, 1969).

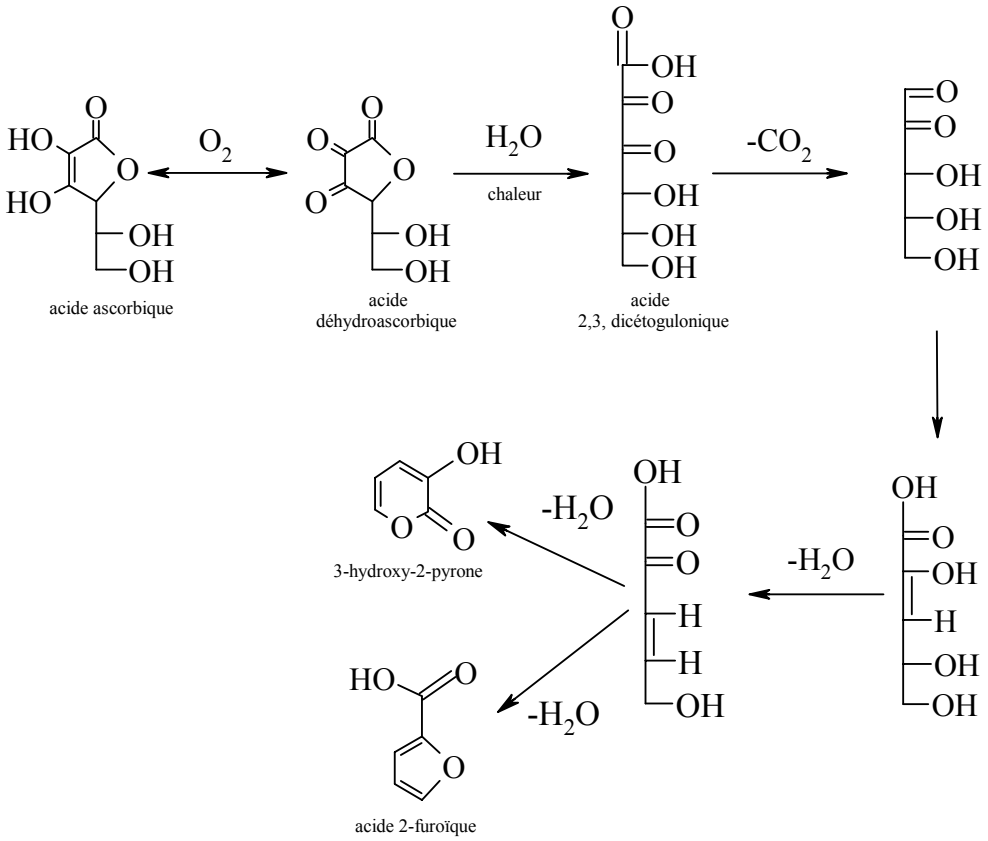


Figure 6. Voie de dégradation aérobie de la vitamine C en solution aqueuse, d'après Yuan et Chen (1998)

1.2.2.b Voie de dégradation anaérobie

L'acide ascorbique peut aussi se dégrader en absence d'oxygène (Figure 7). En milieu acide et à chaud, l'acide ascorbique subit une déshydratation et une décarboxylation qui conduisent à la formation de produits intermédiaires, de gaz carbonique et de furfural (Huelin *et al*., 1971). Cette dégradation anaérobie a été observée dans les jus d'orange au cours de leur stockage. Dans le cas où le jus d'orange contient encore de l'oxygène dissous, une dégradation rapide de l'acide ascorbique par l'oxygène est observée suivie d'une dégradation plus lente et anaérobie (Kennedy *et al*., 1992). La voie anaérobie conduit, de la même manière que la voie aérobie, à la formation de produits intermédiaires qui peuvent être des réductones. Des composés volatils sont formés dont le furfural, qui est caractérisé par des descripteurs piquant, bonbon, pain, caramel, cannelle-amande (Arctander, 1969).

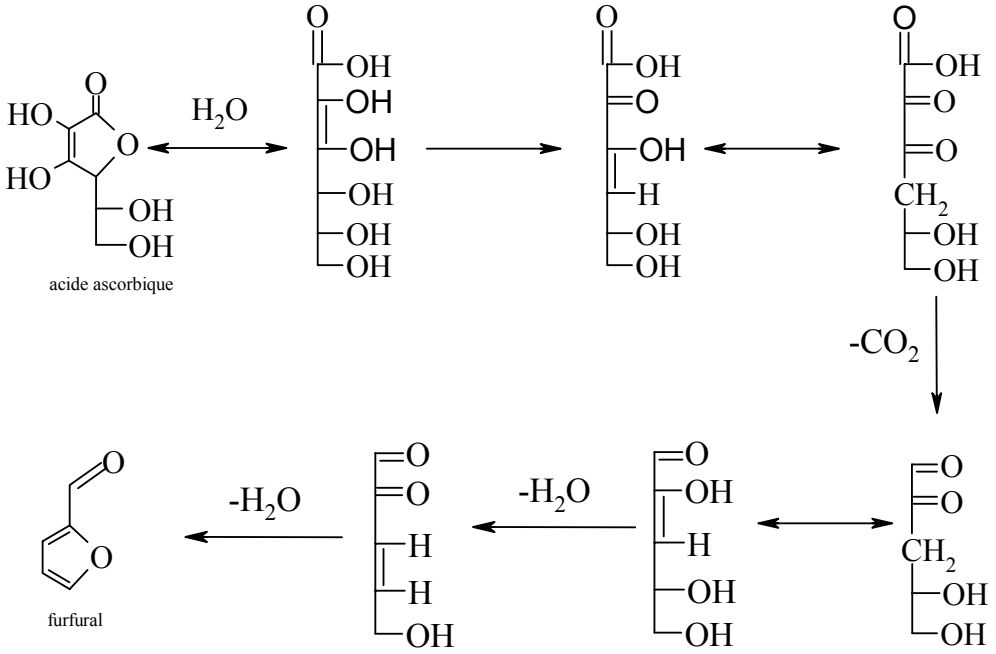


Figure 7. Voie de dégradation anaérobie de la vitamine C en solution aqueuse, d'après Yuan et Chen, 1998

1.2.2.c <u>Modifications de couleur du jus : brunissement non-enzymatique</u>

Les réductones formées par les voies de dégradation aérobie et anaérobie de la vitamine C peuvent participer au brunissement non-enzymatique généralement attribué à des réactions de Maillard. Les réactions de Maillard au sens propre sont des réactions de condensation du groupe carbonyle des sucres réducteurs avec des groupes amines des acides aminés et/ou des protéines. Comme présenté dans la Figure 8, la réaction de Maillard comporte plusieurs étapes complexes qui aboutissent à :

- la synthèse de composés carbonylés très réactifs (furfuraldéhydes, réductones),
- la formation de polymères bruns, aussi appelés mélanoïdines,
- la formation de composés volatils et odorants.

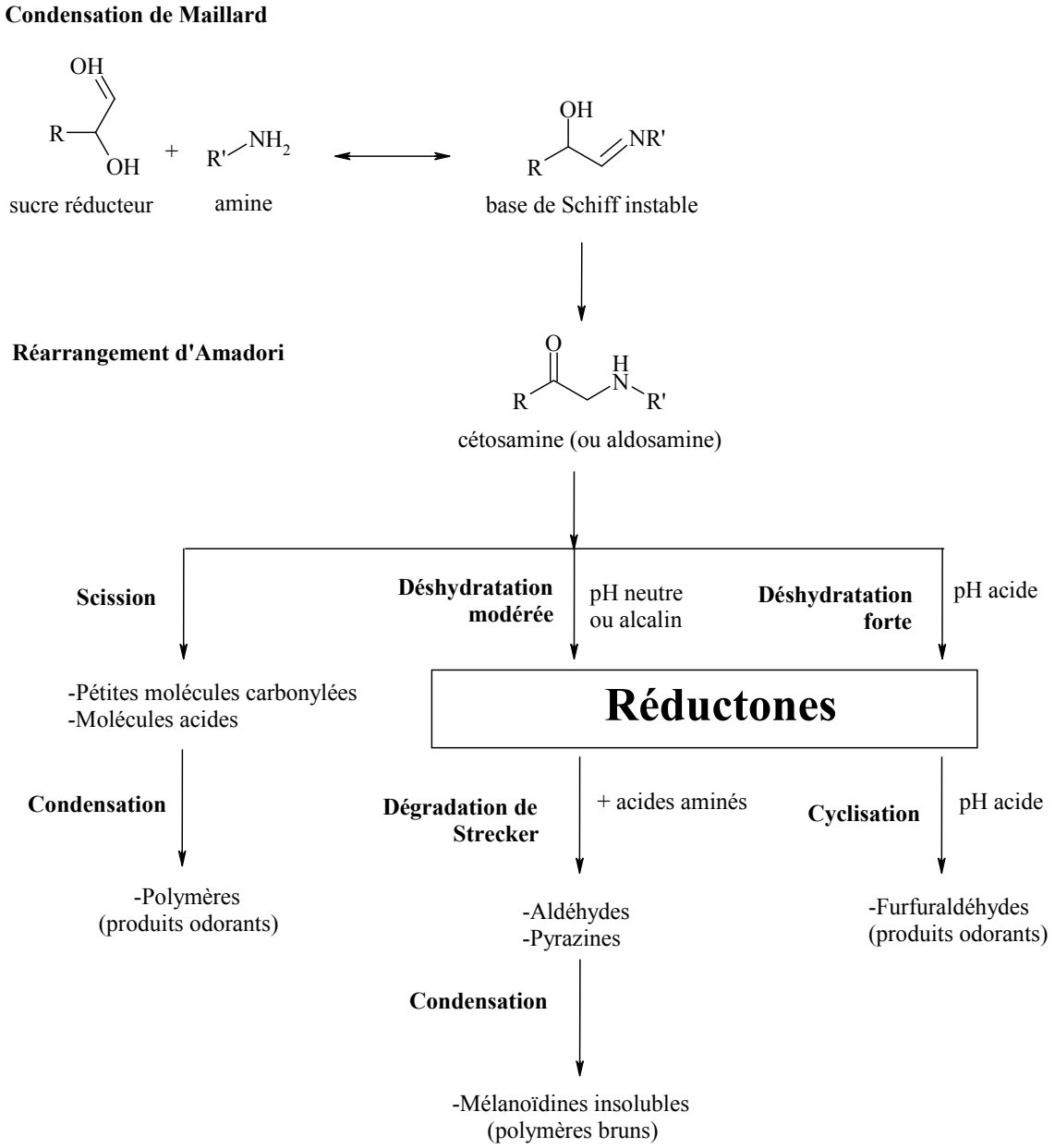


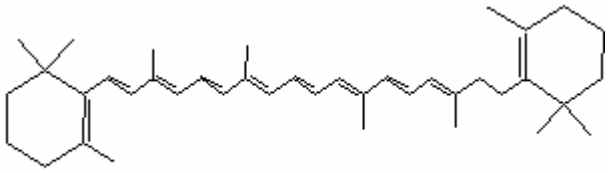
Figure 8. Schéma général de la réaction de Maillard

Les composés connus pour limiter le brunissement sont les sulfites, les thiols (Naim *et al.*, 1997). Les sulfites réagissent avec les composés carbonylés intermédiaires et forment des sulfonates beaucoup moins aptes à participer au brunissement. L'ajout de ces composés n'est pas autorisé dans le jus d'orange.

Dans les jus d'orange, plusieurs études ont mesuré l'évolution des teneurs en sucres pendant le stockage. Kaanane *et al.* (1998) ont observé que la teneur en sucres totaux restait stable dans un jus d'orange conservé 14 semaines à des températures comprises entre 4 et 45°C. Roig *et al.* (1999) ont également observé une valeur constante des sucres totaux, excluant une

réaction de Maillard entre les acides aminés et les sucres réducteurs. Ces auteurs ont donc suggéré que le brunissement était majoritairement du à la dégradation de la vitamine C.

La couleur du jus d'orange est liée à la présence de caroténoïdes comme le *β*-carotène. Choi *et al.* (2002) ont montré que la teneur en caroténoïdes totaux d'un jus d'orange n'était pas affectée pendant le stockage, excluant ainsi leur implication dans la formation du brunissement non-enzymatique. Par contre une isomérisation des caroténoïdes peut être observée. En général, le pourcentage d'isomérie *cis* est beaucoup plus faible que le pourcentage d'isomérie *trans*. La structure du trans-*β*-carotène est donnée dans la Figure 9. Etant donné le nombre important de doubles liaisons, il existe un grand nombre d'isomères pour chaque caroténoïde. Le pourcentage d'isomérie *cis* est connu pour augmenter nettement après exposition à la chaleur ou à la lumière. L'isomérisation des caroténoïdes sous leur forme *cis* tend vers un éclaircissement des produits (Chandler et Schwartz, 1988). Cet éclaircissement pourrait mettre d'autant plus en évidence les pigments bruns apparaissant dans le jus d'orange pendant son stockage.



trans-*β*-carotène

Figure 9. Structure du trans-*β*-carotène

De nombreux travaux montrent une corrélation entre les pertes en acide ascorbique et le développement de pigments bruns dans le jus d'orange (Kacem *et al*., 1987; Solomon *et al*., 1995). L'acide ascorbique se dégrade, donne naissance à des produits de dégradation (réductones) qui réagissent avec les acides aminés par la dégradation de Strecker (Kacem *et al.*, 1987, Shinoda *et al*., 2004) et contribuent au brunissement. La présence d'acide citrique favorise également ce brunissement (Clegg, 1966 ; Shinoda *et al*., 2004) et les sucres influent peu sur ces réactions (Shinoda *et al*., 2004). Enfin, des valeurs de pH faibles augmentent le brunissement (Nagy et Dinsmore, 1974).

Les produits intermédiaires du brunissement non-enzymatique qui peuvent se polymériser ou se combiner avec des acides aminés pour donner des pigments mélanoïdiques bruns sont, en

plus des réductones, la 3-hydroxy-2-pyrone, des furfuraldéhydes dont le 5-(hydroxyméthyl)-furfural (5-HMF), le furfural, et l'acide 2-furoïque.
Selon Nagy et Dinsmore (1974), la formation du furfural est à rapprocher de l'apparition des notes désagréables de vieux jus apparaissant au cours de son stockage. Ainsi, l'apparition des composés d'arôme intermédiaires du brunissement non-enzymatique peut modifier le profil aromatique des jus et nuire à leur qualité organoleptique.

1.2.2.d Effet du procédé de fabrication et du stockage sur la stabilité de la vitamine C

L'oxydation de l'acide ascorbique est favorisée par la température (Kennedy *et al.*, 1992), la présence d'ions métalliques (fer et cuivre) (Khan et Martel, 1967), et la teneur en oxygène dissous (Solomon et Svanberg, 1995). Ainsi, pour la fabrication du jus à base de concentré, la qualité de l'eau utilisée (ions métalliques) est de première importance. Lors de la dilution du concentré et lors de l'ajout des fractions aromatiques, l'agitation et la vitesse de pompage doivent être soigneusement contrôlées afin de limiter l'incorporation d'oxygène dans le jus (Sizer *et al*., 1988).

Gil-Izquierdo *et al.* (2002) ont mesuré les teneurs en vitamine C (acide ascorbique et déhydroascorbique) d'un jus avant et après pasteurisation à l'échelle industrielle et n'ont pas observé de pertes après un traitement à 95ºC pendant 30 s. Naim *et al.* (1997), à l'échelle pilote, observe une dégradation d'acide L-ascorbique de 11 % après une pasteurisation à 90-92°C pendant 30s. Rassis et Saguy (1995) observe les mêmes teneurs en vitamine C avec des pasteurisations à 84, 87 et 90°C pendant 72 s. Il s'avère donc que les teneurs en vitamine C sont peu affectées par le traitement de flash-pasteurisation.

L'effet de l'exposition à la lumière sur la stabilité de la vitamine C reste controversé. Satarr *et al.* (1989) ont montré que la lumière artificielle (lumière fluorescente d'intensité 540-650 lux) avait un effet sur les pertes en vitamine C dans des jus d'orange modèles (contenant de l'acide citrique, du sucre, de l'acide ascorbique et de l'eau) stockées dans des bouteilles de verre à température ambiante (25-30°C) pendant 32 jours. Au contraire, Mottar (1989) ne trouvait aucune influence de l'exposition à la lumière naturelle comparée à une conservation à l'obscurité totale sur la teneur en acide ascorbique du jus d'orange à 5°C et à 20°C pendant 3 mois, aussi bien avec des emballages en polypropylène qu'avec des briques en cartons.

En conclusion, la température et la durée du stockage semblent être les facteurs les plus critiques favorisant la dégradation de la vitamine C (Sizer *et al.*, 1988). Les jus d'orange flash-pasteurisés et proposés en rayon réfrigéré puis conservés au réfrigérateur domestique pendant des temps courts permettent donc de limiter considérablement les pertes en vitamine C et l'apparition du brunissement non-enzymatique. Le brunissement des jus d'orange est l'une des réactions qui influe le plus sur les changements de qualité pendant le stockage prolongé des jus d'agrumes (Rodriguez *et al.*, 1991). Cette modification de couleur, tout comme la modification du goût, constitue un frein incontestable à sa consommation.

1.3 Les composés d'arôme du jus d'orange

Un produit alimentaire est constitué de nombreux composés odorants, qui peuvent être perçus soit par voie nasale directe, ce qui caractérise l'odeur, soit par voie rétronasale lorsque l'aliment est placé dans la bouche, ce qui donne naissance à l'arôme. Ces deux perceptions font partie d'un ensemble désigné sous le nom de flaveur et qui regroupe la saveur, l'astringence, l'odeur, l'arôme et la pseudo-chaleur (Richard, 1992).

1.3.1 Les principaux composés d'arôme du jus d'orange

Les arômes constituent une part infime de la composition globale d'un jus d'orange, 0,02 % du poids total, mais ils jouent évidemment un rôle majeur dans l'appréciation organoleptique du produit. Les principales familles de composés d'arôme et leurs pourcentages sont les suivants : 75 à 98 % de terpènes ; 0,6 à 1,7 % d'aldéhydes ; 1 à 5 % d' alcools ; 1 % d' esters et 1 % de cétones (Sizer et al., 1988). Aujourd'hui, plus de 200 composés volatils ont été identifiés dans les jus d'orange frais (Buettner et Schieberle, 2001). La composition varie en fonction des variétés d'orange utilisées (Moshonas et Shaw, 1994), du climat, de l'état de maturité des fruits et du procédé de fabrication utilisé.

Selon Moshonas et Shaw (1994), les composés volatils présents dans un jus d'orange frais proviennent de trois sources principales. Le jus contenu dans les vésicules à jus qui est libéré pendant l'extraction contient en majorité les composés volatils solubles dans l'eau. Deux types d'huile, l'huile du jus et l'huile du flavedo, contiennent les composés d'arôme les plus hydrophobes (Moshonas et Shaw, 1994). L'huile du jus est localisée dans des corps globulaires à l'intérieur des sacs à jus et se disperse dans le jus pendant l'extraction. Rice *et al*. (1952) ont mesuré une teneur en huile du jus de 0,005 % en masse dans un jus pressé à la main dont la peau avait été retirée avant l'extraction. La quantité d'huile présente était deux

fois plus élevée dans le jus extrait à partir des oranges non pelées. Les jus d'orange commerciaux ont une teneur en huile comprise entre 0,015 et 0,02 % en masse qui dépend du procédé d'extraction (Kimball, 1991). Les huiles contiennent les terpènes, des aldéhydes (octanal, nonanal, décanal, néral et géranial) et le linalol. Les composés présents dans les vésicules à jus sont composés hydrophiles : des esters, des aldéhydes et des alcools.

Chaque molécule contribue différemment à l'arôme du jus d'orange. Ceci dépend de sa teneur dans le jus mais aussi de son seuil de perception (Tableau 6 et Tableau 7). Les seuils de détection des composés contribuant à l'arôme du jus d'orange ont été déterminés dans l'eau ou dans l'air par Ahmed *et al.* (1978) et Buettner et Schieberle (2001) et plus récemment dans un jus d'orange déodorisé par Plotto *et al.* (2004) pour quelques composés. Ces derniers ont obtenu des valeurs 15 fois supérieures (néral, géranial, hexanal) à 200 fois supérieures (β-pinène, limonène) aux valeurs dans l'eau pour les 14 composés étudiés un à un (terpènes et aldéhydes). Les auteurs évoquent des interactions complexes entre les composés volatils et les composés non volatils provoquant l'augmentation des seuils de détection. Ahmed et al. (1978) ont d'ailleurs montré que les sucres et les acides, seuls ou en combinaison, augmentent le seuil de détection du limonène dans l'eau. Plotto *et al*. (2004) recommandent donc la détermination des seuils dans la même matrice déodorisée plutôt que dans une solution modèle qui ne restitue pas tous les composés présents dans le jus d'orange (sucres, pectine ou composés phénoliques par exemple).

Les principales molécules volatiles odorantes des différentes familles et leur lien avec la flaveur du produit sont présentés ci-dessous.

Terpènes

Les hydrocarbures monoterpéniques ($C_{10}H_{16}$) et sesquiterpéniques ($C_{15}H_{24}$) sont les composés d'arôme majoritaires du jus d'orange. Le limonène, hydrocarbure monoterpénique, est le premier constituant volatil du jus d'orange. Il contribue de façon très importante à la flaveur de l'orange avec des notes d'agrumes et de citron (Ahmed *et al*. (1978), Nisperos-Carriedo et Shaw (1990), Hinterholzer et Schieberle (1998)). Des teneurs trop élevées en limonène supérieures à 0,02 % en masse doivent cependant être évitées sous peine d'induire une sensation désagréable de chaleur en bouche (Shaw, 1991 ; Fox, 2000). Moshonas et Shaw (1994) recommande une concentration de limonène comprise entre 135 et 180 ppm dans un jus d'orange commercial. D'autres monoterpènes comme le β-myrcène et l'α-pinène

contribuent largement à la flaveur de l'orange et leurs teneurs dépendent également de la teneur en huile du flavedo incorporée dans le jus lors de l'extraction. Le γ-terpinène est aussi un important contributeur avec un arôme de citron tout comme le sabinène avec une note légèrement plus boisée (Arctander, 1969). Des sesquiterpènes sont également présents comme par exemple le β-caryophyllène (boisé, épicé) ou le valencène (citronné). Cependant, une étude récente de Elston *et al*. (2005) a montré par GC-Olfactométrie que le valencène contenu dans l'huile d'une peau d'orange n'était pas odorant.

Aldéhydes

L'acétaldéhyde est un composé important de cette famille et contribue aux notes de tête et de fraîcheur du jus d'orange (Hinterolzer et Schieberle, 1998). Les trois aldéhydes linéaires octanal, nonanal et décanal sont également d'importants contributeurs à l'arôme d'orange par leurs notes de coeur et leur faible seuil de détection (Arctander, 1969) (Tableau 7). Des aldéhydes terpéniques présents dans les huiles du jus et du flavedo, le néral et le géranial, contribuent aux notes citronnées du jus.

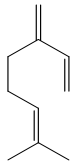
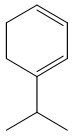
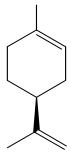
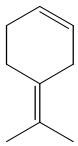
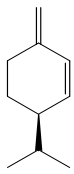
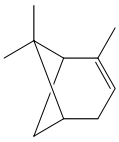
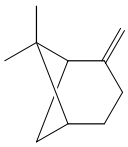
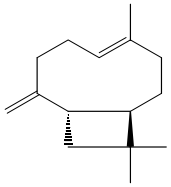
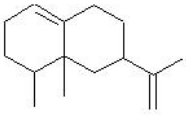
Esters

Le butanoate d'éthyle est généralement l'ester quantitativement le plus important et il joue un rôle primordial avec des notes de fraîcheur (Ahmed *et al*., 1978). Son seuil de détection dans l'eau est faible ($1 \mu g.kg^{-1}$) et il est présent à des teneurs beaucoup plus importantes (90-1200 $\mu g.kg^{-1}$, voir Tableau 7). Shaw (1991) ont suggéré que le butanoate d'éthyle en combinaison avec d'autres esters contribue aux notes de tête du jus. D'autres esters sont en effet présents comme l'acétate d'éthyle, le 3-hydroxy hexanoate d'éthyle, le butanoate de méthyle ou l'hexanoate d'éthyle.

Alcools

Concernant les alcools, le *cis*-3-hexen-1-ol et le *trans*-2-hexen-1-ol sont responsables de notes herbacées (Nisperos-Carriedo et Shaw, 1990). Des alcools terpéniques sont également présents comme l'α-terpinéol ou le linalol avec des notes florales. Ces composés ont cependant des seuils de détection plus élevés que les esters ou les aldéhydes (Tableau 7).

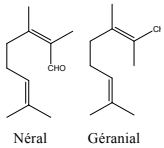
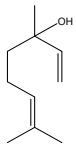
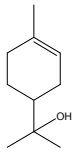
Tableau 6. Principaux terpènes du jus d'orange (d'après Shaw et Nagy, 1993 Arctander, 1969)

Composés	Formule développée	Note aromatique	Seuil de détection en µg.g^{-1}
Monoterpènes aliphatiques			
β-myrcène		fraîche, balsamique	0,013-0,015 0,773*
Monoterpènes monocycliques			
γ-terpinène		herbacée, citronnée	3,26
limonène		citronnée, fraîche	0,01 13,7*
terpinolène		odeur de pin, agréable	0,20
β-phellandrène		odeur de menthe, faiblement citronnée	
Monoterpènes bicycliques			
α-pinène		résineuse, odeur de pin rafraîchissante	0,006 1,65*
β-pinène		odeur de résine de pin	0,14 37,2*
sabinène		boisée, herbacée	
Sesquiterpènes			
β-caryophyllène		boisée, épicée, sèche, note de giroflée	0,064
valencène		citronnée	

Les seuils de détection (orthonasals) sont donnés dans l'eau (Leffingwell, 2005) et * : dans un jus déodorisé (Plotto et al., 2004)

Tableau 7. Quelques aldéhydes, esters et alcools du jus d'orange

(d'après Shaw et Nagy, 1993 Arctander, 1969)

Composé	Formule semi-développée	Note aromatique	Seuil de détection en µg.g^{-1}	Composé	Formule développée	Note aromatique	Seuil de détection en µg.g^{-1}
Aldéhydes aliphatiques				***Aldéhydes terpéniques***			
hexanal	$CH_3(CH_2)_4CHO$	grasse, herbacée	0,045-0,005 0,151*	citral		citron	0,03 1,23*
octanal	$CH_3(CH_2)_6CHO$	lourde, grasse	0,007 0,233*	***Alcool terpénique aliphatique***			
nonanal	$CH_3(CH_2)_7CHO$	grasse, citronnée	0,001 0,312*	linalol		florale, boisée	0,006 0,113*
décanal	$CH_3(CH_2)_8CHO$	fraîche, orange rosée	0,0001-0,002 0,204*				
Esters				***Alcool terpénique cyclique***			
butanoate d'éthyle	$CH_3(CH_2)_2COOCH_2CH_3$	fruitée, éthérée	0,001	α-terpinéol		florale, note de lilas	0,33-0,35 25,9*
hexanoate d'éthyle	$CH_3(CH_2)_4COOCH_2CH_3$	fruitée, éthérée	0,001				

Les seuils de détection (orthonasals) sont donnés dans l'eau (Leffingwell, 2005) et * : dans un jus déodorisé (Plotto et al., 2004)

Les concentrations de ces principaux composés dans des purs jus pressés à la main sont données dans le Tableau 8 pour 3 variétés d'orange : Valencia, Navel et Hamlin, ce qui confirme l'importance de la variété sur la composition aromatique.

Tableau 8. Concentrations de plusieurs composés d'arôme dans des purs jus pressés à la main en fonction de la variété d'oranges (d'après Moshonas et Shaw, 1994)

Composé[a]	Valencia	Navel	Hamlin
acétate d'éthyle	0,28	0,077	0,12
butanoate de méthyle	0,016	0,0001	0,018
butanoate d'éthyle	0,84	tr	0,70
cis-3-hexen-1-ol	0,17	0,16	0,26
α-pinène	0,10	0,25	0,13
myrcène	0,34	1,06	0,48
hexanoate d'éthyle	0,16	0,0087	0,086
octanal	0,004	0,056	0,008
limonène	18	43	24
γ-terpinène	0,002	0,003	0,004
linalol	0,13	0,17	0,016
nonanal	0,001	0,007	0,004
3-hydroxy hexanoate d'éthyle	0,28	tr	0,32
décanal	0,016	0,057	0,021
α-terpinéol	tr	tr	tr
néral	tr	0,023	tr
géranial	tr	0,033	0,012
valencène	3,30	1,2	5,1

[a] : composé en $\mu g.g^{-1}$, tr = traces

1.3.2 Effet du procédé sur la composition aromatique du jus d'orange

L'arôme du jus d'orange frais est affecté par les différentes étapes du procédé industriel. L'étape d'extraction du jus est responsable d'une augmentation qualitative et quantitative des composés volatils du jus d'orange, principalement ceux contenus dans les huiles essentielles du flavedo (Tableau 9). Une huile essentielle d'orange Valencia analysée par Mitiku *et al*. (2000) contenait 98,61 % d'hydrocarbures monoterpéniques ; 0,76 % d'aldéhydes aliphatiques et terpéniques et 0,47 % d'alcools. Les aldéhydes majoritaires étaient l'octanal et le décanal, ce qui est cohérent avec les comparaisons d'un jus frais et industriel observées dans le Tableau 9. En effet, ces 2 composés sont beaucoup plus concentrés dans le pur jus industriel ce qui confirme l'ajout d'huiles essentielles. La même observation peut être faite pour l'*a*-pinène, le *β*-myrcène, le limonène, le nonanal, le néral, le géranial et le linalol qui sont des composés solubles dans l'huile. Néanmoins, dans cette étude (Moshonas et Shaw, 1994), le jus industriel n'a pas été obtenu avec les mêmes oranges que le jus frais pressé à la main, ce qui peut induire une certaine variation des concentrations en composés d'arôme.

Ceci pourrait expliquer la teneur plus élevée en butanoate d'éthyle dans le jus industriel alors que ce composé hydrosoluble est majoritairement présent dans les vésicules à jus. Pour les autres composés hydrosolubles comme l'acétate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle ou le 2-méthyl-3-buten-2-ol, les concentrations n'évoluent pas significativement entre le jus frais pressé à la main et le jus industriel. Suivant la nature de l'extraction (FMC ou Brown) et suivant le rendement en jus de l'extraction, la teneur en composés volatils peut varier. Un équilibre de ces composés semble nécessaire pour obtenir une bonne qualité organoleptique (Shaw et Nagy, 1993).

Tableau 9. Composés volatils importants pour la flaveur du jus d'orange, dans un jus d'oranges « Valencia » pressé à la main et industriel (extracteur FMC), concentration en µg.g^{-1}, d'après Moshonas et Shaw (1994)

Composé	Jus frais pressé à la main	Jus industriel
terpènes		
limonène	18	134
β-myrcène	0,34	3,3
α-pinène	0,1	0,94
aldéhydes		
octanal	0,01	0,59
nonanal	0	0,08
décanal	0,02	0,45
néral	tr	0,03
géranial	tr	0,04
esters		
acétate d'éthyle	0,28	0,25
butanoate d'éthyle	0,84	1,53
hexanoate d'éthyle	0,16	0,13
alcools		
2-methyl-3-buten-2-ol	0,4	0,34
cis-3-hexen-1-ol	0,17	0,27
linalol	0,13	0,92
terpinen-4-ol	0	0,20

tr = traces

De nombreux travaux concernent l'effet de la pasteurisation sur la composition organoleptique du jus. Une augmentation du barème temps température a un effet négatif sur la fraction aromatique du jus (Moshonas et Shaw, 2000). Bazemore *et al*. (1999) ont étudié les composés formés dans des jus d'orange excessivement chauffés à 96°C pendant 240s, par SPME et CPG/Olfactométrie. Ils ont montré une perte d'intensité pour le butanoate d'éthyle, l'octanal, le nonanal et l'augmentation d'intensité pour le décanal, le terpinen-4-ol et le 4-vinylgaïacol. Néanmoins, les différentes concentrations des composés d'arôme n'étaient pas précisées. Moshonas et Shaw (1997) révèlent par analyse sensorielle une différence de flaveur entre un jus frais et un jus pasteurisé à 98°C pendant 37 s. Farnworth *et al*. (2001) ont montré qu'un jus frais contenait des teneurs plus élevées en α-terpinéol, géranial/carvone, hexanol, *cis*-3-hexen-1-ol, α-pinène, sabinène, β-myrcène et limonène que le même jus pasteurisé. Cependant les conditions de pasteurisation utilisées dans cette étude n'étaient pas précisées.

L'étape de désaération appliquée avant la pasteurisation est connue pour préserver la qualité du jus en limitant les pertes en vitamine C par la voie aérobie et l'apparition du brunissement. Elle est aujourd'hui couramment utilisée dans l'industrie d'élaboration des jus. Peu de travaux concernent son influence sur le profil aromatique. Néanmoins, deux études récentes de Jordan *et al*. (2003 et 2005) ont montré que la désaération (40°C ; 0,6 bar) provoquait des pertes significatives dans toutes les familles de composés d'arôme (alcools, aldéhydes, esters et terpènes).

La connaissance des compositions aromatiques des jus avant et après les étapes du procédé permet de rectifier la formulation des jus industriels par ajout de fractions aromatiques (Jordan *et al*, 2003). Cette démarche permet d'obtenir des produits industriels caractérisés par un profil aromatique se rapprochant du jus frais (Nisperos-Carriedo et Shaw, 1990). La réglementation européenne permet en effet la restitution des arômes provenant du jus et séparés pendant la transformation, aussi bien dans le pur jus que dans le jus à base de concentré (annexe 1).

Le procédé le plus utilisé aujourd'hui pour la préservation des aliments est le traitement thermique (pasteurisation). Mais cette étape entraîne des modifications de la flaveur et de la couleur qui nuisent à la qualité du produit. Ainsi, des nouvelles technologies de traitement des aliments sont proposées pour obtenir un produit industriel sans risque microbiologique et qui conserve ses propriétés nutritionnelles et organoleptiques proches de celles du produit frais.

Innovations technologiques

Les technologies non thermiques principales proposées pour remplacer la pasteurisation traditionnelle sont :

- les hautes pressions,

Il s'agit d'un traitement non thermique qui consiste à appliquer une pression d'environ 500 MPa pendant plusieurs minutes. Ce traitement a été largement proposé pour les jus de fruits comme le jus d'orange. Il est efficace pour inactiver les microorganismes et dénaturer plusieurs enzymes sans affecter les vitamines, les pigments (Parish, 1998). De plus, Polydera *et al.* (2003) ont montré qu'un jus d'orange traité à 500 MPa pendant 5 minutes avait une durée de vie plus longue qu'un jus traité par un procédé conventionnel de pasteurisation à 80°C pendant 30s. Cette technique présente l'avantage de pouvoir décontaminer le jus et son emballage en une seule étape.

- les champs électriques pulsés,

Les champs électriques pulsés (CEP) constituent la méthode la plus avancée parmi les technologies émergentes et font l'objet de nombreux travaux scientifiques. Son principe est l'application d'un champ électrique pendant un temps très court qui provoque une fragilisation de la membrane des cellules. Ce phénomène est appelé électropolation. Une étude de Min *et al.* (2003) a déterminé les effets des CEP (40 kV pendant 97 ms) dans un jus d'orange sur la stabilité microbienne, la vitamine C, les composés d'arôme et les propriétés sensorielles en comparaison avec une pasteurisation traditionnelle (90°C pendant 90s). Le jus traité par les CEP présentait une meilleure teneur en vitamine C ainsi qu'une meilleure flaveur et couleur. Ayhan *et al.* (2002) ont montré que les CEP permettaient de maintenir des teneurs plus élevées en limonène, α-pinène, myrcène et valencène.

Des méthodes thermiques alternatives de la pasteurisation traditionnelle peuvent également être mentionnées : micro-ondes, radio fréquence ou chauffage ohmique. Cette dernière consiste à chauffer uniformément le produit par un champ électrique avec un barème temps température très court. Une étude récente de Leizerson et Shimoni (2005) a montré qu'un jus d'orange traité par chauffage ohmique (courant maximum de 8kV) présentait des teneurs plus élevées en décanal, octanal, limonène, pinène et myrcène comparé au jus traité par pasteurisation conventionnelle. D'un point de vue sensoriel, la durée de vie du jus traité par chauffage ohmique était 2 fois plus longue. Par contre, les pertes en vitamine C restaient semblables.

Enfin, nous pouvons mentionner le traitement par la lumière électrique pulsée qui consiste à tuer les micro-organismes en utilisant des impulsions de durées courtes et de haute fréquence d'un large spectre intense. Peu d'études ont été conduites sur l'influence de ce traitement sur les enzymes contrairement à l'influence sur les microorganismes (Palmieri et Cacace, 2005). Cette méthode peut être appliquée à la décontamination des aliments mais aussi des matériaux d'emballage.

Cependant, les industries des boissons ne recourent que peu à ces technologies pour des problèmes de coût ou de cadence de production ; la pasteurisation reste donc le procédé le plus couramment utilisé. De plus, la réglementation europeénne « Novel Foods » de janvier 1997 statue que « les aliments produits par des procédés innovants ne doivent pas provoquer de changements significatifs de la composition ou de la structure de l'aliment qui pourraient affecter leur valeur nutritionnelle ou leur taux de substances indésirables ». Danone, en décembre 1998, a demandé la mise sur le marché d'une préparation de fruits traitée par les hautes pressions. L'autorisation par la commission européenne a été obtenue en mai 2001, soit 2 ans et demi plus tard. Cette réglementation et les durées d'évaluation des dossiers de plusieurs années peuvent expliquer la réticence des industriels à l'utilisation de procédés innovants.

1.3.3 Evolution de la fraction aromatique pendant le stockage du jus d'orange

Tonder *et al.* (1997) ont mis en évidence des différences significatives entre un jus d'orange frais et un jus d'orange conservé par GC-MS et GC-Olfactométrie. Un certain nombre de composés d'arôme dits néoformés ou off-flavors sont connus pour apparaître au cours du stockage des jus d'orange. Ces composés peuvent être les composés intermédiaires du brunissement non-enzymatique comme le furfural formé lors de la dégradation anaérobie de la vitamine C (Shimoda *et al.*, 2005). D'autres réactions de dégradation modifiant le profil aromatique peuvent se produire à partir des composés d'arôme initialement présents dans le jus. Clark et Chamblee (1992) ont rapporté 2 types de réactions dans les huiles d'agrumes :

- les réactions d'oxydation des composés d'arôme,
- les réactions de catalyse acide provoquées par les conditions de pH (3-4)

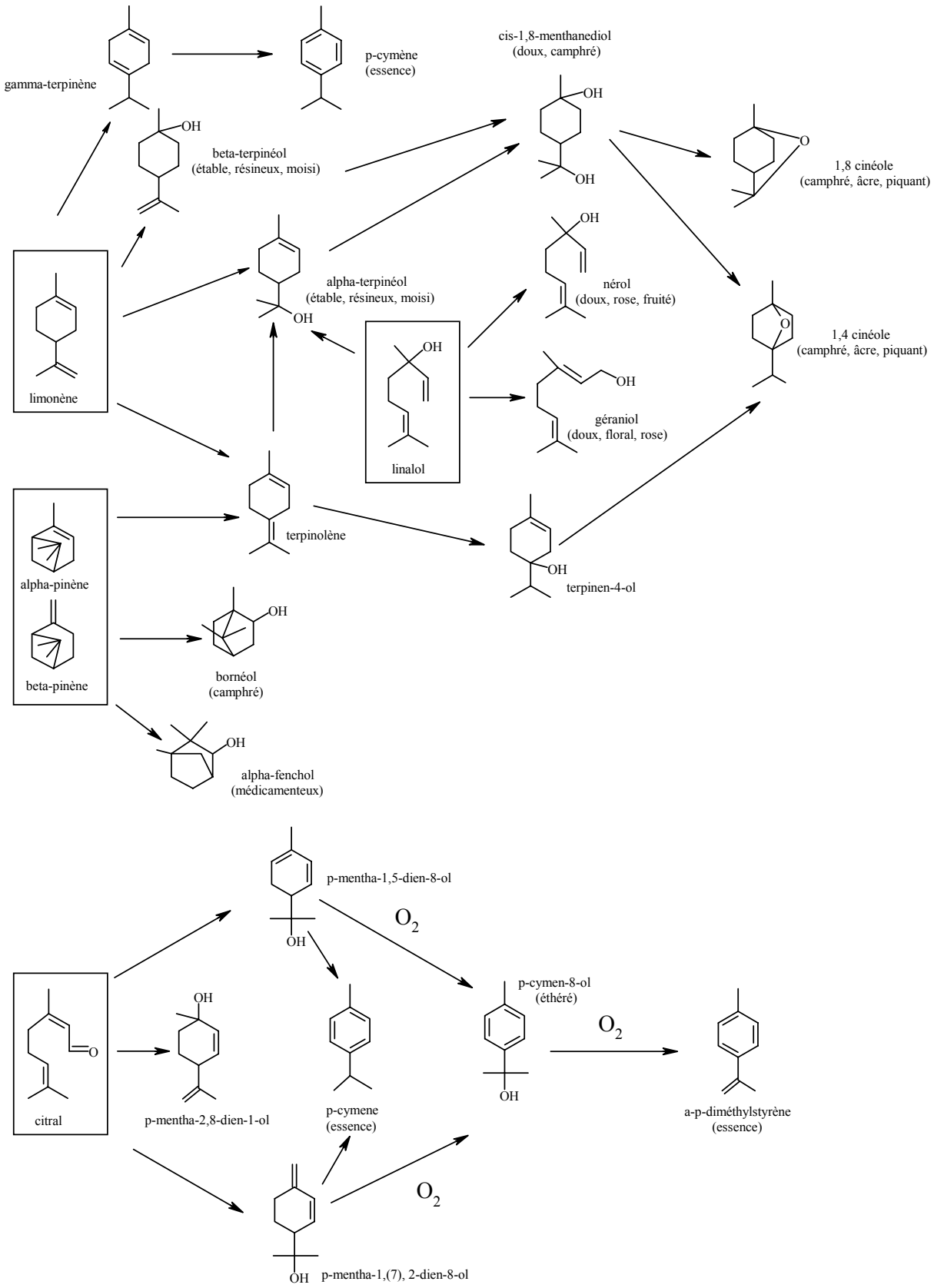


Figure 10. Composés de dégradation apparaissant au cours du stockage dans les huiles essentielles d'agrumes par catalyse acide (d'après Nagy *et al.*, 1989 ; Clark et Chamblee, 1992)

Les réactions d'oxydation

Ces réactions nécessitent de la lumière pour être initiées. En effet, les oxygènes singulets peuvent alors être formés et réagissent avec les doubles liaisons des composés d'arôme pour former des composés. Un nombre limité d'études portant sur l'influence de la lumière sur les arômes d'agrumes dans les boissons a été publié. La température de stockage est un des facteurs critiques qui provoquent ces dégradations. Par oxydation, le limonène se décompose en carvone et carvéol (Buckholz et Daun, 1978) ou α-terpinéol (Haleva-Toledo *et al*., 1999).

La carvone est connue pour être le produit de décomposition majoritaire et des auteurs l'ont proposé comme un indicateur de l'oxydation des huiles d'agrumes (Anandaraman et Reineccius, 1986).

Dans le jus d'orange, les réactions d'oxydation des composés d'arôme peuvent être limitées grâce au dégazage du jus avant sa pasteurisation. Ce dégazage doit cependant être maîtrisé car il peut provoquer des pertes importantes en composés d'arôme (Jordan *et al*., 2003).

Les réactions de catalyse acide

Les réactions de catalyse acide peuvent être initiées à l'obscurité. La Figure 10 présente les dégradations principales ainsi que les différents produits formés. De plus, les premiers produits de dégradation peuvent eux-mêmes donner naissance à de nouveaux produits de dégradation. La vitesse des réactions est connue pour augmenter d'un facteur 2 à 3 pour chaque augmentation de 10-15ºC de la température de stockage (Clark et Chamblee, 1992). La température est donc également ici un facteur critique pour le maintien de la qualité organoleptique des jus. Les notes olfactives des nombreux produits formés sont parfois très négatives comme étable, résineux, moisi ou essence.

La déterpénation de la phase huileuse qui sera réincorporée dans le concentré ou une diminution des huiles essentielles incorporées dans le pur jus permettrait de limiter l'apparition de notes négatives. En effet, l'huile essentielle contient plus de 98 % de limonène et des pinènes (Mitiku *et al*., 2000) qui sont sensibles à l'oxygène et au pH du jus. Les taux de terpènes sont donc réduits pour éviter les problèmes d'off-flavors causés par ces produits de dégradation. La méthode consiste à faire un lavage de l'huile avec 60 % d'éthanol ou à faire une distillation sous vide. L'huile obtenue est plus riche en composés oxygénés qui sont responsables des notes d'agrumes et moins riche en limonène. Cependant la distillation sous vide entraîne des pertes en aldéhydes et l'extraction par solvant nécessite une distillation pour

concentrer l'extrait et entraîne des décompositions thermiques (Rouseff et Naim, 2000). D'autres méthodes comme l'extraction par $C0_2$ supercritique sont donc également employées (Diaz *et al*., 2005).

Ainsi, seule une connaissance du produit et des bilans de matière effectués sur la vitamine C (quantité de vitamine C initialement présente, quantité de vitamine C à préserver en fin de Date Limite d'Utilisation Optimale (DLUO), quantité perdue au cours de la fabrication) permettent à l'industriel de déterminer ses paramètres de fabrication : qualité des matières premières dont celle de l'eau du jus à base de concentré, précautions à prendre lors du procédé de fabrication, etc... Pour préserver la qualité du jus optimisé, l'emballage va jouer un rôle complémentaire pendant la conservation et devra être choisi en fonction de ses propriétés barrières à l'oxygène et ses propriétés barrière aux composés d'arôme. En effet, de par sa perméabilité à l'oxygène, l'emballage utilisé peut apporter sa contribution à l'oxydation des composés d'arôme du jus.

2. L'emballage du jus d'orange

2.1 Les conditionnements actuels du jus d'orange

2.1.1 Présentation du marché des jus en France

Le marché des jus ambiants représente 767 millions de litres en 2005, en progression de 3 % en volumes. Le conditionnement le plus utilisé pour les jus de fruit est la brique (65 % du chiffre d'affaires des jus de fruits ambiants en 2005, www.rayon-boissons.com), qui est constituée d'un complexe carton/aluminium/polyéthylène (PE). Le bocal en verre représente environ 22 % du chiffre d'affaires. C'est un emballage inerte qui a une image valorisante pour le consommateur, cependant en 2004-2005, son utilisation a diminué de 5 % en volume. Les emballages plastiques sont le troisième type d'emballage utilisé (10 %, avec une augmentation de 11 % en volume sur l'année 2004-2005) et enfin la boîte métal (3 %) qui avait été lancée en 1992 par Minute Maid (Coca-Cola).

En ce qui concerne la brique, la couche de PEBD est au contact du jus, puis une couche en aluminium assure l'imperméabilité aux gaz (dont l'oxygène) et à la lumière, enfin une couche de carton protégée par une fine couche de plastique sert de support à l'étiquetage et aux messages commerciaux de la marque tout en assurant la rigidité du système. Le bocal en verre garantit des propriétés barrière irréprochables mais il reste lourd et cassant. Les emballages plastiques sont en augmentation car ils présentent un certain nombre d'avantages. Ils sont légers, résistants et pour une partie d'entre eux transparents ce qui permet d'apprécier la couleur du jus. Financièrement de nombreuses résines sont moins chères que le verre (Hrebicek, 2003).

Le Tableau 10 donne les principaux types de conditionnement utilisés pour chaque dénomination de jus : pur jus, jus à base de concentré et nectar qui représentent respectivement 35 %, 40 % et 25 % des volumes des jus ambiants. Le verre est le conditionnement le plus utilisé pour le pur jus mais les emballages plastiques sont en forte progression avec l'apparition du pur jus Tropicana en bouteille de PET.

Tableau 10. Dénominations de jus de fruits ambiants en France et principaux types de conditionnement utilisé

Dénomination et répartition en volumes		Type de conditionnement	Evolution sur l'année 2004-2005
Pur Jus ou 100 % Pur jus	35 %	Verre 48 %	-3 %
		Plastique 15 %	+23 %
		Brique 36 %	+4 %
Jus de fruits à base de jus concentré	40 %	Verre 4 %	+0,7 %
		Plastique 6 %	-13 %
		Brique 90 %	+8 %
Nectar	25 %	Verre %	
		Plastique 4 %	
		Brique %	

Le marché des jus réfrigérés représente quant à lui 103 millions de litres en 2005 avec une progression notable de 7,9 %. Dans cette gamme de produits, les purs jus dominent avec 97 % des parts de marché et les emballages plastiques sont très peu utilisés (0,8 % en volume).

2.1.2 Les emballages plastiques

Les principaux matériaux plastiques utilisés pour le contact alimentaire sont constitués majoritairement de polymères semi-cristallins, les polyoléfines et le PET.

Le polyéthylène (PE) et le polypropylène (PP) qui font partie de la famille des polyoléfines sont essentiellement constitués d'éthylène et de propène. Ils entrent principalement dans la fabrication de films d'emballage, d'opercules, de bouchons et sont utilisés comme couche de scellage dans les matériaux multicouches. Le polychlorure de vinyle (PVC) est également utilisé pour les bouteilles d'huile, de vin ou de vinaigre avec des additifs spécifiques au contenant. Le polyéthylène téréphtalate (PET), polymère de la famille des polyesters a, contrairement au PVC, une très faible perméabilité au CO_2. Il est donc employé dans la fabrication des bouteilles de boissons gazeuses. Il est largement utilisé pour les bouteilles d'eau minérale. Son utilisation pour les jus d'orange est intéressante étant donné sa faible perméabilité à l'oxygène comparé au PE (Tableau 11). Notons également l'existence du polyéthylène naphtalate (PEN), cinq fois plus barrière au dioxyde de carbone et à l'oxygène que le PET mais trois à quatre fois plus cher ce qui limite son utilisation.

Le polystyrène (PS), polymère totalement amorphe, est surtout utilisé dans les emballages de produits laitiers (yaourts, crème fraîche, desserts lactés). Le polyacrylonitrile (PAN) est très

barrière à l'oxygène mais il est aussi 4,5 fois plus cher que le PET, il a été utilisé pour les jus d'orange sous le nom commercial « Barex ».

Le Tableau 11 donne les valeurs de perméabilité à l'oxygène, à la vapeur d'eau de différents polymères utilisés dans les emballages alimentaires. Un aliment très sensible à l'oxygène devra donc être emballé avec un matériau barrière à l'oxygène, donc préférentiellement avec le PET (ou PEN) par rapport aux polyoléfines (PE, PP). Un matériau d'emballage ne va pas assurer à la fois des propriétés barrière à l'oxygène et à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont obtenues en associant plusieurs types de polymères.

Tableau 11. Perméabilité à l'oxygène (23°C 50 % ou 0 % d'humidité relative) et à la vapeur d'eau (23°C, 85 % d'humidité relative) et transition vitreuse de plusieurs polymères, d'après Lange et Wyser, 2003.

Polymère	Perméabilité à l'oxygène (cm^3 mm / (m^2. jour.atm))	Perméabilité à la vapeur d'eau (g mm / (m^2 jour))	Température de transition vitreuse (°C)
PET	1-5	0,5-2	73
PP	50-100	0,2-0,4	-10
PE	50-200	0,5-2	-110
PS	100-150	1-4	90
PVC	2-8	1-2	
PEN	0,5	0,7	
PA	0,1-1 (sec)	0,5-10	50 à 60
EvOH	0,001-0,01 (sec)	1-3	

Ainsi, pour améliorer la performance des emballages vis-à-vis du maintien de la qualité de l'aliment, des emballages multicouches ont été élaborés. Chaque couche présente une propriété différente (écran à la lumière, barrière à l'oxygène, résistance mécanique). La propriété attendue de l'emballage correspond alors à la somme des propriétés individuelles de chaque couche. Le copolymère d'éthylène et d'alcool vinylique (EvOH) fait partie des polymères les plus barrières à l'oxygène mais il est très perméable à la vapeur d'eau, de plus il perd ses propriétés barrières à l'oxygène quand il est en contact avec un milieu aqueux. Il est utilisé en couche interne dans les complexes avec des polyoléfines.

Deux types de bouteilles multicouches peuvent être distinguées :

- les bouteilles n'intégrant pas de couche barrière aux gaz, constituées de PEBD et PEHD. Une couche de PEHD noire est utilisée comme barrière aux UV. Ces bouteilles sont principalement utilisées pour le conditionnement du lait.

- les bouteilles comportant une couche barrière à l'oxygène à base de nylon ou EvOH, elles sont composés de 3 couches comme par exemple PE/PA (Nylon) /PE ou PE/EvOH/PE voire 4 couches PE/EvOH/PE recyclé/PE (Hrebicek, 2003).

La technologie ACTIS (Amorphous Carbon Treatment on Internal surface) est un procédé développé par Sidel (1999) qui consiste à déposer une couche barrière de carbone à l'intérieur de la bouteille en utilisant un gaz à l'état de plasma (l'acétylène). Sous l'effet d'un apport d'énergie par micro-ondes, le gaz se décompose sous la forme d'un nuage de molécules plus ou moins dissociées, d'ions, d'électrons, de neutrons, de photons : le plasma. La perte brutale d'énergie au cours du choc de ces espèces contre la paroi de la bouteille provoque un retour direct à l'état solide et la formation d'un dépôt, en une couche de carbone amorphe hautement hydrogéné d'une épaisseur de 1,5 dixième de micron. La bouteille PET traitée plasma est 30 fois plus barrière à l'oxygène qu'une bouteille de PET non traitée. Cette bouteille a montré son efficacité pour le conditionnement de la bière, boisson très sensible à l'oxygène, et qui n'était jusqu'alors conditionnée qu'en bouteille verre. De plus cette couche plasma permet de réduire de 6 fois la migration des aldéhydes présents dans le PET vers le produit (site http://www.actis-tm.com/industrie.htm). D'autres types de traitement plasma ont également été développés avec le dépôt d'une couche de silice.

En plus de la bouteille, le bouchon est également important à prendre en considération. Le bouchon des bouteilles de PET est le plus souvent en PEHD du fait de ses bonnes propriétés mécaniques et de résistance, il peut donc constituer un point faible de l'emballage étant donné sa perméabilité à l'oxygène plus élevée que celle du PET (Tableau 11). Des technologies de bouchon PEHD possédant un joint multicouche sont en cours de développement pour améliorer la barrière à l'oxygène.

2.1.3 Les techniques de conditionnement

Les deux techniques de conditionnement possibles pour les jus ambiants sont le conditionnement à chaud et le remplissage aseptique à froid. Le choix d'une technique plutôt que d'une autre se fera selon le type de matériau utilisé. C'est la raison pour laquelle il est important de considérer la façon dont le polymère réagit face à la température.

Le conditionnement à chaud est utilisé pour les bouteilles en verre et pour certaines briques ou bouteilles de PET fortement cristallisées résistantes à 80°C. La température du liquide assure

la stérilité de l'emballage car les jus sont soutirés à chaud. Le remplissage aseptique à froid nécessite un refroidissement du produit avant conditionnement. Les emballages doivent être nettoyés et stérilisés avant le remplissage. Le peroxyde d'hydrogène et l'acide péracétique sont les produits de nettoyage les plus couramment utilisés pour la décontamination des emballages plastiques utilisés par les procédés aseptiques. Un schéma du procédé de conditionnement aseptique à froid en emballages PET est donné dans la Figure 11.

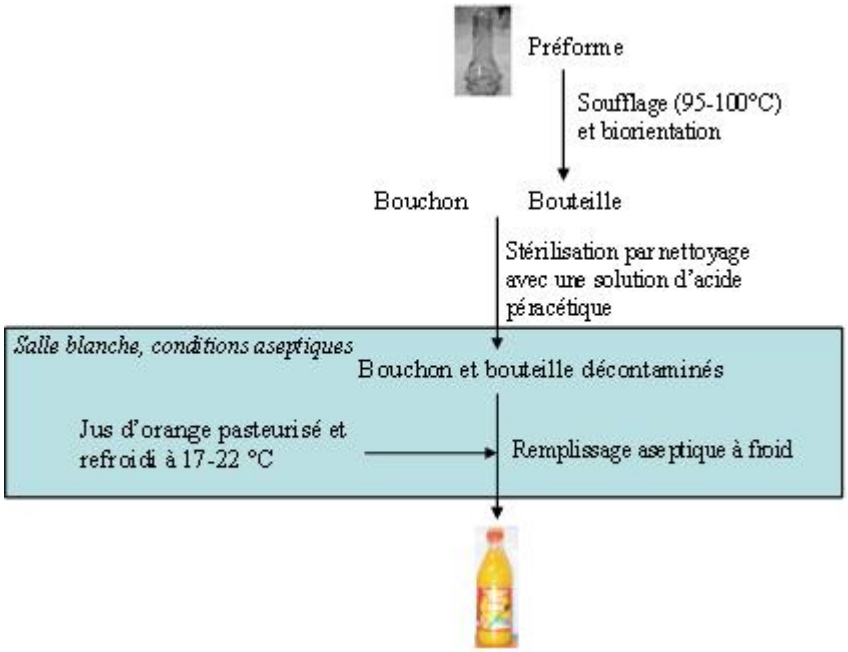


Figure 11. Schéma d'un procédé de remplissage aseptique à froid

2.2 Les interactions entre l'emballage et l'aliment

Les phénomènes décrits ici concernent les emballages plastiques qui constituent une part croissante du marché de l'emballage et qui seront étudiés dans notre travail comparativement au verre, emballage inerte pris pour référence.

2.2.1 Définitions

Les phénomènes d'échange entre le produit alimentaire et son emballage sont la résultante des interactions existant entre la matrice, l'emballage et son environnement, entraînant des effets sur le produit et /ou l'emballage (Hotchkiss, 1997). Les principaux types d'interaction entre un aliment et son emballage plastique sont :

- la migration,
- la perméation.

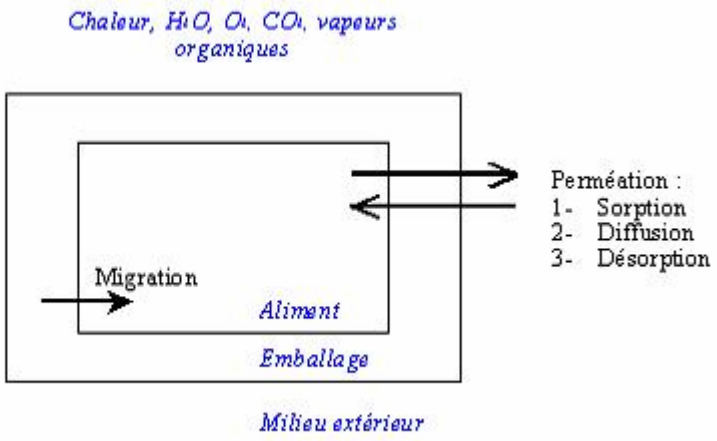


Figure 12. Les différents types d'interaction entre la matrice alimentaire et l'emballage plastique

La **migration** correspond au transfert des constituants de l'emballage vers l'aliment. Il peut s'agir d'adjuvants technologiques, de monomères, d'oligomères, de pigments et solvants des encres d'impression ou de produits de dégradation. La migration peut induire des problèmes de toxicité mais également des odeurs indésirables.

La **perméation** décrit le phénomène de solubilisation-diffusion de molécules volatiles venant de l'aliment et (ou) de l'extérieur (gaz comme O_2, CO_2, N_2, He, vapeurs d'eau, composés d'arôme) au travers de l'emballage. La perméation nécessite au préalable la sorption des substances concernées. Les substances pouvant être sorbées sont très diverses (pigments, acides, composés d'arôme…), elles présentent pour cela une affinité chimique avec la nature polymérique de l'emballage. Ainsi du fait de leur faible masse molaire, la sorption des composés d'arôme dans l'emballage se poursuit par leur diffusion dans le matériau, allant dans certains cas jusqu'à la traversée totale du matériau. La perméation peut ainsi provoquer des pertes d'arômes et donc des modifications des propriétés organoleptiques du produit.
En sens inverse, du milieu extérieur vers l'aliment, ce phénomène s'accompagne de détérioration des qualités de l'aliment. Ainsi la perméabilité à l'oxygène des matériaux d'emballage est un phénomène critique dans la conservation de l'aliment emballé. Elle peut provoquer le développement de micro-organismes ou des réactions d'oxydation.

2.2.2 La réglementation des emballages

Parmi les phénomènes de transferts entre l'aliment et l'emballage qui ont été décrits, la migration est le phénomène susceptible de présenter un danger pour la santé humaine. La réglementation des emballages s'intéresse donc en priorité à ce phénomène en imposant que

l'emballage ne cède pas aux aliments des constituants, en quantité susceptible de présenter un danger à la santé humaine, et d'entraîner une modification inacceptable de la composition ou des caractères organoleptiques de ces denrées : C'est le principe d'inertie (règlement 1935/2004 du Parlement Européen et du Conseil, directive 2002/72/CE amendée en 2004). Ce règlement prend en considération tous les matériaux destinés ou susceptibles d'entrer au contact des aliments. Etant donnée l'importance des emballages plastiques dans le domaine alimentaire, une directive spécifique a donc été établie. Elle donne une liste positive, regroupant les composés qui sont autorisés comme adjuvants technologiques pour l'emballage alimentaire, comme les monomères et additifs, à l'exclusion des colorants, pigments… Quatre types de migrants potentiels peuvent être présents dans un matériau polymérique :

- des résidus de monomères ayant servi à la polymérisation,
- des adjuvants technologiques des polymères,
- des produits de réaction ou de dégradation des adjuvants, des monomères et des polymères,
- des substances ne faisant pas partie des listes positives.

La directive définit les limites de migrations de ces différentes substances.

La **limite de migration globale** (LMG) : cette limite est indépendante de la toxicité du migrant, elle est fixée à 60 $mg.kg^{-1}$ de produit. Les emballages qui présentent une LMG supérieure à cette valeur ne sont pas aptes au contact alimentaire.

La **limite de migration spécifique** (LMS) fixe la quantité acceptable d'une substance donnée (migrant) dans l'aliment. La LMS est fixée en fonction de la dose journalière admissible DJA (en $mg.kg^{-1}$ de masse corporelle).

La **concentration maximale dans le matériau** (QM) est le type de restriction utilisée autant que possible car il est plus facile de mesurer un migrant dans un plastique que dans un aliment. Dans le cas d'une substance inconnue, le QM est calculé d'après le seuil de non-préoccupation toxicologique (concentration dans l'aliment inférieure à 1-10 ppb, valeur encore en discussion). Celui-ci correspond à un seuil de concentration dans l'aliment en dessous duquel toute substance ne présente qu'un risque minime.

La **concentration maximale par unité de surface** (QMA) est habituellement exprimée en mg pour 6 dm^2. Elle est employée pour des substances en très faible quantité, lorsque la migration est très faible (généralement inférieure à 0,05 $mg.kg^{-1}$ d'aliment) ou encore lorsque la migration totale de la substance reste acceptable d'un point de vue toxicologique.

Pour compléter les dispositions prévues dans le règlement 1935/2004, un « Super-Règlement » européen sur les matériaux et emballages actifs devrait voir le jour fin 2006. Par rapport à la directive sur les matières plastiques, le nouveau texte devrait apporter entre autres les modifications suivantes :

- Regroupement de tous les textes réglementaires qui concernent les matières plastiques,
- Extension des règles à tous les matériaux multicouches dont la couche en contact est de la matière plastique,
- Définition de la barrière fonctionnelle, qui consiste à insérer, dans un nouvel emballage, un polymère recyclé entre deux couches de matière vierge, ce qui décale dans le temps la migration (temps de latence),
- Clarification des obligations des exploitants (avec notamment déclaration écrite de conformité),
- Transformation des QM et QMA en LMS.

(http://www.contactalimentaire.com/index.php?id=563&backPid=562&begin_at=10&tt_news=17&cHash=ac550eb68e)

2.2.3 Les équations régissant les phénomènes de perméation

La perméation a d'abord été décrite par la diffusion de gaz et de molécules de petites tailles au travers d'un film. Le processus se déroule de la façon suivante : tout d'abord le gaz est solubilisé à la surface du film, puis il diffuse à travers le film avant d'être désorbé sur l'autre face du film. La quantité de gaz transporté est appelé flux de matière,s'exprime en fonction du gradient de concentration suivant l'axe de déplacement d'après la première loi de Fick :

Équation 1 $$J = -D\,(\delta C/\delta x)$$

Où J est le flux de diffusion ($kg.m^{-2}.s^{-1}$), D est le coefficient de diffusion ($m^2.s^{-1}$) et C est la concentration du gaz dans le film ($kg.m^{-3}$).

Cette première loi de Fick s'applique dans le cas du régime permanent avec un gradient de concentration linéaire et indépendant du temps.

Avec e, l'épaisseur du film (m), C_1, la concentration du perméant avant passage au travers du film et C_2 la concentration du perméant après passage au travers du film, l'Équation 1 devient :

Équation 2 $$J = D\,(C_1 - C_2)/e$$

Le coefficient de diffusion D (en $m^2.s^{-1)}$ représente la vitesse de déplacement des molécules perméantes dans le film. C'est un paramètre cinétique essentiellement relatif à la taille et à la forme des molécules mais aussi à la structure du polymère.
Si l'on suppose que la concentration en gaz sorbé est proportionnelle à la pression partielle dans la phase gazeuse sur la surface du film alors l'Équation 2 s'écrit :

Équation 3 $$J = DS\,(p_1 - p_2)/e$$

Où D est le coefficient de diffusion ($m^2.s^{-1}$), S est le coefficient de solubilité du perméant dans le film ($kg.m^{-3}Pa^{-1}$), p_1 et p_2 sont les pressions partielles du perméant sur les faces interne et externe (Pa).
La sorption peut être représentée par le coefficient de solubilité S (en $kg.m^{-3}.Pa^{-1}$). Celui-ci dépend de l'affinité de la molécule sorbée pour le polymère et de la pression partielle de la molécule à l'interface solide-gaz (Naylor, 1989). C'est un paramètre thermodynamique qui est un coefficient de partage. S est égal au rapport de C (concentration du perméant dans le polymère) sur p pression partielle du perméant au contact, à l'équilibre. Ceci est vrai quand p est faible et qu'il n'y a pas de modifications du polymère. Quand le type de contact n'est plus seulement à l'état gazeux mais se fait par l'intermédiaire d'une troisième composante, liquide ou solide, par exemple la matrice alimentaire, S peut être assimilé à un coefficient de partage qui est le rapport de concentrations de la molécule volatile dans le polymère et la matrice, à l'équilibre.

Dans notre cas, les molécules aptes à diffuser au travers du film ne sont pas toutes des molécules gazeuses, elles peuvent être des solutés de la matrice liquide. Pour décrire le phénomène en gardant le même modèle mathématique, deux approximations sont faites :

- les interactions entre le perméant et le polymère sont supposées faibles, ce qui signifie que la sorption se fait de la même manière en tout point du polymère,
- le calcul du flux de diffusion utilise les concentrations des solutés et non des pressions partielles de gaz.

Le phénomène de perméation peut être représenté par le coefficient de perméation P avec P = S.D (en $kg.m^{-1}.Pa^{-1}.s^{-1}$). Les variations du coefficient P dépendent de la température, des

paramètres structuraux du polymère ainsi que de la forme des perméants. On parle de contrôle thermodynamique (faible solubilité) et cinétique (faible diffusion) de la perméation.
Dans le cas des corps creux, deux types de contacts sont présents : un contact liquide-polymère pour la bouteille et un contact vapeur-polymère pour le bouchon.

2.3 Interactions des composés d'arôme avec les polymères plastiques

Lors d'un contact d'un aliment avec son emballage, un transfert de molécules de l'aliment vers l'emballage peut avoir lieu. Un certain nombre de facteurs influencent la sorption de composés d'arôme (Figure 12).

2.3.1 Influence de la nature du polymère

Pour les polymères semi-cristallins (polyoléfines et PET) qui sont les emballages les plus utilisés pour le contact alimentaire, le taux de cristallinité du polymère influence le taux de sorption. Plus la cristallinité du polymère augmente plus la sorption diminue car la sorption a lieu dans les zones amorphes du polymère. Ainsi, pour le PET la sorption sera d'autant plus importante que le taux de cristallinité sera faible, son taux de cristallinité pouvant varier de 20 à 45 % (Van Willige *et al*., 2001).
Lorsque le matériau plastique est à l'état caoutchoutique (T>Tg) à température ambiante (cas des polyoléfines), la quantité de volumes libres dans la structure est plus importante, favorisant ainsi la sorption des composés d'arôme (Landois-Garza et Hotchkiss, 1987). Donc plus la température de transition sera basse et plus la solubilisation des composés d'arôme au sein du matériau sera importante du fait de l'état caoutchoutique du matériau.

2.3.2 Influence des conditions de stockage

Van Willige *et al*. (2001) ont étudié l'influence de la température de stockage sur une solution synthétique contenant dix composés d'arôme au contact de différents emballages plastiques (PEBD, PP, PC, PET et PEN). La sorption des composés d'arôme est moins importante dans le PC, le PET et le PEN, par contre elle est plus fortement influencée par la température dans ces mêmes plastiques. En passant de 4 à 40°C, la sorption totale, après 28 jours de stockage, est multipliée par 13 dans une bouteille de PET. La température favorise la sorption des composés d'arôme dans le PET.
Une étude de Ducruet *et al.* (2001) s'intéresse à l'influence de l'emballage sur la stabilité de l'arôme d'un sirop de fraise pendant la durée de vie du produit. Durant les cinq premiers mois du stockage, les différents emballages testés (verre, PET et PVC) ne présentent pas de

différences importantes. Par contre des différences notables surviennent après 250 et 330 jours de stockage. Après 250 jours, il y a plus d'esters dans le sirop conservé dans le PET que dans le verre. Après 330 jours, il y a plus d'esters dans le sirop conservé dans le verre que dans le PET. La cinétique des transferts est donc différente en fonction de l'emballage utilisé. Ces phénomènes seront à considérer pour déterminer la DLUO, notamment dans le cas de polymères à l'état vitreux comme le PET.

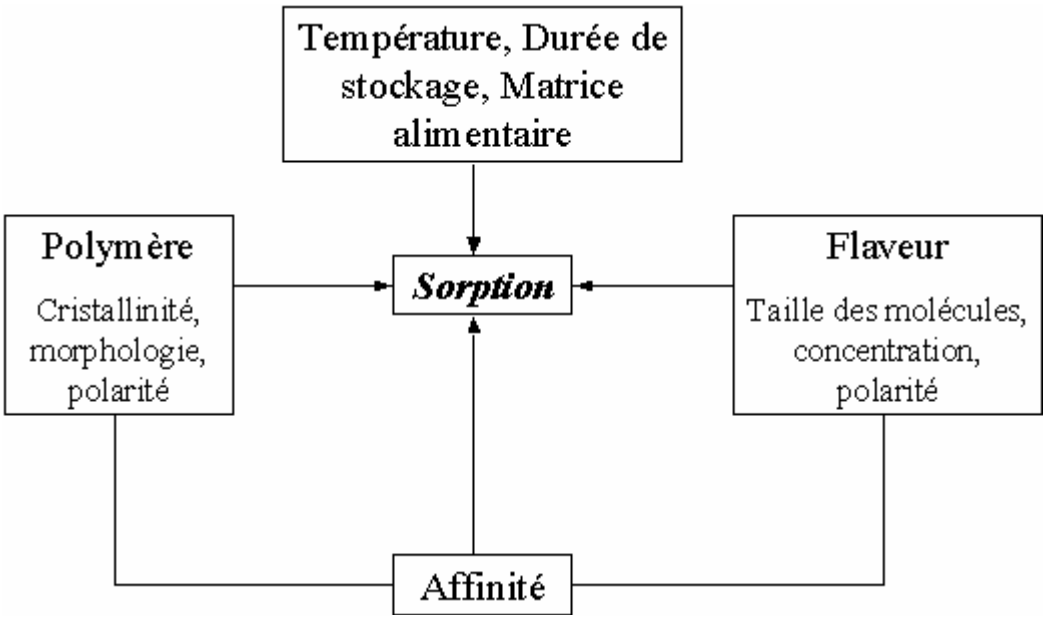


Figure 13. Facteurs influençant la sorption par les polymères plastiques, d'après Van Willige *et al.*, 2000b

2.3.3 Affinité entre le polymère et les composés d'arôme

2.3.3.a En solutions modèles

Il a été montré que les polymères polaires ont tendance à sorber des molécules polaires tandis que les polymères apolaires ont tendance à sorber des molécules apolaires. Par exemple, si les polyoléfines (PP ou PEBD) sorbent plus les composés apolaires comme les esters à longue chaîne, les polymères polaires (PA ou EvOH) sorbent majoritairement les alcools en raison des liaisons hydrogène ou forces de Van der Waals qui peuvent avoir lieu (Nielsen *et al.*, 1992). La sorption des composés d'arôme apolaires comme les terpènes décroît dans les polymères de la façon suivante : PEBD, PEHD, PP, PS, PVC, PC, PET. Une affinité entre le polymère et les composés d'arôme a donc pour effet de modifier le profil aromatique de l'aliment emballé.

Néanmoins, la plupart des études réalisées sur la sorption sont effectuées sur des solutions modèles d'arômes à des concentrations beaucoup plus élevées que dans le cas des matrices alimentaires comme le jus d'orange. Ces concentrations élevées permettent de faciliter les dosages analytiques, mais ne permettent pas d'expliquer les phénomènes mis en évidence sur aliment. D'autre part, ces différentes études ne s'assurent pas toujours de la solubilité des composés d'arômes introduits dans la solution modèle. Si les composés d'arômes sont introduits en excès, ils ne vont pas se solubiliser et la phase huileuse formée peut interagir de manière exagérée et non réaliste avec le matériau d'emballage mis au contact.

2.3.3.b Influence de la matrice alimentaire

La composition de la matrice alimentaire a une influence sur les transferts d'arômes vers l'emballage. Cet effet est double : il peut être à la fois cinétique, par augmentation de la viscosité du milieu (la vitesse de transfert des molécules d'arômes est ralentie) et thermodynamique en modifiant le coefficient de partage de la molécule d'arôme entre le polymère et la solution en contact. Les lipides sont connus pour leur capacité de rétention des composés d'arôme apolaires, et s'opposent à leur transfert vers des matériaux d'emballage apolaires tels que les polyoléfines (Van Willige *et al*., 2000b).

Le jus d'orange est un système hétérogène constitué de 2 phases :
- le sérum : phase aqueuse limpide contenant les composés solubles comme les sucres ou les acides organiques,
- la pulpe (et le trouble) : phase insoluble dans l'eau constituée de particules dont la taille varie de 0,05 µm à quelques centaines de µm (Klavons *et al.*, 1994).

Les différentes tailles de particules présentes dans la pulpe différencient la pulpe de dépôt (250 à 1000 µm), la pulpe flottante (quelques µm à 350 µm) et le trouble (0,4 à 5 µm). Les particules qui constituent le trouble sont connues pour être des protéines, des pectines, de la cellulose et hémicellulose, de l'hespéridine et des lipides (Klavons *et al.*, 1994).
Radford *et al.* ont étudié en 1974 la répartition des composés aromatiques les plus abondants entre la pulpe et le sérum du jus d'orange. La pulpe et le sérum ont été séparés par centrifugation. Ainsi, les composés apolaires comme les terpènes se retrouvent principalement

dans la pulpe tandis que les composés polaires oxygénés (esters et alcools) se retrouvent dans le sérum (Tableau 12).

Ces mêmes auteurs ont également montré que plus la longueur de la chaîne des composés polaires est grande, plus le composé est lié à la pulpe (Radford *et al.*, 1974). En effet plus la longueur de la chaîne est importante plus la molécule acquiert un caractère hydrophobe proche de celui des hydrocarbures terpéniques.
Cette répartition des composés d'arôme a été étudiée plus récemment par Brat *et al*. (2003) entre le sérum, la pulpe et le trouble et ont confirmé une teneur élevée en hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques dans la pulpe par rapport au sérum.

Tableau 12. Répartition des composés aromatiques majoritaires entre la pulpe et le sérum du jus d'orange (d'après Radford *et al*., 1974)

polarité	famille	nom	% dans la pulpe	% dans le sérum
composés apolaires	monoterpènes	myrcène	≈100	nd[a]
		limonène	98	2
		α-pinène	≈100	nd
		sabinène	≈100	nd
	sesquiterpènes	valencène	99	1
composés polaires	alcools	linalol	10	90
	esters	butanoate d'éthyle	nd	≈100
	aldéhyde	octanal	12,5	87,5

a : nd = non détecté

Shimoda *et al.* (1984) ont montré que l'augmentation du taux de pulpe dans le jus d'agrume semble diminuer fortement la sorption des composés aromatiques comme le limonène dans l'emballage. Les composés d'arômes resteraient plus facilement dans le jus car ils seraient retenus par les constituants naturels plutôt que sorbés par le polymère.
Ce phénomène a été observé dans une étude de Leufven et Hermasson (1994) sur du jus de tomate. Les auteurs montrent que la quantité de composés d'arôme sorbés dans le PET était moindre lors du contact avec la matrice réelle que lors du contact avec une solution eau/éthanol. Les interactions entre les composés d'arôme et les différentes phases et constituants s'opposent au transfert vers l'emballage.

2.3.4 Effet de la sorption des composés d'arôme sur la perméabilité à l'oxygène de l'emballage

L'absorption des composés d'arôme par l'emballage plastique peut avoir une incidence non négligeable sur la perméabilité à l'oxygène. Van Willige *et al.* (2002) ont montré que l'absorption des composés d'arôme augmentait la perméabilité à l'oxygène du PP alors qu'elle n'avait pas d'effet sur la perméabilité du PC et du PET. Sadler et Braddock (1990) ont étudié l'absorption du limonène par du PEBD et ont établi une corrélation entre la quantité de limonène absorbée et la perméabilité à l'oxygène du matériau.

Selon Hernandez *et al.* (1999) deux effets possibles peuvent expliquer ce phénomène :

- les composés d'arôme et les molécules d'oxygène seraient en compétition pour les mêmes sites, réduisant de ce fait la solubilité de l'oxygène,
- les composés d'arôme gonfleraient le polymère (phénomène décrit sous le terme de plastification), relâchant la structure et augmentant ainsi le volume libre donc la diffusion de l'oxygène.

Cette augmentation de la perméabilité à l'oxygène au cours du stockage peut être néfaste à la qualité d'un produit comme le jus d'orange, accélérant les phénomènes d'oxydation et donc la perte de qualité nutritionnelle et organoleptique.

2.4 Qualité du jus d'orange conditionné avec un matériau d'emballage au cours du stockage

2.4.1 Influence de la sorption sur la qualité aromatique

La sorption de composés d'arôme par les emballages alimentaires a été étudiée pour la première fois par Dürr *et al*. (1981) avec du jus d'orange conservé dans des bouteilles de PEBD. Ces auteurs ont révélé que la sorption de 40 % du limonène par le PEBD n'avait pas d'influence sur la qualité sensorielle du jus après 90 jours de stockage à 20ºC. Au contraire, Kutty *et al*. (1994) ont mis en évidence que la sorption du limonène dans le PEBD permettait de réduire son oxydation dans le jus et l'apparition de notes négatives. Plus récemment, Siegmund *et al*. (2004) ont révélé des différences sensorielles entre un nectar conservé dans des briques de carton et le même nectar conservé dans des bouteilles de verre pendant 7 semaines à 37ºC avec une meilleure qualité avec le verre. Ces différences sont attribuées à la sorption de composés d'arôme par la couche de PE de la brique. L'effet de la sorption des

composés d'arôme par l'emballage sur la qualité organoleptique des jus demeure donc controversé.

2.4.2 Influence de la perméabilité à l'oxygène du matériau sur les teneurs en vitamine C

Soares et Hotchkiss (1999) ont utilisé des emballages de perméabilités à l'oxygène croissantes pour étudier l'effet de l'entrée d'oxygène sur les teneurs en vitamine C au cours d'un stockage à 7ºC. La teneur en vitamine C était inversement proportionnelle à la valeur de la perméabilité à l'oxygène, aussi bien avec un jus désaéré qu'avec un jus non désaéré. Les récents développements d'emballage barrière à l'oxygène ou absorbeur d'oxygène sont une voie d'amélioration pour réduire l'oxydation des produits sensibles et des marqueurs de qualité, nutritionnel et sensoriel. Les absorbeurs d'oxygène ont pour effet de diminuer la quantité d'oxygène dissous dans le jus ou initialement présente dans l'espace de tête (Zerdin *et al*., 2003). Ces derniers auteurs ont comparé les teneurs en vitamine C d'un jus conservé dans des emballages munis d'absorbeur d'oxygène EvOH/absorbeur/PP avec le même jus conservé dans un emballage EvOH/PP. Les durées de vie respectives des jus étaient 288 jours et 126 jours avec une teneur en vitamine C supérieure à 250 $mg.L^{-1}$ ce qui a montré l'intérêt de l'absorbeur d'oxygène pour allonger la durée de vie du jus d'orange. Polydera *et al*. (2003) ont réalisé la même comparaison entre des emballages en PP et des poches de PE/aluminium barrière à l'oxygène. Les durées de vie basées sur la teneur en vitamine C étaient de 18 et 50 jours à 15ºC, confirmant le rôle protecteur de la barrière à l'oxygène.

Ainsi, nous avons pu voir dans ces travaux bibliographiques que le jus d'orange au cours de son stockage est un milieu très réactif. Ses paramètres de qualité nutritionnelle et organoleptique sont entre autres affectés par la température, la durée du stockage, la teneur en oxygène. La combinaison de ces effets compliquent les phénomènes de perte de qualité observés. L'utilisation d'un emballage en PET provoque de plus des transferts réactifs de matière qui ont été peu abordés dans la littérature. Il y a donc un intérêt à étudier un produit alimentaire réel de grande consommation comme le jus d'orange, en prenant en compte les interactions entre l'emballage et l'aliment et leur répercution sur la qualité globale du produit.

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1 Jus d'orange à base de concentré

1.1.1 Fabrication pilote du jus avec ajout d'arômes

Le jus d'orange est préparé à partir d'un concentré à 66º Brix (Citrovita, Brésil) contenant un mélange de différentes variétés d'oranges [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] : Hamlin (0-10 %), Pera Rio (60 %), Valencia Natal (15-20 %) et Valencia Late (15-20 %). Ce concentré est supplémenté d'une phase aromatique huileuse (0,06 $g.L^{-1}$, Givaudan, Suisse) avant sa dilution par ajout d'eau jusqu'à un Brix de 11,5º. Une deuxième phase aromatique aqueuse est alors ajoutée (1,5 $g.L^{-1}$, Givaudan, Suisse) avant homogénéisation et dégazage par bullage d'azote gazeux jusqu'à une concentration en oxygène dissous dans le jus inférieur à 1 $mg.kg^{-1}$. Le jus reconstitué (pH 3,9) est alors flash-pasteurisé pendant 20 s à 92ºC dans un pasteurisateur tubulaire continu Actijoule® (Actini, Evian, France) puis conditionné à froid (20ºC +/- 2ºC) sous une hotte à flux laminaire dans différents matériaux d'emballage (Figure 14).

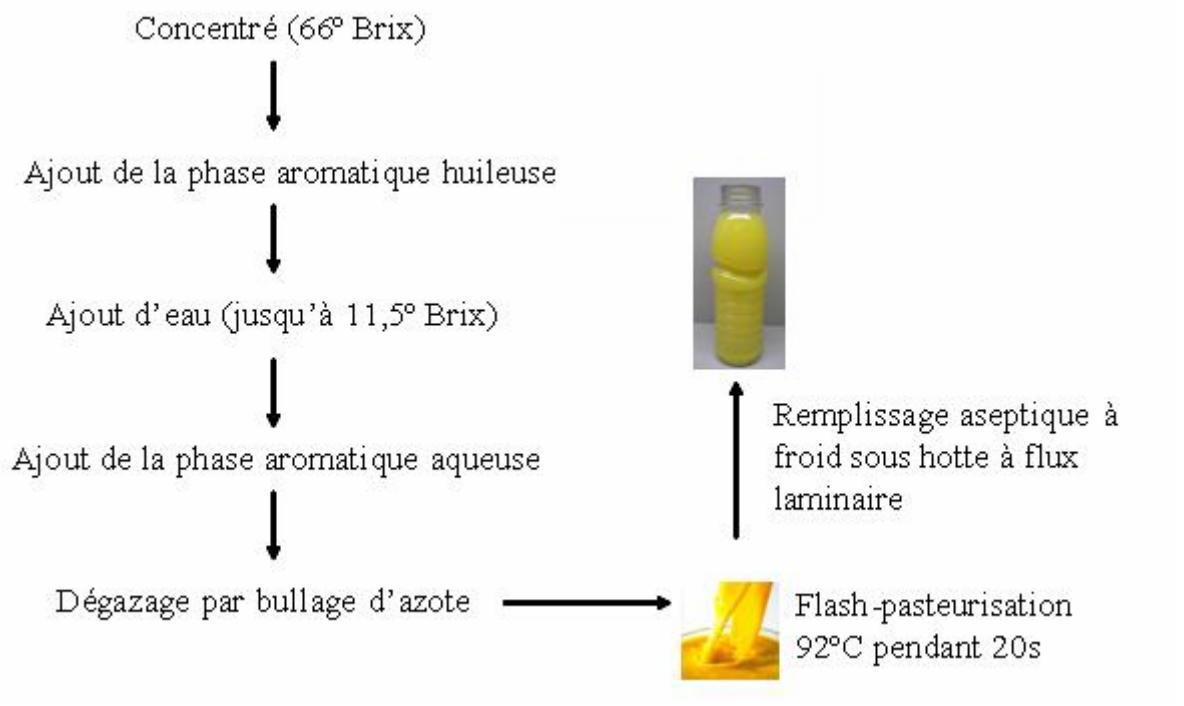


Figure 14. Schéma du procédé de fabrication du pur jus d'orange à base de concentré

1.1.2 Conditionnement du jus à base de concentré

1.1.2.a Bouteilles

1.1.2.a.1 Bouteilles verre

Des bouteilles de verre ordinaire de 0,5 L sont utilisées pour le stockage du jus d'orange à base de concentré, elles constituent l'emballage de référence. Elles sont nettoyées avec une solution d'acide peracétique à 1500 ppm (Divosan, Diversey, Etats-Unis) puis rincées 3 fois avec de l'eau. Après remplissage du jus, elles sont fermées par des capsules métalliques. Le volume de leur espace de tête est de 30 mL (6 % du volume de la bouteille).

1.1.2.a.2 Bouteilles PET

Différents types d'emballage PET contenant un volume de jus de 0,33 L sont utilisés. Les bouteilles sont soufflées à partir des préformes achetées par l'industriel chez les différents fournisseurs. Les principales caractéristiques obtenues sont rapportées dans le Tableau 13. Le premier emballage, noté PET 1, est un standard monocouche (Amcor France, Bierne, France). Le deuxième, noté PET 2, est un multicouche constitué de 2 couches de PET et d'une couche intérieure de Nylon MXD6 contenant un absorbeur d'oxygène. La dénomination commerciale de ce matériau est Bindox® (Amcor Belgique, Brecht, Belgique). Le PET 3 est un emballage monocouche standard traité au plasma possédant une couche de carbone interne d'épaisseur comprise entre 65 et 80 nm dénommé ACTIS Lite™ (Amorphous Carbon Treatment on Internal Surface, Sidel France, Le Havre, France). Le traitement plasma a été réalisé chez Sidel à partir des bouteilles de PET1 fabriquées chez l'industriel. Le dernier PET testé, PET 4, est un monocouche contenant 2,5 % d'une résine absorbant l'oxygène. Le nom commercial de cette bouteille est Amosorb® (Amcor Belgique, Brecht, Belgique). La Figure 15 montre une bouteille de PET1, PET2 et PET4.

Toutes les bouteilles sont nettoyées avec la solution d'acide peracétique (Divosan, Diversey, Etats-Unis) puis rincées 3 fois avec de l'eau. Elles sont fermées après remplissage, soit avec des opercules en aluminium soit avec des bouchons en PEHD (voir 1-2-2). Le volume de l'espace de tête des bouteilles plastiques est de 20 mL soit ~6 % du volume total de la bouteille (0,35 L).

Tableau 13. Caractéristiques principales des bouteilles en PET utilisées

Bouteille	Code	Composition	Poids préforme	Epaisseur moyenne	Densité $kg.m^{-3}$
Monocouche	PET 1	PET	25,3 g	0,40 mm	1350-1360
Multicouche Bindox®	PET 2	PET/PA (Nylon)-absorbeur oxygène/PET	26 g	0,38 mm	1200-1250
ACTIS Lite™	PET 3	PET/dépôt interne de carbone	25,3 g	0,48 mm	1350-1360
Amosorb®	PET 4	PET + 2,5 % résine	21 g		

Figure 15. Bouteilles PET1, PET2 et PET4 (de la gauche vers la droite) ne montrant aucune différence visuelle entre les matériaux plastiques utilisés (la bouteille de PET3 non photographiée est similaire)

1.1.2.b Bouchons

1.1.2.b.1 Opercules en aluminium

Une partie des bouteilles en PET est fermée par des opercules constituées d'un complexe en aluminium (aluminium/PE) pour s'affranchir dans un premier temps de l'effet du bouchon en PEHD et pour étudier uniquement l'effet de la bouteille en PET sur la qualité du jus. Une operculeuse TCE-150 (Embatherm, La Boisse, France) est utilisée pour effectuer le thermo scellage semi-automatique des opercules sur le col de la bouteille en quelques secondes juste après le remplissage du jus.

1.1.2.b.2 Bouchons en PEHD

Différents types de bouchons en PEHD sont testés (Bericap, Longvic, France). Les caractéristiques principales de ces bouchons sont rapportées dans le Tableau 14. La Figure 16 permet d'observer les bouchons A, B et C. Comme pour les bouteilles, les bouchons sont nettoyés avant utilisation avec la solution d'acide peracétique puis rincés. Les bouchons commercialisés en 2005 sont les bouchons A et B, standard et absorbeur d'oxygène.

Tableau 14. Caractéristiques principales des bouchons en PEHD utilisés

Code	Composition	Joint interne	Perméabilité à l'oxygène (cm^3 par 24h)	Prix du moins cher au plus cher
A	PEHD	Pas de joint	0,01135	1
B	PEHD	PEBD avec absorbeur d'oxygène à l'intérieur de la jupe d'étanchéité	nd	3
C	PEHD	PEBD/EvOH/PEBD	0,00673	4
D	PEHD + additifs	Pas de joint	nd	2
E	PEHD et dépôt plasma sur la surface extérieure du bouchon	Joint comme bouchon B	nd	5

nd : valeur non donnée par le fabricant

Figure 16. Bouchon A (orange) en PEHD, B (rouge) PEHD et joint en PEBD blanc avec absorbeur d'oxygène et C (jaune) avec joint multicouche blanc PEBD/EvOH/PEBD

1.1.3 Stockage du jus à base de concentré

Après remplissage, toutes les bouteilles sont conservées chez Délifruits soit :

- à une température ambiante de 20ºC sous éclairage artificiel avec 16 tubes fluorescents blancs de 58W (Prestiflux, Lille, France) émettant une intensité lumineuse de 750 lux mesurée avec un Mastersix (Gossen, Allemagne),
- à une température ambiante de 20ºC sous éclairage artificiel (tubes fluorescents) avec immersion des bouteilles dans l'eau,
- à une température ambiante de 20ºC dans l'obscurité totale.

La durée maximale du stockage est de 9 mois.

1.2 Pur jus d'orange pressé à la main et modulation de son pH

1.2.1 Fabrication et conditionnement en verre

Les oranges [*Citrus sinensis* (L.) Osb., variété Naveline, Espagne] sont pressées « à la main » avec un presse-fruits électrique. Le pH du jus obtenu est de 3,2. Le jus est réparti dans 6 flacons en verre de 200 mL pour effectuer la modulation du pH par ajout de soude. Le premier flacon est conservé au pH initial. Dans les 5 autres flacons, les concentrations des solutions de soude utilisées sont de 5N pour obtenir des pH de 3,5 et 4,0 ; 10N pour un pH de 5,0 et 20N pour des pH de 6,0 et 7,0. Dans tous les cas, le volume de soude ajouté ne dépasse pas 5 mL de sorte que l'effet de dilution soit négligeable. Les flacons sont ensuite fermés avec des capsules métalliques puis pasteurisés par immersion dans un bain d'eau bouillante. Un flacon de jus supplémentaire avec un couvercle percé et un thermomètre permet le suivi de la température au coeur du flacon. Après 5 min, la température dans le cœur de la bouteille atteint 92ºC. Les échantillons sont alors rapidement refroidis dans un bain d'eau froide.

1.2.2 Stockage du pur jus pressé à la main

Les flacons de jus avec différents pH sont stockés à 20ºC sous éclairage artificiel (16 tubes fluorescents blancs de 58W (Prestiflux, Lille, France) émettant une intensité lumineuse de 750 lux mesurée avec un Mastersix (Gossen, Allemagne)) pendant 1 mois.

1.3 Purs jus d'orange industriels

1.3.1 Fabrication sur site

Les jus d'orange sont fabriqués dans une « usine d'extraction » située dans la région de Valencia, en Espagne. Après triage, nettoyage et calibrage, les oranges [*Citrus sinensis* (L.) Osb., variété Naveline, Espagne] sont introduites dans des extracteurs FMC (Food Machinery Corporation, Etats-Unis) et permettent d'obtenir un jus frais à 12 % (m/m) de pulpe (A1). Deux autres jus frais contenant 6 % (m/m) de pulpe sont obtenus à partir de (A1) : (B1) est obtenu en utilisant un module de finition (Finisher) Paddle UPF-200 (Food Machinery Corporation, Etats-Unis) avec un diamètre des mailles du tamis de 0,2 mm puis une centrifugeuse Westfalia SA-45-06-076 (5000 r.p.m); (C1) est obtenu en utilisant le même module de finition mais avec un diamètre des mailles du tamis de 0,1 mm et pas de centrifugation (Figure 17). Les 3 jus frais (A1), (B1) et (C1) sont flash-pasteurisés dans des échangeurs thermiques à plaques pendant 20 s à 98ºC (barème choisi et appliqué normalement

par l'industriel) donnant respectivement les jus (A2), (B2) et (C2). Aucun ajout exogène d'arôme n'a été effectué dans ces jus.

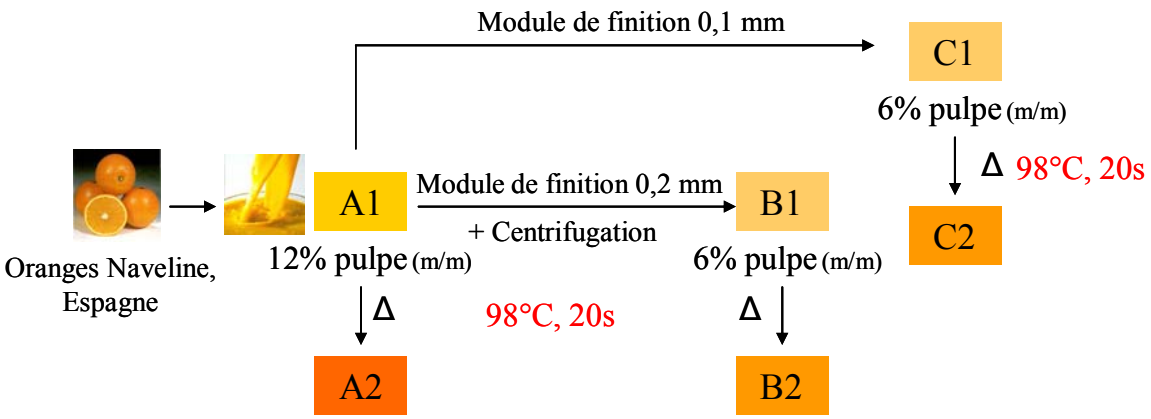


Figure 17. Schéma du procédé de fabrication des purs jus d'orange industriels

1.3.2 Conditionnement des purs jus industriels

500 mL de jus sont répartis dans des bouteilles de 1L en verre. Un inertage de l'espace de tête est réalisé avec de l'azote gazeux puis la bouteille est fermée par une capsule métallique avant sa congélation à -20ºC. Une journée après la mise en congélation, les bouteilles sont envoyées en express (24h) en France dans des boîtes isothermes pour maintenir la congélation.

2.1.3 Détermination du taux de pulpe et séparation des fractions pulpe/trouble/sérum

2.1.3.a Jus à base de concentré

Le jus est centrifugé pendant 15 min à 1300*g* à 4ºC avec une centrifugeuse Sorvall® RC 5B (Sorvall, Thermo Electron Corporation, Etats-Unis ?) pour séparer la pulpe du surnageant. Ce dernier subit alors une nouvelle centrifugation pendant 30 min à 24000*g* avec la même centrifugeuse pour récupérer le trouble. Le surnageant est alors limpide, blanc pâle, il constitue le sérum. Sa densité optique mesurée à 600 nm est inférieure à 0,05 (Brat et al, 2003). Chaque fraction (pulpe, trouble, sérum) est alors pesée et les pourcentages respectifs de distribution en masse sont calculés. Les fractions de jus sont congelées à -20ºC jusqu'à leur utilisation.

2.1.3.b Purs jus industriels

Les purs jus industriels sont centrifugés à 1300*g* à 4ºC pendant 15 minutes en utilisant une centrifugeuse Sorvall® Heraeus T21 (Sorvall, Thermo Electron Corporation, Etats-Unis). La pulpe déposée dans les différents flacons est récupérée et pesée. La deuxième centrifugation s'effectue à 18000*g* à 4ºC pendant 30 min avec une centrifugeuse Beckman J2-21 (Beckman Coulter, Etats-Unis). Chaque fraction (pulpe, trouble, sérum) est alors pesée et les pourcentages respectifs de distribution en masse sont calculés. Les fractions de jus sont congelées à -20ºC jusqu'à leur utilisation.

2.1.4 Mesure de la répartition de taille des particules dans les purs jus industriels

La répartition de taille des particules est mesurée sur les jus industriels entiers (A1), (A2), (B1), (B2), (C1) et (C2). Elle est effectuée à température ambiante en utilisant un granulomètre laser Mastersizer MS 1000 (Malvern Instruments, Orsay, France). La zone de mesure des diamètres de particules est comprise entre 0,1 et 100 µm. 10 mL de jus sont ajoutés dans les ~120 mL d'eau distillée introduits préalablement dans l'appareil. Le mélange obtenu est agité, pompé et passe au travers de la cellule de mesure. Le logiciel de traitement fournit une courbe de répartition de taille de particules sur la zone de diamètres étudiée.

2. Méthodes

2.1 Jus d'orange

2.1.1 Détermination de la teneur en acide ascorbique

Principe : La teneur en acide ascorbique est mesurée par la méthode de titration au 2,6-dichloroindophénol. La méthode consiste en une réduction du 2,6-dichloroindophénol et en une oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique. Elle permet donc une détermination de la teneur en vitamine C sous sa forme réduite (acide ascorbique). Une fois que l'oxydation de l'acide ascorbique est terminée, le 2,6-dichloroindophénol sert d'indicateur coloré et sa présence en solution acide donne une couleur rose caractéristique (AOAC, 1984).

Protocole :

Préparation d'une solution d'acide métaphosphorique/acide acétique

15 g d'HPO_3 solide sont dissous dans 40 mL d'acide acétique et 200 mL d'eau distillée. Le volume est ensuite porté à 500 mL par ajout d'eau distillée. Comme l'acide métaphosphorique se transforme lentement en H_3PO_4, la solution obtenue est conservée une semaine maximum dans le réfrigérateur à 5ºC.

Préparation d'une solution standard d'acide ascorbique

50 mg d'acide ascorbique sont pesés avec précision et dilués avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée de 50 mL protégée de la lumière.

Préparation d'une solution d'indophénol

50 mg de sel de 2,6-dichloroindophénol sodium sont dilués dans 50 mL d'eau distillée contenant 42 mg de NaHCO3 puis sont mélangés vigoureusement. Le volume est ensuite porté à 200 mL par ajout d'eau distillée, puis filtré avant d'être conservé au réfrigérateur à 5ºC.

Les 3 premiers dosages sont effectués avec la solution standard d'acide ascorbique pour connaître la concentration d'indophenol en mg d'acide ascorbique équivalent à 1,0 mL de réactif. Pour se faire, 5,0 mL de la solution d'acide métaphosphorique/acide acétique sont ajoutés dans 3 erlenmeyers de 50 mL. Cet ajout permet de tamponner le milieu. 2,0 mL de la solution standard d'acide ascorbique sont ajoutés dans chaque erlenmeyer puis rapidement titrés avec la solution d'indophenol jusqu'à ce qu'une teinte rose persiste plus de 5 sec. Pour déterminer la teneur en acide ascorbique des jus d'orange, les 2 mL de la solution d'acide

ascorbique sont remplacés par 2,0 mL de jus. Pour les purs jus dont les pH sontcompris entre 5,0 et 7,0, le volume ajouté est porté à 10 mL.
Chaque analyse est répétée une fois (2 mesures) sur 3 bouteilles différentes pour chaque jus étudié, soit avec le jus d'orange à base de concentré, soit avec le pur jus d'orange.

2.1.2 Evaluation de la couleur du jus

2.1.2.a Mesure de la couleur du jus à base de concentré dans l'espace CIE L*a*b*

Les valeurs de L*, a* et b* sont mesurées avec un colorimètre X-Rite 3200 (X-Rite, Etats-Unis). Chaque mesure est répétée 3 fois en effectuant une mesure sur 10 g de jus de chacune des 3 bouteilles prélevées après un temps de stockage de 2, 3, 6 et 9 mois. CIE L*a*b* est un modèle de représentation des couleurs développé par le CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) en 1976. La composante L* est la luminance, qui va de 0 (noir) à 100 % (blanc). La composante a* représente la gamme de l'axe rouge (127) au vert (-128) en passant par le blanc (0) si la luminance vaut 100 %. La composante b* représente la gamme de l'axe jaune (127) au bleu (-128) en passant par le blanc (0) si la luminance vaut 100 %.
La valeur de ΔE* est également calculée avec :

Équation 4 $$\Delta E^* = [(L^*_1-L^*_2)^2 + (a^*_1-a^*_2)^2 + (b^*_1-b^*_2)^2]^{(1/2)}$$

Où L^*_1, a^*_1, b^*_1 sont les composantes de l'échantillon de référence dans l'espace CIE L*a*b* et où L^*_2, a^*_2, b^*_2 sont les composantes de l'échantillon mesuré.
Ainsi, ΔE* représente la distance euclidienne entre 2 points dans l'espace Lab. Cette valeur rend compte de l'écart global de couleur de l'échantillon par rapport à un échantillon de référence. Dans notre étude, le jus à base de concentré au temps t_0 est pris pour référence pour le calcul de ΔE*.

2.1.2.b Détermination de l'indice de brunissement

Les purs jus d'orange sont centrifugés à 2000*g* pendant 15 min à 4ºC dans une centrifugeuse Avanti® J-E (Beckman Coulter, Fullerton, Etats-Unis). Le supernageant est récupéré et filtré (0,45 µm, Milipore, Etats-unis) et dilué 2 fois avec de l'eau ultrapure. L'indice de brunissement correspond à l'absorbance mesurée à 420 nm (Lee et Chen, 1998) sur 3 bouteilles différentes avec le spectrophotomètre CECIL CE 7200 (7000 Series Aquarius, Cecil Instruments, Angleterre). Le spectrophotomètre a préalablement été calibré avec de l'eau ultrapure.

2.1.5 Extraction par un mélange azéotropique de solvants et analyse des composés d'arôme du jus d'orange

2.1.5.a Extraction du jus à base de concentré

10 µL d'une solution de n-hexanol à 3,0 $mg.mL^{-1}$ dans le pentane/éther 1:1, v/v sont ajoutés comme étalon interne à 60 g de jus d'orange. Le mélange est successivement extrait 3 fois en utilisant 50 mL de pentane/éther (1:1, v/v) pendant 30, 15 et 15 minutes sous agitation magnétique et à température ambiante. Après chaque extraction, l'émulsion est cassée par congélation 1h à -20ºC puis décongélation à température ambiante. Les phases organique et aqueuse sont séparées par décantation. Les trois phases organiques obtenues sont réunies, séchées sur sulfate de sodium anhydre puis concentrées à 38ºC jusque 1 mL en utilisant une colonne de distillation de Vigreux de 25 cm.

2.1.5.b Extractions des phases aromatique aqueuse et huileuse utilisées dans la formulation du jus à base de concentré

1 g de la fraction aromatique aqueuse (Givaudan, Suisse) est dilué dans 100 mL d'eau ultrapure et 10 µL d'une solution de n-hexanol à 3,0 $mg.mL^{-1}$ dans le pentane/éther 1:1, v/v sont ajoutés comme étalon interne. Trois extractions successives sont réalisées avec 30, 20 et 20 mL de pentane/éther pendant 15 minutes à chaque fois sous agitation magnétique et à température ambiante.

Pour la phase huileuse (Givaudan, Suisse), 100 mg sont dilués dans 10 mL de pentane/éther (1 :1, v/v), les 10 µL de n-hexanol sont ajoutés et les 3 répétitions successives avec le pentane/éther sont effectuées comme pour la phase aqueuse.

2.1.5.c Extraction du pur jus avec un Potter Elvejhem

1 mL d'une solution de pentanoate de butyle à 80 $mg.mL^{-1}$ dans le pentane/éther (1:1, v/v) est ajouté comme étalon interne à 10 g de pur jus d'orange. La solution est successivement extraite 2 fois en utilisant 50 mL de pentane/éther (1:1, v/v) pendant 5 min avec un Potter Elvejhem (Figure 18). Cette technique permet d'écraser les particules de pulpe du jus et donc d'effectuer une extraction rapide et efficace des composés d'arôme. La fin du protocole est identique à celui décrit pour le jus à base de concentré.

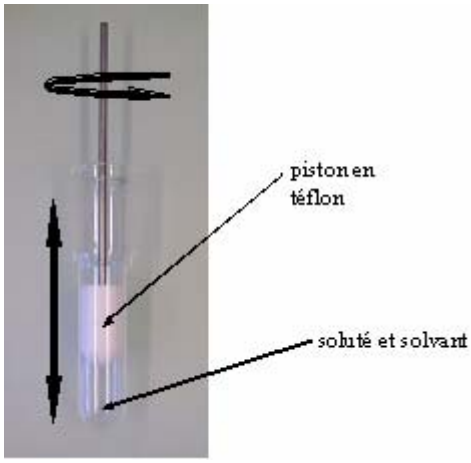


Figure 18. Le Potter Elvejhem

2.1.5.d Analyse CPG/SM

Les extraits sont analysés par injection de 1 µL dans un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 6890 couplé à un spectromètre de masse Hewlett-Packard 5973 fonctionnant en mode impact électronique (EI). Une colonne capillaire DB-Wax (30 m x 0,25 mm d.i x 0,25 µm épaisseur de phase ; J&W Scientific, Folsom, CA, Etats-Unis) est utilisée. Les spectres de masse sont enregistrés 4 fois par seconde entre 20 et 400 u.m.a. Les conditions opératoires sont :

- température de la source : 230ºC,
- température du quadrupole : 150ºC,
- énergie : 70 eV,
- courant d'émission du filament : 1 mA,
- température du four : 40ºC à 250ºC à 3ºC.min^{-1} puis 20 min à 250ºC,
- température de l'injecteur on-colonne : de 20ºC à 245ºC à 180ºC.min^{-1},
- température du détecteur : 245ºC,
- gaz vecteur : He à 1,1 mL.min^{-1}.

Les composés d'arôme ont été identifiés sur la base de leurs indices de rétention linéaire (IRL) calculés à partir des temps de rétention (référence : *n*-alcanes C_5-C_{27}) et comparés aux IRL de la littérature (Jennings et Shibamoto 1980, Kondjoyan et Berdagué 1996, INRA mass…) mais également par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux obtenus dans la base de données Wiley 275.L et par injection de molécules de référence.

2.1.6 Extraction SPME des purs jus d'orange

2.1.6.a Protocole expérimental

Les composés volatils de l'espace de tête sont extraits par une fibre triple de longueur 2 cm et d'épaisseur 50/30 µm Divinylbenzène-Carboxen-Polydiméthylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, Bellefonte, PA, Etats-Unis). Toutes les fibres utilisées sont conditionnées avant utilisation dans l'injecteur d'un chromatographe pendant 1h à 270ºC. Les extractions SPME sont réalisées sur 10 g de jus contenu dans un flacon de 40 mL muni d'un bouchon en PTFE et d'une vanne Mininert® (Supelco, Bellefonte, PA, Etats-Unis). Le flacon est incubé à 40ºC dans un bain d'eau sous agitation magnétique puis la fibre est exposée à l'espace de tête. Les deux conditions testées sont : 15 min d'incubation puis 5 min de temps d'exposition de la fibre, 5 min de temps d'incubation et 2 min d'exposition de la fibre. Après chaque extraction, la fibre est rétractée puis insérée dans l'injecteur d'un chromatographe pour désorption thermique à 250ºC pendant 2 min. Elle est finalement reconditionnée pendant 4 min à 270ºC dans un autre injecteur avant une nouvelle utilisation.

2.1.6.b Analyse CPG/SM

Un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 6890 couplé à un spectromètre de masse Hewlett-Packard 5973 fonctionnant en mode impact électronique (EI) est utilisé. Une colonne capillaire DB-Wax (30 m x 0,32 mm d.i x 0,50 µm épaisseur de phase ; J&W Scientific, Folsom, CA, Etats-Unis) est utilisée. Les spectres de masse sont enregistrés entre 20 et 400 u.m.a. les conditions opératoires sont :

- température de la source : 230ºC,
- température du quadrupole : 106ºC,
- énergie : 70 eV,
- température du four : 40ºC pendant 5 min, puis à 5ºC.min^{-1} jusque 160 ºC puis à 8ºC.min^{-1} jusque 240ºC,
- température de l'injecteur : 250ºC,
- température du détecteur : 250ºC,
- gaz vecteur : He à pression constante à la vitesse linéaire à 40ºC de 40 cm.sec^{-1}.

Les composés d'arôme ont été identifiés sur la base de leurs indices de rétention linéaire (IRL) calculés à partir des temps de rétention (référence : *n*-alcanes C_5-C_{27}) et comparés aux IRL de la littérature (Jennings et Shibamoto 1980, Kondjoyan et Berdagué 1996, INRA

mass…) mais également par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux obtenus dans la base de données Wiley 138.L et par injection de molécules de référence.

2.1.6.c Analyse olfactométrique des extraits SPME

2.1.6.c.1 CPG/Olfactométrie Directe et représentativité des extraits

La méthode d'Olfactométrie Directe est utilisée pour évaluer la représentativité sensorielle des extraits SPME des purs jus d'orange industriels. Un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 5890 est équipé d'une colonne de silice désactivée (60 cm x 0,32 mm diamètre intérieur ; Supelco, Bellefonte, PA, Etats-Unis) entre l'injecteur et la canne d'olfaction. L'injection se fait en mode splitless à 250ºC pendant 1 min et la fibre est laissée 2 min dans l'injecteur. La température du four est maintenue à 50ºC. La ligne de transfert entre le chromatographe et la canne d'olfaction est maintenue à 250ºC. Les juges évaluent la représentativité de l'odeur globale perçue par flairage dans la canne d'olfaction. Au niveau de celui-ci, de l'air humidifié est ajouté au gaz vecteur avec un débit de 100 $mL.min^{-1}$.

Sélection du jury

10 juges déjà familiers du dispositif d'Olfactométrie Directe sont recrutés. Ils sentent le jus de référence à 6 % de pulpe et pasteurisé (B2) contenu dans un gobelet en plastique fermé par un couvercle percé de 10 trous. Ce couvercle percé permet au juge de sentir le jus par pression exercée sur le gobelet. Sans ce couvercle, l'intensité aromatique perçue au dessus du jus était trop forte et le juge saturait rapidement. Un extrait SPME est préparé par exposition de la fibre pendant 5 min dans l'espace de tête d'un flacon contenant 10 g de jus (B2) préalablement équilibré pendant 5 min à 40ºC. Le juge doit ensuite sentir dans la canne d'olfaction l'odeur globale de cet extrait et noter la similarité entre les 2 odeurs. Pour se faire, il utilise une échelle de 10 cm délimitée de gauche à droite de 0 à 10. La note 0 correspond à une odeur très proche de la référence (gobelet) et la note 10 à une odeur très éloignée. Les distances obtenues sont ensuite converties en score de 0 à 10. La première session permet la familiarisation des juges avec le dispositif, l'exercice demandé et le type d'odeur perçue. Pendant les sessions de sélection, les 10 juges répètent 3 mesures par jour pendant 3 jours avec le même jus de référence (B2). Le gobelet de jus de référence (B2) est renouvelé tous les 2 juges. Les juges sont sélectionnés si l'écart-type de la moyenne des notes obtenues est inférieur ou égal à 1 cm sur l'échelle de mesure. 6 personnes (4 femmes et 2 hommes) sont retenues sur les 10 ayant participées au test de sélection.

Choix des conditions d'extraction

Une fois le jury sélectionné, les conditions d'extraction sont optimisées. Le but est de définir les temps d'incubation et d'exposition de la fibre permettant la meilleure représentativité d'odeur des extraits. Le même jus de référence (B2) est utilisé dans un gobelet plastique muni d'un couvercle percé. Les 2 conditions testées sont : 15 min d'incubation puis 5 min de temps d'exposition de la fibre et 5 min de temps d'incubation et 2 min d'exposition de la fibre. Pendant une séance, chaque juge note la représentativité de 7 extraits par rapport au gobelet de référence. Le premier extrait n'est pas pris en compte dans les résultats mais il est utile pour rappeler au juge les conditions du test. Parmi les 6 extraits SPME suivants, 3 sont obtenus avec 15 min d'incubation puis 5 min de temps d'exposition de la fibre et 3 avec 5 min de temps d'incubation et 2 min d'exposition de la fibre. Les 6 extraits sont présentés dans un ordre aléatoire à chaque juge.

Tests de discrimination des purs jus industriels par CPG/Olfactométrie Directe

Discrimination entre les jus pasteurisés

Le premier test de discrimination est réalisé avec les jus pasteurisés (A2), (B2) et (C2). Comme pour la session de choix des conditions, le gobelet de référence est le jus (B2) et les juges sentent 7 extraits SPME. Parmi les 6 extraits retenus, 2 de chaque correspondent à chaque jus et l'ordre de présentation est aléatoire. L'échelle de notation de 10 cm est conservée. Chaque juge effectue une séance de mesure par jour pendant 2 jours.

Discrimination entre un jus frais et le même jus pasteurisé

Le second test de discrimination est réalisé avec les 3 couples : (A1) et (A2), (B1) et (B2), (C1) et (C2) soit chaque jus avant et après pasteurisation. Dans ce test, le gobelet de référence n'est pas utilisé. Le juge doit noter la similarité entre 2 extraits SPME sentis successivement dans la canne d'olfaction. Les 2 extraits SPME correspondent à un couple de jus avant-après pasteurisation. Pendant une séquence, chaque couple de jus est évalué une fois, soit 6 extraits sentis. Chaque juge effectue une séquence de mesure par jour pendant 4 jours.

2.1.6.c.2 CPG/Olfactométrie

Les extraits SPME sont analysés dans un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 5890 équipé d'une colonne capillaire DB-WAX (30 m x 0,32 mm diamètre intérieur x 0,50 µm épaisseur de film ; Supelco, Bellefonte, PA, Etats-Unis), d'un injecteur split/splitless avec un temps de purge de 0,5 min, et d'un détecteur à ionisation de flamme (DIF) chauffé à

250ºC. Au niveau du port de flairage, de l'air humidifié est ajouté au gaz vecteur avec un débit de 100 mL.min^{-1}. Le gaz vecteur est l'hydrogène à pression constante avec une vitesse linéaire de 37 cm sec^{-1} à 40ºC. La ligne de transfert entre le chromatographe et la canne d'olfaction est maintenue à 250ºC. L'effluent du chromatographe est partagé (1:1) entre le détecteur DIF et le port de flairage. La température du four est maintenue à 40ºC pendant 5 min puis est augmentée jusqu'à 160ºC à 5ºC.min^{-1} puis à 8ºC.min^{-1} de 160 à 240ºC.
Un jury de 7 personnes (les 6 personnes des tests de discrimination plus 1 personne) est constitué. La durée de la séance de flairage est de 30 min. Les juges annoncent avec un microphone à déclenchement automatique le temps où une odeur est perçue et qualifie l'odeur par un ou plusieurs descripteurs. Les résultats sont évalués en fréquence de détection pour un composé donné (nombre de fois où un juge perçoit une odeur). Chacun des 7 juges répète 2 fois la séance pour un même jus, la fréquence de détection maximale est donc de 14 pour un jus.

2.1.7 Mesure des coefficients de partage des composés d'arôme par la méthode de Variation du Rapport de Phase (PRV)

2.1.7.a Méthode

Le coefficient de partage K d'un composé d'arôme présent dans un milieu liquide peut être défini comme le rapport entre sa concentration en phase vapeur dans l'espace de tête C^*_G et sa concentration à l'équilibre en phase liquide C^*_L à l'équilibre :

Équation 5

$$K = \frac{C^*_G}{C^*_L}$$

L'évolution d'un coefficient de partage pour un composé d'arôme renseigne donc sur l'évolution de son partage entre les phases vapeur et liquide et traduit une libération ou au contraire une rétention de ce composé d'arôme dans le milieu. Ainsi, avec C^*_L constant :

- si K augmente, la concentration en composé de la phase gaz C^*_G augmente, le composé est donc plus facilement libéré,
- Si K diminue, C^*_G diminue, le composé est plus facilement retenu.

Voici les définitions et relations qui ont amenées à l'établissement de cette relation :

Équation 6

$$C_L = \frac{m_L}{V_L}$$

C_L : concentration initiale du composé volatil exprimée en masse par volume

m_L : masse initiale du composé volatil dans l'échantillon

V_L : volume d'échantillon introduit dans le vial

Le coefficient de partage liquide/vapeur k est défini ainsi :

Équation 7

$$k = \frac{C_L}{C_G}$$

Le rapport de phase β est défini pour l'échantillon par :

Équation 8

$$\beta = \frac{V_G}{V_L}$$

Les deux concentrations peuvent être aussi définies comme :

Équation 9

$$C_L^* = \frac{m_L^*}{V_L}$$

Équation 10

$$C_G^* = \frac{m_G^*}{V_G}$$

avec m_L^* : masse à l'équilibre du composé volatil dans la phase liquide

m_G^* : masse à l'équilibre du composé volatil dans la phase vapeur

Nous pouvons alors exprimer k de la manière suivante :

Équation 11

$$k = \frac{C_L^*}{C_G^*} = \frac{m_L^*}{m_G^*} \cdot \frac{V_G}{V_L} = \frac{m_L^*}{m_G^*} \cdot \beta$$

Or

Équation 12 $$m_L = m_L^* + m_G^*$$

Équation 13 $$\frac{m_L}{V_L} = \frac{m_L^*}{V_L} + \frac{m_G^*}{V_L}$$

Or $V_L = V_G / \beta$, donc,

Équation 14 $$\frac{m_L}{V_L} = \frac{m_L^*}{V_L} + \frac{m_G^*}{V_G} \cdot \beta$$

D'où

Équation 15 $$C_L = C_L^* + C_G^* \cdot \beta$$

De plus, comme $C_L^* = k \cdot C_G^*$, nous avons donc :

Équation 16 $$C_L = k \cdot C_G^* + C_G^* \cdot \beta = C_G^* (k + \beta)$$

A partir de cette équation, C_G^* peut être exprimé ainsi :

Équation 17 $$C_G^* = \frac{C_L}{k + \beta}$$

Cette Équation 17 a éte établie par Ettre et Kolb (1991). En prenant l'inverse de l'Équation 17, on obtient :

Équation 18 $$\frac{1}{C_G^*} = \frac{k}{C_L} + \frac{1}{C_L} \cdot \beta$$

En analyse d'espace de tête, l'aire du pic chromatographique A est proportionnelle à la concentration du composé dans l'espace de tête à l'équilibre. En notant le facteur de proportionnalité fi, on obtient :

Équation 19 $$A = fi \cdot C_G^*$$

En substituant C_G^* par A/fi, l'Équation 18 devient :

Équation 20 $$\frac{1}{A} = \frac{k}{fi \cdot C_L} + \frac{1}{fi \cdot C_L} \cdot \beta$$

Cette Équation 20 a été établie par Ettre et Kolb (1993). En considérant une solution aqueuse d'un composé d'arôme de concentration initiale C_L distribuée dans des flacons avec différents volumes, on peut présumer que la concentration initiale C_L est la même dans tous les flacons ainsi que k à une température donnée, les seules variables étant β et A. En d'autres termes, l'Équation 20 est une équation linéaire du type suivant :

Équation 21 $$1/A = a + b \cdot \beta$$

Avec $a = k / (fi \cdot C_L)$ et $b = 1 / (fi \cdot C_L)$
D'où,

Équation 22 $$k = a / b$$

k est calculé à partir des valeurs de a et b obtenues en représentant 1/A en fonction de β.
Ensuite l'inverse de k est calculé pour obtenir K qui est plus généralement utilisé dans la littérature. Cette méthode de traitement est la méthode linéaire.

2.1.7.b <u>Analyse sur le jus à base de concentré</u>

2.1.7.b.1 Jus entier

Les coefficients de partage de 7 composés d'arôme sont déterminés par la méthode PRV dans le jus d'orange à base de concentré. Le concentré (66º Brix) conservé à -20ºC est supplémenté de la phase huileuse (0,06 g .L^{-1}, Givaudan, Suisse), agité puis dilué jusqu'à 11,5ºBrix avec de l'eau distillée avant l'ajout de la phase aqueuse (1.5 g.L^{-1}, Givaudan, Suisse). Le jus d'orange

est placé dans un bêcher et est agité magnétiquement pendant toute la durée de préparation des échantillons. Le jus est ensuite réparti dans des flacons à sertir de 22 mL (Agilent, Etats-Unis) à l'aide d'une dispensette automatique. Les volumes de jus introduits sont 1 ; 2 ; 3 et 4 mL, ils correspondent respectivement à des rapports de volumes gaz/liquide (rapports de phase β) de 21 ; 10 ; 6,3 et 4,5. Ces 4 rapports de phase correspondent à une série de mesure. Les flacons sont placés une nuit à 30ºC puis sont thermostatés 2h à 45ºC pour mise à l'équilibre des composés d'arôme. Pour une mesure de K d'un composé d'arôme dans un jus donné, 3 séries de mesure sont effectuées et dans chacune d'elle chaque rapport de phase est répété 2 fois. Ainsi, 30 flacons sont préparés et placés sur le plateau de prélèvement automatique.

2.1.7.b.2 Sérum, sérum + pulpe, sérum + trouble

Les fractions de pulpe, trouble et sérum du jus à base de concentré « standard » sont séparées comme décrit dans le paragraphe 2.1.3.1. Les mesures de coefficients de partage sont dans un premier temps effectuées sur le sérum seul comme décrit dans le paragraphe ci-dessus. Puis du sérum est supplémenté soit en pulpe soit en trouble. La masse de pulpe ajoutée est 2 fois plus importante que la masse de trouble (en poids humide) et correspondent respectivement à 9,6 % et 5 % de la masse totale. Ces pourcentages correspondent à un jus contenant 2 fois plus de pulpe que le jus initial et à un jus contenant 10 fois plus de trouble que le jus initial. Les prélèvements de l'espace gazeux et les mesures sont effectués comme pour le jus entier.

2.1.7.c Analyse sur les purs jus industriels entiers

Le jus d'orange est placé dans un bêcher et est agité magnétiquement pendant toute la durée de préparation des échantillons. Le prélèvement de jus est effectué avec une pipette Pasteur de diamètre élargi pour ne pas bloquer le passage des particules de pulpe. Le jus est ensuite réparti dans des flacons à sertir de 22 mL (Agilent, Etats-Unis). La cinétique de mise à l'équilibre des composés d'arôme dans l'espace de tête du flacon est étudiée en testant différentes durées d'équilibrage avec 4 mL de jus soit un rapport de volume gaz/liquide de 4,5; la méthode retenue comprend un temps d'équilibrage de 3h à 40ºC.

Les coefficients de partage de 7 composés d'arôme sont déterminés par la méthode de Variation du Rapport de Phase dans le jus d'orange. Les volumes de jus introduits sont 0,5 ; 1 ; 2 ; 3 et 4 mL, ils correspondent respectivement à des rapports de volumes gaz/liquide (rapports de phase) de 43 ; 21 ; 10 ; 6,3 et 4,5. Ces 5 rapports de phase correspondent à une série de mesure. Les masses de jus réellement introduites avec la pipette Pasteur (environ 0,5 ;

1 ; 2 ; 3 et 4 g) sont pesées avec précision et les aires obtenues sont toutes ramenées aux rapports de phase préalablement choisis en tenant compte de la densité de chaque jus.
Pour une mesure de K d'un composé d'arôme dans un jus donné, 3 séries de mesure sont effectuées et dans chacune d'elle chaque volume est répété 2 fois. Ainsi, 30 flacons sont préparés et placés sur la table de prélèvement automatique où ils sont conservés à 4ºC jusqu'au moment du prélèvement de l'espace de tête.

2.1.7.d Instrumentation

2.1.7.d.1 Analyse HS40 et CPG/DIF du jus à base de concentré

Les prélèvements de l'espace de tête sont automatisés avec un HS 40 XL (Perkin Elmer, Etats-Unis) puis injectés dans un chromatographe en phase gazeuse équipé d'un Détecteur à Ionisation de Flamme. Le temps de pressurisation de l'échantillon est de 2 min et le temps d'injection de 0,1 min. Le gaz utilisé pour la pressurisation est l'hélium. Une colonne capillaire DB-FFAP (Supelco, France) est utilisée (longueur : 30 m, diamètre interne : 0,32 mm, épaisseur de phase stationnaire : 1 µm). Les conditions de programmation du four sont : 40ºC à 75ºC à 4ºC.min^{-1} maintenu pendant 4 min puis montée à 6ºC.min^{-1} jusque 120ºC. Le gaz vecteur est l'hélium à un débit constant de 2 mL.min^{-1}. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont de 250ºC. Pour le détecteur DIF, les débits d'air et d'hydrogène sont respectivement de 450 et 45 mL.min^{-1}.

2.1.7.d.2 Analyse Combipal et CPG/DIF des purs jus industriels

Les prélèvements de l'espace de tête des flacons sont automatisés en utilisant un appareil automatique Combi PAL Multi Purpose Sampler 2 (Gerstel, Etats-Unis) munie d'une seringue à gaz de 2,5 mL qui prélève un volume de 1,5 mL de l'espace de tête et l'injecte dans un chromatographe en phase gazeuse HP 6890 (Agilent, Etats-Unis) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. Une colonne capillaire DB-FFAP (Supelco, France) est employée (longueur : 30 m, diamètre interne : 0,32 mm, épaisseur de phase stationnaire : 1 µm). Les conditions de programmation du four sont : 35ºC pendant 4 min, puis montée à 4ºC.min^{-1} jusque 75ºC maintenu pendant 4 min puis montée à 6ºC.min^{-1} jusque 200ºC. L'injection se fait en mode splitless. Le gaz vecteur est l'hydrogène à un débit constant de 3,2 mL.min^{-1}. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont de 260 et 250ºC. Pour le détecteur DIF, les débits d'air et d'hydrogène sont respectivement de 450 et 40 mL.min^{-1}.

2.1.7.e Identification indirecte de plusieurs composés d'arôme

L'identification des composés présents dans l'espace de tête du flacon de jus d'orange est réalisée par comparaison du profil obtenu avec le profil du même jus obtenu par injection à la seringue à gaz sur un chromatographe en phase gazeuse GC 8000 couplé à un spectromètre de masse Fisons MD800 mais aussi sur le profil du chromatographe par le calcul des indices de rétention linéaire de Kovats (IRL) calculés à partir des temps de rétention (référence : *n*-alcanes C_6-C_{28}) et comparés aux IRL de la littérature (Jennings et Shibamoto 1980, Kondjoyan et Berdagué 1996, INRA mass) et par injection des molécules de référence. Les caractéristiques des principaux composés d'arôme utilisés dans la thèse sont indiquées dans le Tableau 15.

Tableau 15. Caractéristiques des principaux composés d'arôme étudiés (dans données de Leffingwell, 2005)

Composé	Formule	Poids moléculaire ($g.mol^{-1}$)	Température d'ébullition (°C)	Solubilité dans l'eau à 25°C ($mg.L^{-1}$)	Log *P* (octanol-eau)	Pression de vapeur à 25°C (mm Hg)	Température de fusion (°C)
acétate d'éthyle	$C_4H_8O_2$	88,11	77,1	$8,00\times10^4$	0,73	93,2	-83,6
ethanol	C_2H_6O	46,07	78,2	$1,00\times10^6$	-0,31	59,3	-114,1
α-pinène	$C_{10}H_6$	136,24	155,9	2,49	4,83	4,75	-64
butanoate d'éthyle	$C_6H_{12}O_2$	116,16	121,5	$4,90\times10^3$ (20°C)	1,85	12,8	-98
hexanal	$C_6H_{12}O$	100,16	131	$5,64\times10^3$(30°C)	1,78	11,3	-56
β-myrcène	$C_{10}H_{16}$	136,24	167	5,60	4,17	2,01	<-10
limonène	$C_{10}H_{16}$	136,24	176	$1,38\times10^1$	4,57	1,98	-74,3
octanal	$C_8H_{16}O$	128,22	171	$5,60\times10^2$	2,78	1,18	-23

2.2 Emballages

2.2.1 Détermination de la perméabilité à l'oxygène des matériaux plastiques

La perméabilité à l'oxygène des bouteilles PET1, PET2 et PET3 est mesurée à 23ºC sous 50 % d'humidité relative et sous pression atmosphérique en utilisant un OX-TRAN® 2/20 system (Mocon, Minneapolis, Etats-Unis). La mesure est effectuée juste avant la mise en contact du jus (t_0), et après 2, 3, 4 et 6 mois de stockage du jus. 2 bouteilles sont placées dans la cellule de mesure et mesurées en parallèle. Les bouteilles sont balayées par un mélange d'azote et d'hydrogène gazeux (95 et 5 %, respectivement) à 10 $mL.min^{-1}$ pendant 16h pour évacuer tout l'oxygène initialement présent. La quantité d'oxygène est ensuite mesurée à l'intérieur de la bouteille en dupliquat pendant un cycle total de 24h. La perméabilité est exprimée en m^3 par bouteille et par jour. La mesure est répétée 3 fois avec une sensibilité de 0,3 $x10^{-9}$ m^3 par bouteille et par jour et une précision de 0,5 $x10^{-9}$ m^3 par bouteille et par jour. La perméabilité est ensuite convertie en U (1U = 10^{-20} $kg.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$). Ces mesures ont été réalisées par Sidel (Le Havre, France).

2.2.2 Détermination de la cristallinité par Analyse Enthalpique Différentielle

Un Perkin-Elmer DSC-7, calibré à l'Indium, est utilisé pour la cristallinité du PET1 monocouche pendant le stockage du jus d'orange. Sauf pour la mesure au temps t_0, la bouteille est d'abord vidée de son jus, rincée puis nettoyée 2 fois avec de l'eau ultrapure et séchée avec du papier Kimwipes. Le PET est coupé avec des ciseaux en très petits morceaux de masse totale 5,0 mg. Les morceaux de PET sont placés dans une capsule en aluminium ensuite scellée avec soin. La mesure est effectuée sous flux d'azote gazeux à 20 $cm^3.min^{-1}$. La capsule en aluminium contenant le PET est placée dans le four qui est maintenu à 30ºC pendant 1 min, puis chauffé à 10ºC.min^{-1} jusqu'à 280ºC. Toutes les mesures sont au moins répétées 3 fois, une fois sur 3 capsules différentes. Le PET provient toujours de la zone médiane de la bouteille. L'enthalpie de fusion qui correspond à l'aire du pic de fusion est calculée en utilisant le logiciel Pyris Series (Version 3.7, Perkin Elmer, Boston, Etats-Unis). Le pourcentage de cristallinité x est égal à $[(\Delta H / \Delta H_c) \times 100]$ (Tigani et Paik, 1993) où ΔH est la chaleur de fusion du composé inconnu et où ΔH_c est la chaleur de fusion du matériel 100 % cristallin (ΔH_c = 140 J g^{-1}, Cheng et Wünderlich, 1988).

2.2.3 Extraction des composés d'arôme sorbés dans les matériaux plastiques

Les analyses ont été réalisées avec les PET1, PET2 et PET3. Après 5 mois de stockage, la bouteille est vidée de son jus, rincée puis nettoyée 2 fois avec de l'eau ultrapure et séchée avec du papier Kimwipes. Elle est ensuite coupée longitudinalement et les 2 surfaces intérieures sont nettoyées avec un spray d'éthanol et séchées avec soin avec le papier Kimwipes. Des morceaux de plastique de 2-3 cm sont coupés dans la partie supérieure de la bouteille, 2 cm en dessous du col, puis dans la partie médiane de la bouteille et enfin dans la partie inférieure (partie la plus épaisse). Les prélèvements de plastique sont rigoureusement effectués au même endroit pour toutes les bouteilles. Les morceaux d'une même bouteille sont réunis et conservés à -20ºC dans un flacon Sovirel hermétique jusqu'à l'extraction.

Pour chaque extraction, 7g de plastique sont placés dans un flacon Sovirel de 100 mL muni d'un bouchon téflonné. L'extraction est réalisée pendant 2h à 15ºC avec 95 mL d'éther diéthylique et 1 mL d'une solution de 2-nonanone à 23 $mg.L^{-1}$ (étalon interne). A la fin de l'extraction, le flacon Sovirel est refroidi par immersion dans de la glace pilée pendant 2 min avant son ouverture. La solution est récupérée, séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée à 38ºC jusque 2 mL en utilisant une colonne de distillation de Vigreux de 25 cm. Le même protocole d'extraction est réalisé avec des bouteilles n'ayant pas été mises en contact avec le jus pour identifier les pics des composés initialement présents dans le matériau.

L'analyse CPG/SM est présentée dans le point 2.1.5.d.

2.2.4 Mesure de la perméation des composés d'arôme au travers de l'emballage (bouteille + bouchon)

2.2.4.a Cellules de perméation

Les cellules de perméation utilisées sont des réacteurs en Pyrex modifiés, elles ont été fabriquées sur notre demande par la société Bercauverre (Savigny le Temple, France). Comme le montre la Figure 19, la cellule peut contenir une bouteille entière de jus d'orange de 33 cL. Le premier type de cellule utilisé est constitué de 2 parties reliées entre elles par serrage d'un collier de fermeture soutenant un joint torique gainé de Téflon. Chaque moitié comporte un col pour la fixation d'un bouchon à vis muni d'un joint téflonné pour assurer l'étanchéité du système. L'un des bouchons est équipé d'une vanne Mininert® qui permet le

passage d'une fibre SPME et donc l'analyse semi-quantitative des composés d'arômes ayant perméé.

Dans un deuxième temps, les cellules ont été adaptées à l'analyse quantitative de perméation par extraction dynamique. Pour se faire, le bouchon et la vanne Mininert® sont remplacés par un système de connection type Rotulex (Figure 20) avec des joints téflonnés assurant l'étanchéité du système.

2.2.4.a.1 Protocole

La bouteille remplie de jus et fermée de son bouchon est placée juste après sa fabrication dans une cellule de perméation en verre qui comporte une vanne Mininert® permettant l'entrée d'une fibre SPME. Cette fibre permet de piéger les arômes qui ont traversés l'emballage et qui se retrouvent dans la cellule de verre. Une fibre Carboxen/PDMS (Supelco, Bellefonte, PA, Etats-Unis) préalablement conditionnée à 300ºC pendant 1h est introduite à différents temps de stockage de la bouteille (7 jours, 1 mois et 2 mois). Le suivi de la mise à l'équilibre de l'espace de tête avec la fibre est effectué. Une durée de 40 minutes d'extraction de l'espace de tête de la cellule par la fibre est retenue. Après une extraction, la cellule est purgée à l'azote puis refermée jusqu'à la prochaine mesure.

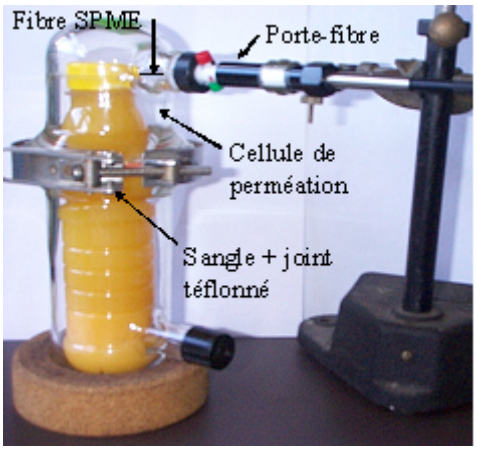


Figure 19. Dispositif de mesure semi-quantitative de la perméation des composés d'arôme du jus au travers du contenant par extraction SPME

2.2.4.a.2 Analyse CPG/DIF

Après mise en contact de la fibre, celle-ci est désorbée 10 minutes à 280°C dans l'injecteur d'un Chromatographe en Phase Gazeuse Fisons (GC 8000 Top, Fisons Instruments, Arcueil,

France) équipé d'un Détecteur à Ionisation de Flamme (DIF). La température du détecteur est de 250°C. Le gaz vecteur est l'hydrogène avec un débit constant de 3,2 $mL.min^{-1}$. L'injection se fait en mode splitless pendant 1 min. Le programme de montée de température du four est de 35 à 240°C à $5°C.min^{-1}$. La colonne utilisée pour la séparation est une colonne Supelco type Supelcowax 10 (Supelco, Bellefonte, PA, Etats-Unis) de longueur 30m, diamètre interne 0,32 mm et épaisseur de la phase stationnaire 1µm. Le signal est retraité par un logiciel d'acquisition chromatographique (Borwin, Version 1.21, JMBS Developpements, Fontaine, France).

2.2.4.b Extraction dynamique de l'espace de tête par un injecteur « Purge and Trap » (PTI)

2.2.4.b.1 Protocole

Le système de perméation en mode dynamique consiste à entraîner les composés d'arôme ayant traversé la bouteille en PET et le bouchon en PEHD par un gaz inerte.
4 cellules de perméation utilisées dans la première étude semi-quantitative sont modifiées. Les cellules modifiées sont équipées de sorties pour joints et pinces Rotulex. Les filetages des anciennes sorties (pour vanne Mininert) sont enrobées de bande téflon et fermées avec un bouchon muni d'un joint téflonné. L'étanchéité du système est contrôlée (Figure 20).

Figure 20. Cellule de perméation pour la mesure quantitative de la perméation

Le système comprend une cellule de mesure, une alimentation de gaz en périphérie, un injecteur en espace de tête dynamique Purge and Trap Injector (PTI) CP4010 (Chrompack, Pays-Bas), relié à un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse, et un système d'acquisition de données (Figure 21).

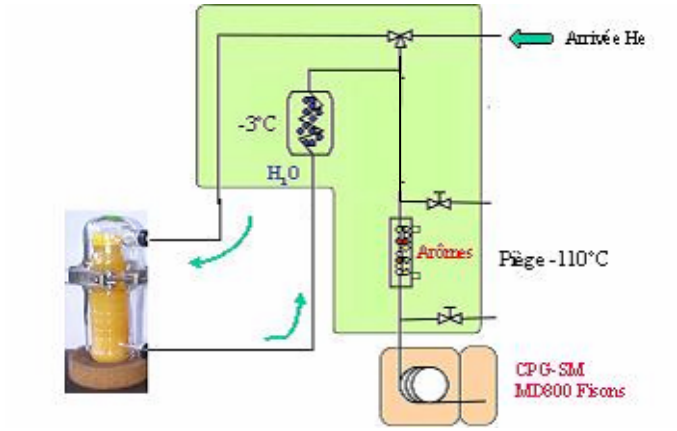


Figure 21. Schéma du dispositif de mesure de la perméation par couplage avec un injecteur « Purge and Trap » relié à un dispositif de CPG-SM

La bouteille remplie de jus et fermée de son bouchon est placée juste après sa fabrication dans une cellule de perméation en verre. A chaque temps de mesure, la cellule est connectée de manière étanche au PTI grâce aux connections Rotulex. Pendant un cycle de mesure, l'espace de tête de la cellule est tout d'abord balayé par un flux d´hélium pendant 18 min avec un débit de 15 $mL.min^{-1}$, temps nécessaire pour purger les 230 mL de la cellule. Un passage dans un réfrigérant maintenu à -3°C permet tout d'abord de piéger la vapeur d'eau. Puis les composés d'arôme sont entraînés vers un piège cryogénique constitué d'un tube capillaire CP Sil 5 CB de 25 cm de longueur et 0,53 mm de diamètre (Chrompack, Pays-Bas) maintenu à -110°C par de l'azote liquide. Une fois le cycle de purge terminé, les composés volatils piégés sont rapidement thermo désorbés par chauffage du piège de -110°C à 200°C et immédiatement injectés dans la colonne chromatographique. Les mesures sont effectuées 1, 2, 4, 7, 12 et 16 semaines après la mise en place de la bouteille dans la cellule.

2.2.4.b.2 Analyse CPG/SM

Le système PTI est relié à un chromatographe en phase gazeuse Fisons GC-8000 (Fisons Instruments, Arcueil, France) couplé à un spectromètre de masse Fisons MD-800 fonctionnant en mode impact électronique (EI). Une colonne capillaire DB-FFAP (30 m x 0,25 mm d.i x 1 µm épaisseur de phase ; J&W Scientific, Folsom, CA, Etats-Unis) est utilisée. Les spectres de masse sont enregistrés avec un taux d'acquisition de 3 $scans.s^{-1}$ entre 29 et 450 u.m.a. les conditions opératoires sont :

- température de la source : 200ºC,
- température du quadrupole : 250ºC,
- énergie : 70 eV,

- température du four : 40ºC puis à 5ºC.min^{-1} jusque 240ºC,
- température de l'injecteur : 250ºC,
- température du détecteur : 250ºC,
- tension du multiplicateur d'électrons : 550V,
- gaz vecteur : He avec un débit de 3,2 mL.min^{-1}.

Les composés d'arôme ont été identifiés sur la base de leurs indices de rétention linéaire (IRL) (Jennings et Shibamoto 1980, Kondjoyan et Berdagué 1996) et par comparaison de leurs spectres de masse avec la base de données INRA Mass.

Un bilan des matériels et méthodes est donné dans le Tableau 16**.**

Tableau 16. Bilan des matériels et méthodes

MATERIELS	**Jus d'orange à base de concentré**	**Pur jus pressé à la main**	**Purs jus industriels**
Ajout d'arômes	X		
Bouteilles/Flacons	PET et verre	verre	verre
Bouchons	complexe aluminium, PEHD ou capsule métallique	capsule métallique	capsule métallique
Pasteurisation	92ºC pendant 20s	92ºC (5 min)	98ºC pendant 20s
Stockage à température ambiante et éclairage artificiel	X	X	
Stockage à l'obscurité	X		
Stockage avec immersion des bouteilles dans l'eau	X		
METHODES			
Dosage de la vitamine C	X	X	
Mesure de la couleur	X	X	
Mesure de l'indice de brunissement	X	X	
Détermination du taux de pulpe	X		X
Répartition de taille des particules			X
Analyse des composés d'arôme	X	X	X
Analyse SPME-Olfactométrie			X
Mesure des coefficients de partage	X		X
Perméabilité à l'oxygène	X		
Taux de cristallinité	X		
Sorption des composés d'arôme (bouteille)	X		
Perméation des composés d'arôme (bouteille + bouchon)	X		

2.3 Analyses Statistiques

2.3.1 Analyse de variance

« L'analyse de variance recouvre un ensemble de techniques de tests et d'estimation destinées à apprécier l'effet de variables qualitatives sur une variable numérique et revient dans le cas simple à comparer plusieurs moyennes d'échantillons gaussiens » (Saporta, 1990).

2.3.1.a Analyse de variance ANOVA à un facteur

Plusieurs analyses de variance à un facteur (une variable qualitative) ont été réalisées pour la détermination de la teneur en vitamine C, l'indice de brunissement, les concentrations en composés d'arôme et les quantités en espace de tête par SPME.

Le problème consiste à tester l'hypothèse selon laquelle les moyennes des différents échantillons sont égales. Le test réalisé est un test de Fisher avec un seuil de signification de 0,05. Si la valeur f trouvée est supérieure au seuil de 5 % au F de Fisher, alors l'hypothèse selon laquelle il n'y aurait pas de différence significative entre les échantillons est rejetée.

2.3.1.b Comparaison multiple de moyennes

Le rejet de l'hypothèse ne signifie pas que toutes les moyennes sont différentes entre elles. Des tests de comparaisons multiples de moyennes ont donc dans ce cas été effectués pour savoir quelles moyennes, prises 2 à 2, étaient significativement différentes au seuil choisi. Les tests de Duncan et Tukey ont été choisis et utilisés avec le logiciel Statistica, version Kernel 5,5 A edition 1999.

2.3.2 Analyse en Composantes Principales

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été utilisée à plusieurs reprises pour exploiter les données quantitatives ou surfaces des pics chromatographiques de composés d'arôme dans différents jus d'orange. En effet, le nombre de composés d'arôme était élevé et l'étude séparée de chacune de ces variables ne permettait pas d'établir les corrélations qui peuvent exister entre elles ni de discriminer les échantillons entre eux.

L'ACP permet de transformer p variables quantitatives inter-corrélées en p nouvelles variables non corrélées appelées composantes principales. Ainsi, « l'ACP construit de nouvelles variables, artificielles, et des représentations graphiques permettant de visualiser les relations entre variables, ainsi que l'existence éventuelle de groupes d'individus et de groupes de variables » (Saporta, 1990).

Saporta déconseille la représentation simultanée des individus et des variables en ACP. En effet, individus et variables sont des éléments d'espace différents, et une proximité entre points individus et points variables ne doit pas être interprétée. Dans cette thèse, les 2 représentations individus et variables ne sont donc pas superposées et une interprétation complémentaire est proposée.

Le choix de réaliser une ACP sur données centrées-réduites a pour conséquence de rendre les distances entre individus invariantes par transformation linéaire séparée de chaque variable et de s'affranchir des unités de mesure ce qui est particulièrement intéressant lorsque les variables sont hétérogènes. L'usage de cette méthode est équivalent à la réduction des variables (division par l'écart-type) (Saporta, 1990). Ici les ACP réalisées sur les concentrations en composés d'arôme et quantités dans l'espace de tête sont des ACP centrées-réduites. En effet, bien que les unités soient les mêmes ($\mu g.g^{-1}$ ou sans unité pour des aires de pics), elles peuvent varier de manière conséquente entre un composé comme le limonène et un composé à l'état de trace comme le nérol. Au contraire, l'ACP sur les données de fréquences de détection est non réduite puisque la variable mesurée est toujours comprise entre 3 et 14.
Les ACP ont été réalisées avec le logiciel XLSTAT-Pro 7.0 (Addinsoft, Paris, France).

2.3.3 Classification Ascendante Hiérarchique

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) est basée sur le calcul de distances. Elle a été réalisée à partir des teneurs en composés d'arômes des jus à base de concentré stockés dans différents matériaux PET et verre. En effet, dans ce cas le nombre d'individus était de 13 et la CAH a été choisie par complémentarité de l'ACP pour obtenir une représentation des groupes et sous-groupes d'individus. Une CAH se représente par un dendrogramme ou arbre de classification. Cet arbre est obtenu en regroupant d'abord les 2 individus les plus proches qui forment un « sommet ». Le processus est réitéré jusqu'à un regroupement complet. Les différents niveaux de hiérarchisation sont appelés les nœuds du dendrogramme. La méthode Ward a été utilisée dans notre cas. La somme des niveaux d'agrégation des différents nœuds de l'arbre doit être égale à l'inertie totale du nuage. La CAH a été réalisée en utilisant le logiciel XLSTAT-Pro 7.0 (Addinsoft, Paris, France).

Chapitre 1. Suivi de la qualité d'un jus d'orange pendant son stockage

Résultats et discussions – Chapitre 1. Suivi de paramètres de qualité d'un jus d'orange à base de concentré pendant son stockage. Hiérarchisation des phénomènes de dégradation.

Dans ce chapitre 1, une fabrication pilote de jus à base de concentré est conditionnée dans différents emballages verre et PET et conservée jusqu'à 9 mois. Les bouteilles de PET ont été operculées avec des complexes aluminium pour que seul l'effet du corps creux soit analysé. Les paramètres de qualité mesurés sont la sorption dans le PET, l'évolution des teneurs en vitamine C, de la couleur et du profil aromatique. Dans le dernier paragraphe, le bouchon en PEHD est inclus dans l'étude pour le suivi de la perméation des composés d'arôme au travers de l'emballage bouteille et bouchon.

1. Sorption des composés d'arôme dans le PET

La sorption des composés d'arôme par les différents PET : PET1 monocouche, PET2 multicouches Bindox® (PET / Nylon+absorbeur d'oxygène / PET) et PET3 traité plasma à température ambiante a été évaluée après 5 mois de stockage. Les seuls composés d'arôme du jus d'orange sorbés sont le *β*-myrcène et le limonène (2 pics dans le chromatogramme). Des extractions des différents PET avant la mise en contact avec le jus ont été réalisées et ont confirmé l'absence de ces composés au temps t_0. Les quantités de *β*-myrcène et de limonène sorbées dans les 7g de PET1 extraits après 5 mois de conservation sont respectivement de 0,6 et 35,1 $\mu g.dm^2$ et dans le PET2 de 0,2 et 13,4 $\mu g.dm^2$. Le PET3 (traité plasma) ne présente aucune sorption de composés d'arôme. Les quantités sorbées dans le PET1 et le PET2 sont ensuite rapportées au poids respectif des bouteilles (respectivement 25,3 g et 26 g) puis exprimées en $\mu g.dm^{-2}$ en tenant compte de la surface d'une bouteille de 0,33 L soit 3,404 dm^2 (valeur fournie par Amcor).

La Figure 22 montre les quantités de *β*-myrcène et de limonène en $\mu g.dm^{-2}$ sorbées dans les emballages plastiques après 5 mois de stockage.

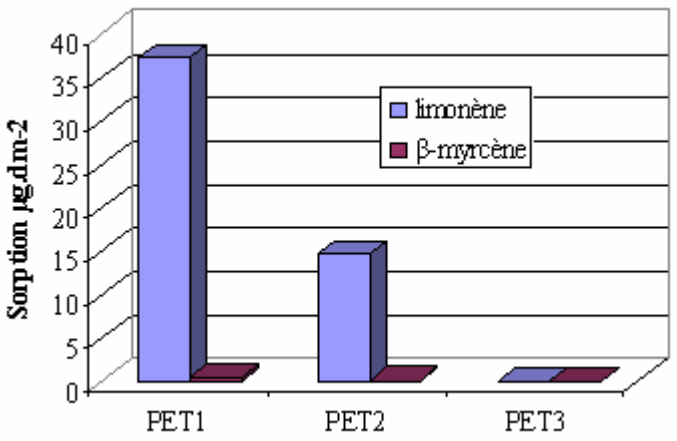


Figure 22. Quantités de *β*-myrcène et de limonène (µg.dm^{-2}) sorbées dans les bouteilles de PET (PET1 : monocouche, PET2 : Bindox, PET3 : Actis) après 5 mois de stockage du jus à 20°C.

Le PET1 monocouche est caractérisé par une sorption au moins 3 fois plus importante qu'avec le PET2. Le PET2 Bindox est un multicouche PET / Nylon MXD6 + absorbeur d'oxygène / PET, la couche de Nylon étant plus proche de la surface intérieure de la bouteille. Le Nylon fait partie de la famille des polyamides, il est polaire donc a moins d'affinité avec les composés d'arôme comme le limonène ou le *β*-myrcène que le PET (Nielsen *et al*., 1992) et permettrait donc de limiter leur sorption. Le dépôt de carbone du PET3 Actis Lite semble avoir une très bonne efficacité barrière aux composés d'arôme du jus puisqu'il permet de limiter totalement leur sorption.

Pour une bouteille de jus d'orange de 0,33 L, les quantités initiales de *β*-myrcène et de limonène sont respectivement de 0,4 mg et 44,8 mg (Tableau 22). Les quantités sorbées dans le PET1 correspondent donc respectivement à 0,5 et 0,3 % des quantités initialement présentes de ces composés d'arôme dans le jus à t_0. Van Willige *et al.* (2003) ont montré que le limonène, le *β*-myrcène et le décanal contenus dans une solution modèle de jus d'orange aux teneurs initiales respectives de 20 mg.100 g^{-1}, 0,4 mg.100 g^{-1}, et 0,1 mg.100 g^{-1} étaient sorbés par le PET. Les pourcentages d'absorption par rapport aux quantités initialement présentes dans le jus étaient respectivement de 0,1 ; 0,1 et 2,8 % pour le limonène, le *β*-myrcène et le décanal après 1 mois de stockage. Dans notre cas, le décanal n'a pas été sorbé par le PET après 5 mois de stockage. Tawfik et Huyghebaert (1998) ont extrait le limonène sorbé dans le PET après 60 jours de stockage du jus d'orange. Les teneurs étaient d'environ 100 à 200 µg.dm^{-2} ce qui est supérieur aux 37 µg.dm^{-2} que nous avons trouvés dans le PET1,

mais qui reste du même ordre de grandeur. Ainsi, ces auteurs montrent que la sorption dans le PET est au moins 20 fois plus faible qu'avec le PEHD (4000 µg.dm^{-2} de limonène sorbé).
Nos résultats sont donc cohérents avec ces précédents travaux montrant que la sorption dans le PET est faible, même après un temps de stockage relativement long (5 mois).

2. Perméabilité à l'oxygène des emballages PET au cours du stockage

La perméabilité à l'oxygène des emballages plastiques joue un rôle essentiel sur l'évolution de la durée de vie des produits alimentaires. Elle peut être influencée par la sorption de composés d'arôme comme cela a été montré pour les polyoléfines par Van Willige *et al*. (2002). Par contre la sorption par le PET du limonène, de l'acétate d'hexyle, de la nonanone et du décanal, présents dans une solution modèle, ne modifiait pas sa perméabilité à l'oxygène après 8 heures de contact. Cependant, la limite de détection de l'analyseur à oxygène utilisé était proche de la valeur de la perméabilité du PET utilisé, les auteurs ont donc recommandé d'utiliser un système analytique plus sensible pour confirmer cette observation.
Dans notre cas, les perméabilités à l'oxygène des PET1, 2 et 3 étaient respectivement de 6,79 +/- 0,30; 0,62 +/- 0,05 et 0,60 +/- 0,05 U à t_0 (1U = 10^{-20} kg m^{-1} s^{-1} Pa^{-1}). Les PET2 et PET3 sont donc dix fois plus barrière à l'oxygène que le PET1. Pour le PET3, la densité atomique élevée du dépôt de carbone hautement hydrogéné à l'intérieur de la bouteille permet de diminuer considérablement la perméabilité à l'oxygène (Boutroy *et al*., 2006). Le PET2 est constitué de PET/Nylon/PET, la couche de Nylon permet de réduire la perméabilité aux gaz en particulier à l'oxygène. Généralement, les polyamides ont de bonnes propriétés barrière à l'oxygène en conditions sèches. L'utilisation d'un multicouche PET/Nylon/PET permet donc de préserver la couche de Nylon de l'humidité et d'améliorer la barrière à l'oxygène par rapport au PET monocouche (Lange et Wyser, 2003).
Pendant 9 mois de stockage, la perméabilité à l'oxygène du PET2 reste très stable. Au contraire, celle du PET3 augmente de 0,60 à 1,82 U (Figure 23).

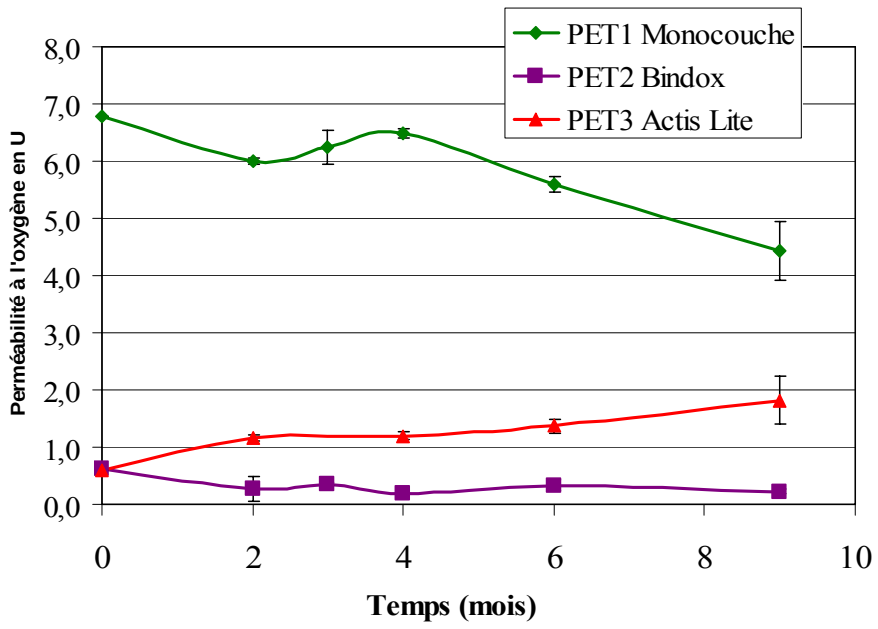


Figure 23. Evolution de la perméabilité à l'oxygène (U) des PET 1, 2 et 3 pendant 9 mois de stockage (n=3)

La tendance à l'augmentation de la perméabilité du PET3 de 0,60 à 1,82 U après 9 mois pourrait être attribuée à la couche de carbone interne susceptible de se dégrader et donc de perdre en efficacité au cours du stockage. Après 5 mois nous avons montré que le PET3 est le plus inerte en terme de sorption de composés d'arôme. Toutefois il resterait à vérifier cette inertie pour des temps de conservation plus longs. L'augmentation de la perméabilité de ce matériau au bout de 9 mois pourrait être due à la fragilisation du dépôt carbone au cours du stockage.

Concernant le PET1, la perméabilité à l'oxygène diminue de 35 % (de 6,79 à 4,44) pendant les 9 mois de stockage. Michaels et Brixler (1961) ont montré que la sorption et la diffusion ont lieu dans les parties amorphes dans le cas de polymères semi-cristallins comme le PET. Pour confirmer la diminution de la perméabilité à l'oxygène, des mesures par Analyse Enthalpique Différentielle ont été réalisées à t_0 et après les 9 mois de stockage. Les moyennes des pourcentages de cristallinité du PET1 étaient de 23 +/- 1 % à t_0 et de 27 +/- 2 % après 9 mois de contact avec le jus. Les deux séries de mesure étaient significativement différentes (p<0,05) et révélaient une légère augmentation de la cristallinité du PET1 après un temps de stockage relativement long. Cette augmentation est cependant très limitée par rapport à la diminution de la perméabilité à l'oxygène observée.

Durning et Russel (1985) ont proposé un modèle de diffusion provoquant une cristallisation induite dans le matériau pour décrire les cinétiques de sorption de composés organiques. La sorption de composés d'arôme pourrait être ainsi responsable d'une augmentation de la cristallinité du PET1, provoquant une diminution de sa perméabilité à l'oxygène. Cependant, la sorption que nous avons mesurée est très faible.

Un autre phénomène pourrait expliquer l'évolution de la perméabilité à l'oxygène observée. En effet, le vieillissement physique des polymères amorphes vitreux peut réduire la mobilité de l'oxygène au sein du matériau. En effet, au cours du temps, une partie de la phase amorphe du PET revient dans un état plus organisé lors du vieillissement physique du matériau. (Boersma *et al*., 2003). Cette réorganisation de la phase amorphe réduit le volume libre et ainsi la diffusion. Ce phénomène pourrait expliquer la diminution de la perméabilité à l'oxygène obtenue avec le PET1. La sorption observée dans le PET1 est négligeable et ne concerne que 0,3 % de la quantité initiale de limonène présente. Pour ce même emballage, la perméabilité à l'oxygène diminue au cours du temps probablement due au vieillissement physique de ce matériau.

3. Evolution de la teneur en vitamine C dans les différents emballages testés

3.1 Stockage ambiant avec éclairage artificiel

Les teneurs en acide ascorbique dans le jus au cours de son stockage à température ambiante pendant 9 mois dans le verre et dans les PET1 (monocouche standard), PET2 (multicouche, Bindox®) et PET3 (couche de carbone interne, Actis Lite) sont présentées Figure 24.

Les bouteilles de PET ont été operculées avec des complexes aluminium pour que seul l'effet du corps creux soit analysé. Etant donnée la méthode d'analyse utilisée, dans tout le paragraphe, le terme vitamine C correspond à la teneur en acide ascorbique.

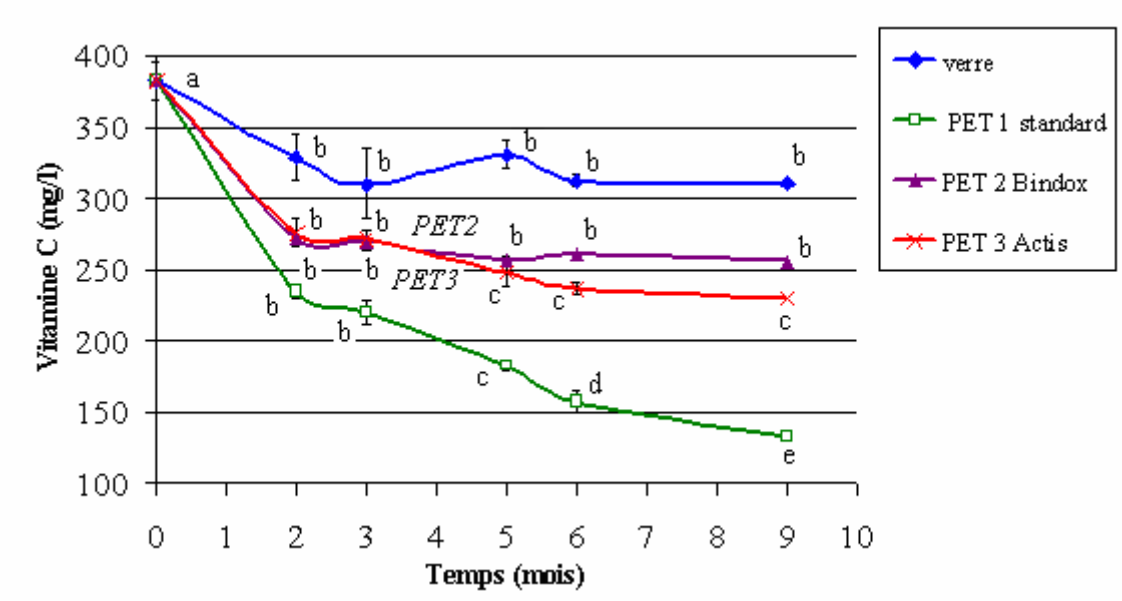


Figure 24. Teneurs en vitamine C (mg.L^{-1}) dans le jus à base de concentré pendant 9 mois de stockage ambiant dans le verre et dans les PET1, 2 et 3. Pour un même emballage, des lettres différentes indiquent une différence significative au cours du stockage (*p*<0,05).

Le jus à base de concentré pasteurisé avant conditionnement contenait 383 ± 13 mg.L^{-1} d'acide ascorbique. La cinétique de perte en acide ascorbique est rapide pendant les deux premiers mois de stockage, quelque soit l'emballage utilisé. Ainsi, après 2 mois, les pertes sont respectivement de 39 %, 29 %, 28 % et 18 % dans le PET1, PET2, PET3 et dans le verre. Une différence de 94 mg.L^{-1} est observée entre le PET1 et le verre, soit déjà 25 % de la teneur initiale du jus après 2 mois. Dans la bouteille en verre (perméabilité à l'oxygène nulle), la dégradation de la vitamine C observée pendant les 2 premiers mois pourrait être attribuée entre autre à la présence d'oxygène dans l'espace de tête mais aussi à l'oxygène dissous dans le jus. Le jus ayant été dégazé lors de sa fabrication, sa concentration en oxygène dissous est de moins de 1 mg.L^{-1} alors qu'un jus non dégazé atteint à l'équilibre une concentration en oxygène dissous de 6,7 mg.L^{-1} (Soares et Hotchkiss, 1999). La concentration en oxygène dissous est donc faible, elle a été mesurée par une électrode à oxygène (oxymètre WTW France, Champagne au Mont d'Or). La dégradation rapide de la vitamine C au début du stockage a également été observée par Solomon *et al*. (1995) dans le verre avec une teneur en oxygène dissous initial de 1 mg.L^{-1}. Après 2 mois, nous avons mesuré une teneur nulle en oxygène dissous confirmant l'hypothèse que la totalité de l'oxygène ait été consommée au cours de cette période. La rapidité de dégradation peut donc être attribuée à la consommation

de l'oxygène dissous et de l'oxygène de l'espace de tête. Kennedy *et al*. (1992) ont d'ailleurs montré que la voie de dégradation aérobie prédomine au début du stockage puis, lorsque la teneur en oxygène dissous devient presque nulle, c'est la voie de dégradation anaérobie qui démarre. Plusieurs travaux ont calculé les ordres des cinétiques de réaction de dégradation de la vitamine C. Pour se faire, un nombre élevé de points expérimentaux est nécessaire. Des cinétiques d'ordre zéro (concentration en fonction du temps) (Kaanane *et al.,* 1988 ; Lee et Chen, 1998) ou du premier ordre (log de la concentration en fonction du temps) (Nagy, 1980, Lee et Chen, 1998) sont généralement décrites. Plus récemment, Manso *et al*. (2001) ont effectué une modélisation des pertes en acide ascorbique en conditions aérobies pendant 36h avec une oxygénation en continue et en prenant en compte les effets de température, pH, oxygène et concentration en acide déhydroascorbique. Pendant les premières heures, les courbes de dégradation aérobie étaient décrites par des cinétiques du 1er ordre mais sur des temps plus longs par un comportement sigmoïdal. La prochaine étape d'une telle modélisation serait d'étudier un jus d'orange pendant son stockage et de tenir compte des 2 voies de degradation : aérobie et anaérobie.

Après 2 mois et jusqu'à la fin du test (9 mois de stockage), la teneur en acide ascorbique reste stable dans le jus conservé dans le verre, la voie anaérobie ne dégradant donc qu'une partie de l'acide ascorbique contenu dans le jus (moins de 20 %). Au final, les pertes en acide ascorbique dans l'emballage verre sont de 73 mg.L^{-1} soit 19 % de la valeur initiale du jus (383 mg.L^{-1}).

Dans les emballages plastiques, la cinétique de dégradation rapide observée durant les 2 premiers mois de stockage avec la bouteille verre se produit également et est même amplifiée par la perméabilité à l'oxygène du matériau. Les pertes plus importantes en vitamine C observées concernent l'emballage le plus perméable à l'oxygène (PET1). Les différences entre l'emballage verre et les PET2, PET3 et PET1 peuvent donc être corrélées avec leurs valeurs croissantes de perméabilité à l'oxygène de 0 ; 0,60 ; 0,62 et 6,79 U. Il apparaît donc que la perte en vitamine C dans le jus est proportionnelle à la perméabilité à l'oxygène de l'emballage. Ainsi, durant les 2 premiers mois, les 2 voies de dégradation aérobie et anaérobie se produisent simultanément dans le jus comme l'avaient rapporté Sizer *et al*. (1988). Dans le PET1, les pertes en vitamine C se poursuivent au cours des 9 mois de stockage et aucun palier d'équilibre ne peut être observé. Les technologies barrières à l'oxygène PET2 et PET3 avec des perméabilités 10 fois plus faibles permettent de diminuer de manière significative les pertes en acide ascorbique. Le gain est d'environ 40 mg.L^{-1} (10 %) après 2 mois de stockage et de 100 mg.L^{-1} (26 %) après 9 mois de stockage. Un équilibre est atteint dans le PET2 après

3 mois de stockage, les valeurs en acide ascorbique entre 3 et 9 mois n'étant pas significativement différentes (p<0,05). Pour le PET3, l'équilibre n'est pas encore atteint même après 3 mois de stockage.

La vitesse de dégradation de la vitamine C avec le PET1 diminue au cours du temps et trois pentes peuvent être distinguées. Ainsi, la sorption d'une quantité faible de limonène (paragraphe 1) permettrait d'améliorer les propriétés barrières à l'oxygène du matériau et ralentirait la dégradation aérobie de la vitamine C. Toutefois ce phénomène est négligeable car le PET1 reste le moins performant vis-à-vis des teneurs en vitamine C par rapport aux PET2 et PET3.

Après 9 mois de stockage, les teneurs en acide ascorbique du jus sont de 310 ± 3 $mg.L^{-1}$ (verre), 132 ± 4 $mg.L^{-1}$ (PET1), 255 ± 8 $mg.L^{-1}$ (PET2) et 230 ± 10 $mg.L^{-1}$ (PET3). La teneur qui doit être garantie selon la réglementation pendant la durée de vie du jus est de 200 $mg.L^{-1}$ (AIJN, 2003). Ainsi, en utilisant le PET1, la teneur en vitamine C à partir de 4 mois de stockage est inférieure à la teneur réglementaire. Les jus disponibles dans les rayons du supermarché ont atteint une durée de vie de 2 à 3 mois. Il est donc déconseillé de conserver plusieurs mois les jus emballés avec le PET1 (standard) au domicile, les jus achetés doivent être consommés rapidement. Une supplémentation en vitamine C pourrait être suggérée mais ses effets ont été décrits négativement. Ainsi, Kennedy *et al.* (1992) ont montré qu'un ajout de vitamine C dans des jus augmentait les pertes en vitamine C observées. De plus, Roig *et al.* (1999) ont montré qu'un ajout en vitamine C provoquait une augmentation du brunissement du jus d'orange. Quand l'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant dans des aliments, ces mêmes auteurs recommandent d'ajouter une quantité juste proportionnelle à la teneur en oxygène présente ou à la quantité de substances oxydables. L'acide ascorbique étant une réductone et donc un intermédiaire de la réaction de Maillard, son augmentation dans le milieu provoquerait une augmentation des quantités de produits carbonylés réactifs et donc un accroissement du brunissement non-enzymatique.

Une solution efficace pour limiter les pertes est de conserver les jus à des températures de réfrigération. La température est en effet le facteur le plus critique provoquant la dégradation de la vitamine C (Nagy, 1980). De plus, Baiano *et al*. (2004) ont montré que l'effet de la perméabilité à l'oxygène au travers du PET sur la dégradation de la vitamine C devenait négligeable à une température de conservation de 5°C.

En conclusion, une voie d'amélioration du jus industriel conservé à température ambiante serait l'usage d'une technologie de PET barrière à l'oxygène pour diminuer les pertes en vitamine C. Les technologies barrière utilisées ici restent néanmoins moins efficaces que le verre. Le dégazage du jus et de l'espace de tête (par soufflage d'azote gazeux juste avant la fermeture de la bouteille) est également recommandé pour limiter les voies de dégradation aérobie.

L'optimisation du procédé devra donc se focaliser sur la teneur en oxygène résiduelle dans le produit et sur la perméabilité à l'oxygène de l'emballage utilisé pour réduire de manière significative les pertes en vitamine C dues à la voie de dégradation aérobie. Enfin, une éventuelle évolution de la perméabilité à l'oxygène du matériau pendant le stockage devra être prise en considération pour le choix d'un emballage performant. Toutefois les 20 % de pertes en vitamine C observés au cours de la dégradation anaérobie ne peuvent être limitées par l'emballage. Ces pertes sont liées aux conditions acides du milieu jus. Ce paramètre fera l'objet d'une étude dans le chapitre 2.

3.2 Stockage ambiant avec immersion des bouteilles dans l'eau

Des bouteilles de PET1, PET2 et PET3 ont été immergées dans l'eau dans le but de limiter la diffusion de l'oxygène au travers des emballages plastiques utilisés. Les conditions de température et de lumière étaient les mêmes que pour le stockage décrit dans le paragraphe précédent. Les résultats des teneurs en vitamine C des bouteilles après 2 mois sont présentés dans le Tableau 17 ci-dessous.

Tableau 17. Comparaison des teneurs en vitamine C ($mg.L^{-1}$) entre un stockage ambiant et un stockage ambiant avec immersion des bouteilles dans l'eau après 2 et 4 mois de stockage (n=3)

Emballage	2 mois ambiant	2 mois ambiant avec immersion	4 mois ambiant sur la Figure 24	4 mois ambiant avec immersion
PET1	235 +/- 5	250 +/- 15	200	191 +/- 6
PET2	272 +/- 10	282 +/- 7	262	259 +/- 5
PET3	276 +/- 10	302 +/- 15	260	260 +/- 5
verre	329 +/- 16	/	320	/

Un test d'analyse statistique ANOVA à un facteur n'a montré aucune différence significative (p<0.05) pour un emballage donné entre la valeur obtenue en conditions normales et la valeur obtenue en immergeant les bouteilles dans l'eau, après 2 mois de stockage. Après 4 mois, les teneurs en vitamine C n'ont pas été déterminées en conditions normales par manque d'échantillons. Les valeurs obtenues en immersion sont comparées avec les valeurs lues sur la Figure 24. Comme après 2 mois, les teneurs pour les 2 conditions testées et pour un emballage donné sont très proches. L'immersion des bouteilles dans l'eau ne limite pas les pertes en vitamine C qui restent supérieures aux pertes observées dans le verre. La dégradation de la vitamine C jusqu'à 2 mois et 4 mois de stockage proviendrait donc de l'oxygène dissous dans le jus et de l'oxygène présent dans l'espace de tête.

3.3 Stockage ambiant à l'obscurité

La bibliographie a montré que l'effet de la lumière sur la teneur en vitamine C des jus d'orange demeure controversé. Les matériaux d'emballage comme ceux que nous étudions exposent le jus à la lumière pendant le stockage. Il est donc intéressant de s'intéresser à son influence sur des dégradations produites par des réactions photochimiques. Les teneurs en vitamine C ont donc été déterminées dans des bouteilles conservées à l'obscurité. Les valeurs après 3 mois et 9 mois de stockage sont rapportées dans le Tableau 18 par comparaison avec les valeurs obtenues avec l'éclairage artificiel (tubes fluorescents).

Tableau 18. Comparaison des teneurs en vitamine C ($mg.L^{-1}$) entre un stockage ambiant sous éclairage artificiel et un stockage ambiant à l'obscurité après 3 mois et 9 mois (n=3)

Emballage	3 mois ambiant	3 mois obscurité	9 mois ambiant	9 mois obscurité
verre	310 +/- 25	304 +/- 13	310 +/- 3	300 +/- 8
PET1	220 +/- 9	224 +/- 5	132 +/- 2	125 +/- 3
PET2	270 +/- 5	259 +/- 12	255 +/- 8	275 +/- 2
PET3	271 +/- 7	264 +/- 7	non déterminé	non déterminé

Un test d'analyse statistique ANOVA à un facteur n'a montré aucune différence significative (p<0.05) pour un emballage donné et un temps donné entre la valeur obtenue sous éclairage artificiel et la valeur obtenue à l'obscurité (excepté pour le PET2 à 9 mois). La lumière

utilisée ici est émise par 16 tubes fluorescents avec une intensité lumineuse moyenne de 750 lux (valeur globale proche des conditions de stockage dans les linéaires de supermarché). Cet éclairage n'entraîne donc pas de pertes supplémentaires en vitamine C par rapport à un éclairage à l'obscurité totale à une même température. Solomon *et al.* (1995) n'ont également trouvé aucune différence significative ($p<0,05$) entre les teneurs en vitamine C du jus d'orange stocké dans le verre à l'obscurité et sous une lumière émise par des tubes fluorescents (3 tubes de 40W avec une intensité lumineuse moyenne de 2000 lux). Enfin, une étude récente de Conrad *et al.* (2005) avec le même type d'éclairage a abouti à la même conclusion avec du jus d'orange conservé dans des bouteilles de PET. Toutefois ces auteurs ont mis en évidence l'effet négatif du rayonnement UV sur les teneurs en vitamine C et sur la couleur du jus. La vitamine C pourrait réagir avec les radicaux libres formés par les UV (280-400 nm) ce qui entraînerait des pertes et l'apparition du brunissement non-enzymatique.

Conrad *et al.* (2005) proposent l'utilisation de bouteilles barrière de type PET/PEN pour limiter les effets des UV. En effet, dans leur étude, l'emballage PET/PEN (4 %) filtrait les longueurs d'onde jusque 373 nm alors que le PET ne filtrait les longueurs d'onde que jusque 322 nm. Le PEN est donc intéressant pour les produits sensibles aux UV. Ainsi la lumière émise par les tubes fluorescents utilisée dans les rayons des supermarchés ne semble pas aggraver la dégradation de la vitamine C. Par contre, l'exposition des bouteilles aux rayons UV lors d'un stockage extérieur par exemple, doit être évitée.

La Figure 25 nous a été fournie par la société Sidel (Le Havre, France). Elle représente les spectres de pourcentages de transmission (% T) des longueurs d'onde comprises entre 200 et 500 nm pour le verre, le PET et le PET traité Actis Lite™ ou Actis™. Le PET3 étudié ici est issu de la technologie Actis Lite™, l'épaisseur de la couche de carbone est de 65 à 80 nm. Dans la technologie Actis™, la couche de carbone est plus épaisse, de l'ordre de 100 nm (Boutroy *et al.*, 2006). Tous les matériaux testés filtrent les longueurs d'onde jusque environ 312 nm. La zone des longueurs d'onde des UV montre que le PET Actis™ est le plus efficace pour limiter leur transmission qui atteint 45 % à 400 nm. Viennent ensuite le PET Actis Lite™ (67 % T), le verre (76 % T) et le PET non traité (78 %). Le verre et le PET non traité ont des spectres de transmission proches. Nous pouvons noter cependant que pour les UV compris entre 312 et 340 nm, le verre est plus efficace. Par exemple, à 325 nm, le verre présente un %T de 12 % et le PET de 31 %. A cette même longueur d'onde, le traitement Actis Lite™ présente une efficacité intermédiaire. Pour la zone 312-400 nm (UV proches), la couche de carbone du traitement plasma est d'autant plus efficace qu'elle est épaisse.

Néanmoins, contrairement au PEN, elle ne permet pas de décaler vers des longueurs d'onde plus élevées la longueur d'onde minimale de transmission.

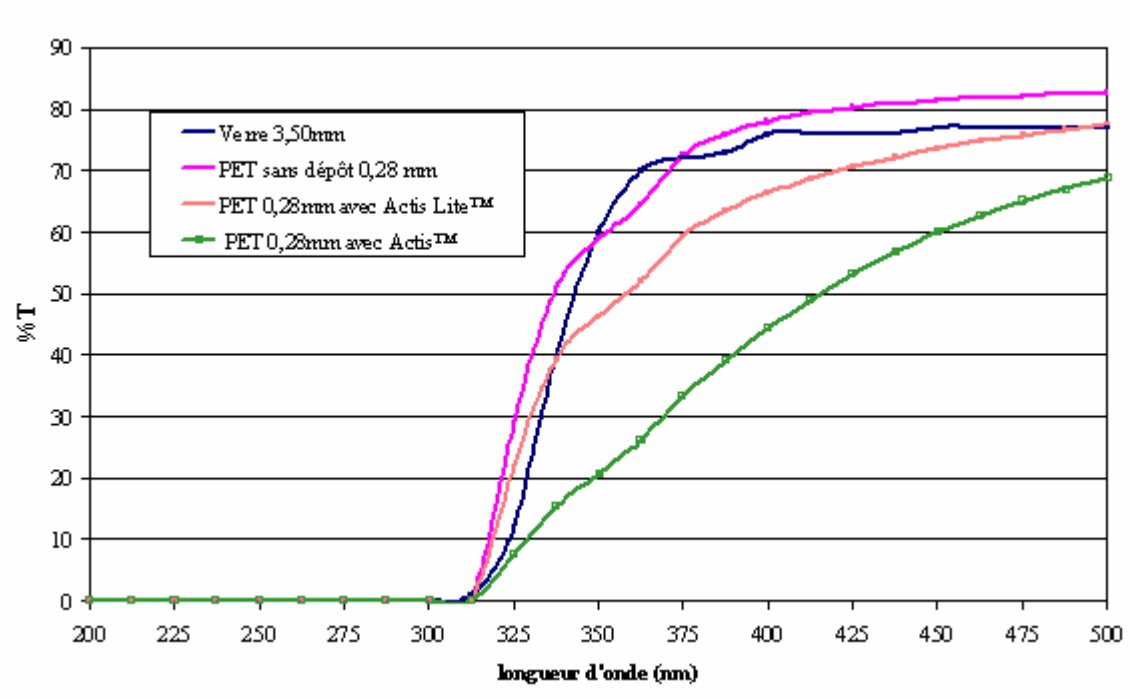


Figure 25. Spectres de pourcentages de transmission (% T) des longueurs d'onde comprises entre 200 et 500 nm pour le verre, le PET et le PET traité Actis Lite™ ou Actis™

Chez l'industriel, dans le cas du stockage ou de la mise en attente avant transport des palettes de bouteilles de jus d'orange à l'extérieur, la technologie Actis™ pourrait présenter l'avantage de limiter la transmission des rayonnements UV.

4. Effet du stockage sur la couleur du jus

4.1 Evaluation de la couleur du jus par le système L*a*b*

Les évolutions de L*, a* et b* pendant le stockage ambiant du jus à base de concentré sont présentées Figure 26, Figure 27 et Figure 28.

La luminance (L*) est un indicateur de la luminosité du produit. Entre 0 et 3 mois à température ambiante, les évolutions observées sont peu significatives (Figure 26). Lee et Nagy (1988) ont également observé peu de modifications des valeurs de L* dans un jus de

pamplemousse conservé 5 mois à 20°C. Les valeurs obtenues à 6 mois présentent une diminution plus marquée. La perméabilité à l'oxygène des emballages et l'assombrissement du produit (décroissance de L*) sont proportionnellement reliés. Ainsi la plus forte diminution de L* (produit plus sombre) est observée dans l'emballage le plus perméable à l'oxygène, le PET1. Les PET2 et 3 présentent des valeurs intermédiaires. Après 9 mois dans le PET1, la diminution de la luminance du jus se poursuit tandis qu'elle s'est stabilisée dans le verre et le PET2. La valeur du jus stocké dans des bouteilles de PET3 après 9 mois n'a pas pu être déterminée par manque de bouteilles.

L'évolution des valeurs de luminance des jus à base de concentré permet donc de différencier les emballages en fonction de leur perméabilité à l'oxygène après un temps de stockage suffisamment long (6 mois à température ambiante).

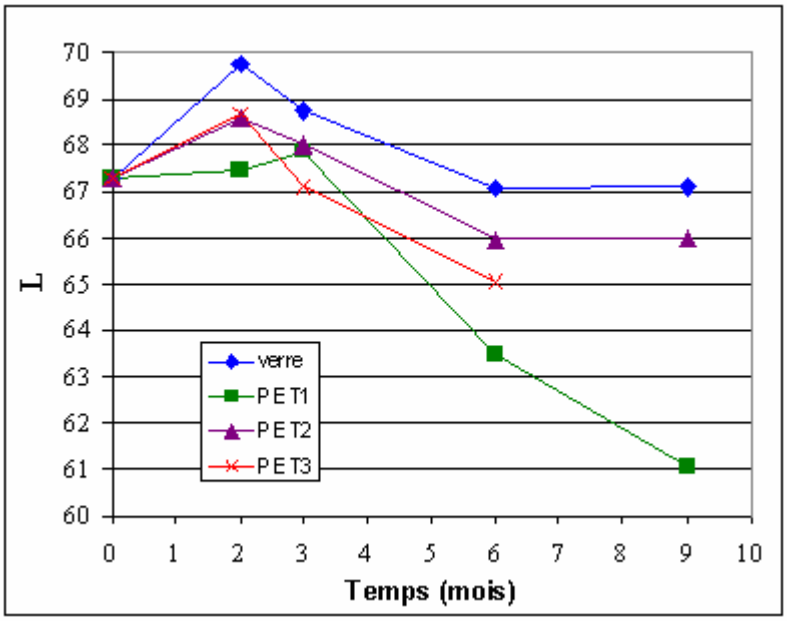


Figure 26. Evolutions de L* dans le jus à base de concentré conservé 9 mois dans le verre et dans les PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™).

Les évolutions de l'indice a* (indice de couleur rouge) sont présentées Figure 27. De fortes augmentations sont constatées pour tous les emballages particulièrement pendant les 2 premiers mois. Au cours des 9 mois de stockage, les jus tendent donc vers une couleur de plus en plus rouge. L'écart entre les emballages augmente également avec la durée du stockage. La valeur obtenue pour le PET1 à 3 mois s'écarte du comportement général observé. A partir de

6 mois, le classement des valeurs de a* suit le classement des perméabilités à l'oxygène des différents emballages, le verre présentant la plus faible valeur de a* et le PET1 la plus forte.
Les PET2 et 3 ont des comportements intermédiaires avec une valeur plus faible pour le PET3 que pour le PET2 qui n'a pas pu être confirmée après 9 mois de stockage. Après 6 mois de stockage, les emballages les plus perméables à l'oxygène provoquent dans le jus les valeurs de a* les plus élevées.

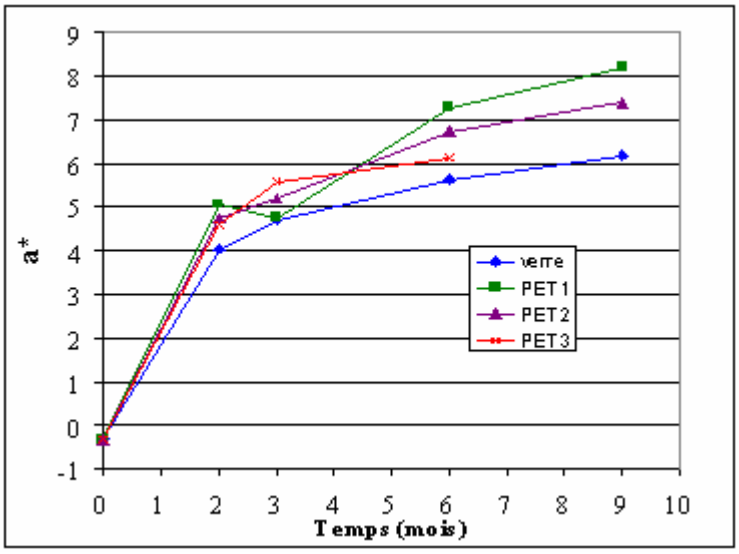


Figure 27. Evolutions de a* dans le jus à base de concentré conservé 9 mois dans le verre et dans les PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™).

Les valeurs du paramètre b* sont indiquées Figure 28. Rappelons qu'une diminution de l'indice b* se traduit par une diminution de l'intensité de la couleur jaune du jus. Entre 0 et 2 mois, les valeurs sont stables sauf celle du PET1 qui commence à diminuer. Entre 2 et 3 mois, une diminution est constatée pour tous les emballages puis à partir de 3 mois, les valeurs dans le verre et dans les PET2 et 3 sont stables. Au contraire, dans le PET1, la diminution de b* se poursuit de façon quasi linéaire. Nous pouvons donc en conclure que l'intensité de la couleur jaune du jus diminue sensiblement en fonction du temps de stockage et que cette décroissance est positivement reliée à la perméabilité à l'oxygène de l'emballage.
Cette perte de la couleur jaune pourrait être reliée avec les teneurs en caroténoïdes dans le jus. Les caroténoïdes sont en effet responsables de la couleur jaune et orange de nombreux fruits. Leur dégradation ou leur isomérisation peut provoquer une modification de la couleur. Les études sur l'évolution des caroténoïdes pendant le stockage sont beaucoup moins nombreuses que celles portant sur l'effet du procédé de fabrication. Néanmoins, Cinar (2004)

a montré des pertes de 90 % des caroténoïdes dans des pigments de peaux d'orange conservés pendant 45 jours à 25°C dans des flacons en verre. L'oxydation et l'isomérisation sont les principales causes de dégradation des caroténoïdes. D'autre part, l'isomèrie cis/trans des différentes doubles liaisons des caroténoïdes dépend de la température. En général, le pourcentage d'isomérie *cis* (Z) est beaucoup plus faible que le pourcentage d'isomérie *trans* (E) mais il augmente nettement après chauffage (Chandler et Schwartz, 1988). Les isomères *trans*, après clivage, peuvent donner naissance à des composés plus clairs. Cette possible isomérisation pourrait expliquer la diminution du paramètre b* observé dans nos jus.

Sur la Figure 28, nous pouvons observer une chute brutale de b* entre 2 et 3 mois pour les emballages barrières à l'oxygène comme le verre et les PET2 et PET3 puis une relative stabilité de b* entre 3 et 9 mois. Au contraire, la diminution de b* est linéaire pendant toute la période étudiée pour le jus conservé dans le PET1. Cette observation suggère une dépendance de l'évolution de b* avec la rapide dégradation de la vitamine C. De plus, entre t_0 et 2 mois, l'évolution de b* serait reliée avec la perméabilité à l'oxygène des emballages, le jus conservé dans le PET1 présentant la plus forte perméabilité à l'oxygène et la plus forte diminution de b*.

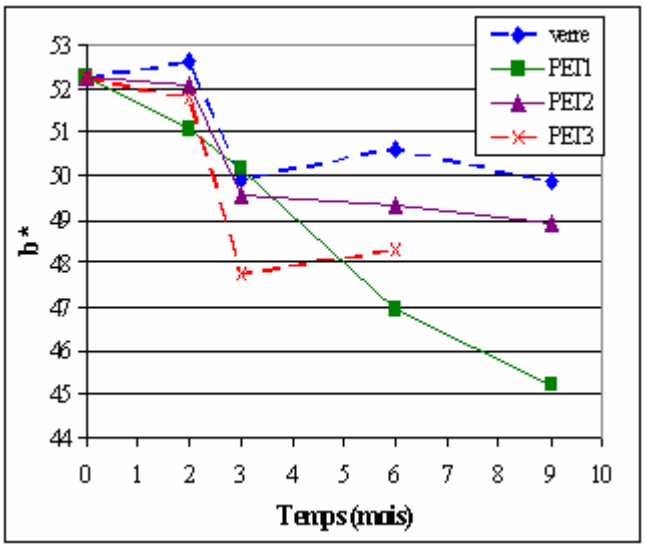


Figure 28. Evolutions de b* dans le jus à base de concentré conservé 9 mois dans le verre et dans les PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™).

La valeur de ΔE* est également calculée après chaque temps de stockage pour rendre compte de l'évolution globale de la couleur de l'échantillon par rapport à la couleur du jus à t0. Les

résultats obtenus sont présentés Figure 29. Les PET2 et 3 ont une valeur de ΔE* qui augmente faiblement à partir de 3 mois tout comme le verre alors que le PET 1 voit sa valeur augmenter fortement au cours du temps. Les évolutions de ΔE* sont comparables aux évolutions de a*, avec une différenciation des emballages à partir de 6 mois. Il est intéressant d'observer que les PET2 et 3, qui présentent les perméabilités à l'oxygène les plus proches, ont des valeurs de ΔE* qui sont quasiment égales à 6 mois.

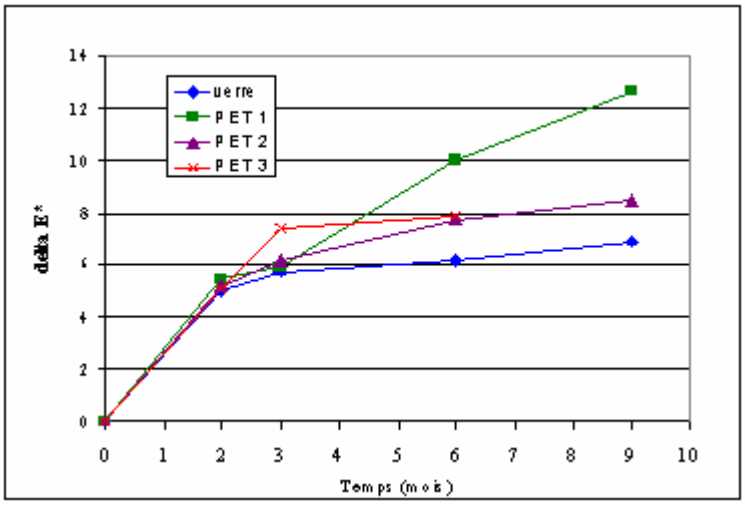


Figure 29. Evolutions de ΔE* dans le jus à base de concentré conservé 9 mois dans le verre et dans les PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™).

Les évolutions de paramètres de chromamétrie que nous avons pu observer à température ambiante sont en règle générale une diminution de L*, de b*, et une augmentation de a*. Baiano *et al*. (2004) et Esteve *et al.* (2005) avaient également observé ces évolutions lors d'un stockage de jus d'orange à 5°C et 10°C. Esteve *et al.* (2005) ont réalisé leur étude avec des jus conservés dans des briques et Baiano *et al.* (2004) avec des jus conservés en bouteilles verre et dans des bouteilles de PET dont certaines contenaient des absorbeurs d'oxygène ou du Nylon. Ces derniers emballages sont donc relativement proches de ceux que nous avons utilisés.

4.2 Evolution de l'indice de brunissement du jus à base de concentré au cours du stockage

La méthode de référence pour déterminer le brunissement des jus d'agrumes est la méthode de Meydav *et al.* (1977). Elle consiste à séparer la pulpe par centrifugation, à diluer (1:1) le surnageant avec de l'éthanol pour permettre la floculation des particules de trouble puis à filtrer avec un filtre papier Whatman n°42 avant de lire l'absorbance de la solution obtenue à 420 nm. Ainsi, cette méthode permet d'éliminer l'interférence avec les caroténoïdes et donne une bonne répétabilité selon les auteurs. Ces derniers ont aussi comparé les résultats avec la méthode de clarification des jus avec un filtre 0,45 µm Millipore (Karel et Nickerson, 1964). Cette dernière méthode donnait des résultats similaires. Nous avons donc utilisé une méthode couplant une étape de centrifugation à une étape de filtration Millipore.

L'indice de brunissement (absorbance à 420 nm) du jus à base de concentré est mesuré à t0 et après des périodes de stockage de 2, 3, 5 et 6 mois à température ambiante. Les résultats sont présentés Figure 30.

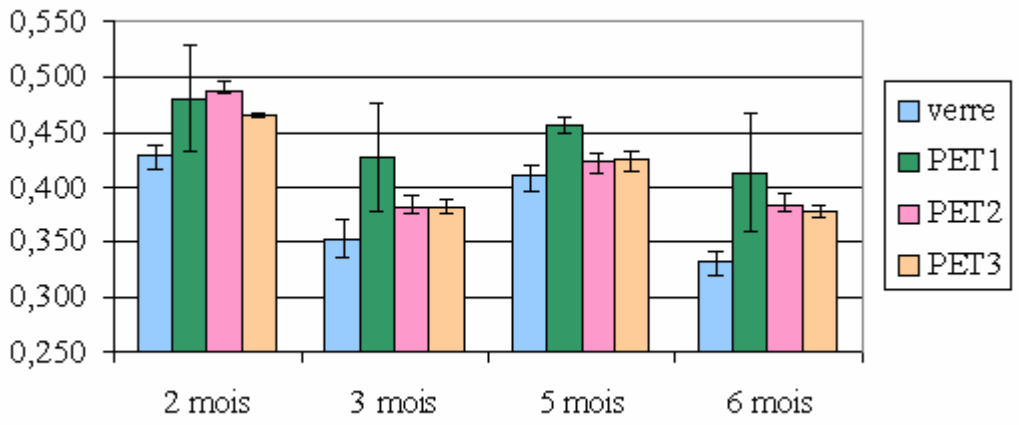


Figure 30. Absorbance à 420 nm du jus à base de concentré après 2, 3, 5 et 6 mois de stockage ambiant (n=3) pour les PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™).

L'absorbance du jus à t0 est de 0,33. Après 2 mois de stockage, l'indice de brunissement a augmenté avec tous les emballages. Entre 2 et 3 mois, l'indice de brunissement diminue mais les différences entre les emballages ne sont pas observées du fait des écart-types importants.

Après 5 mois et 6 mois, les mesures sont beaucoup plus répétables et à 6 mois, le verre a l'indice de brunissement significativement le plus faible. Le jus conservé dans le PET1 présente quant à lui la plus grande valeur d'absorbance, et les technologies de PET barrière, PET2 et PET3 présentent des valeurs intermédiaires. Mannheim *et al.* (1987) ont montré que les différences de brunissement entre du jus d'orange conservé dans des briques et dans du verre étaient faibles au début du stockage puis augmentaient avec la durée de stockage pendant 3 mois à 25°C.
Nous observons qu'à un temps donné, l'indice de brunissement du jus peut être comparé entre les emballages. Par contre, l'évolution de l'indice de brunissement pour un emballage donné n'est pas continue au cours du temps.

Klim et Nagy (1988) évoque dans leurs travaux la méthode de Meydav *et al.* (1977). Selon cette équipe, la méthode est imprécise et sujette à une grande variabilité principalement due à la préparation de l'échantillon, à la température et à la méthode de filtration. Ils établissent que l'étape de filtration ne permet pas de retenir toutes les fines particules en suspension, introduisant ainsi une grande variabilité dans les mesures d'absorbance. De plus, ils observent que les valeurs d'absorbance diminuent avec la température mais aussi avec la durée de préparation des échantillons. A température ambiante, ils montrent que le brunissement est surévalué. Finalement ils proposent une méthode avec centrifugation, addition d'alcool, refroidissement dans un bain d'eau glacée, nouvelle étape de centrifugation et enfin lecture de l'absorbance à 420 nm. Il est donc possible que notre détermination des indices de brunissement ait été soumise à des variations de durée et de température qui expliqueraient les variations observées entre deux temps de mesure. En effet, les mesures n'ont pas été réalisées dans un laboratoire climatisé et ont eu lieu entre mai et novembre, ce qui sous-entend des variations importantes de température. Par contre, à un temps donné, les mesures pour les différents emballages sont réalisées dans les mêmes conditions, elles permettent donc une comparaison relative des emballages.
D'autre part, (Hutchings, 1994) évoque que les particules du jus en suspension peuvent affecter l'opacité du produit et donc la perception visuelle de la couleur. Depuis de nombreuses années, il est connu que la simple détermination de l'absorbance à 420 nm n'est pas suffisante car des produits peuvent avoir une absorbance similaire à cette longueur d'onde mais peuvent être perçus différents au niveau visuel. Hutchings (1994) propose donc de déterminer la couleur par l'évaluation des valeurs L*, a* et b*, qui reproduit la manière dont

l'œil perçoit la couleur. Le paragraphe suivant propose de comparer les valeurs de L*, a* et b* avec la couleur réelle du jus à base de concentré.

4.3 Aspect visuel des jus et corrélation avec les mesures de chromamétrie L*a*b* et d'indice de brunissement

La photo suivante (Figure 31) permet d'observer les différences de couleur des jus emballés dans les matériaux étudiés après 9 mois de conservation à température ambiante.

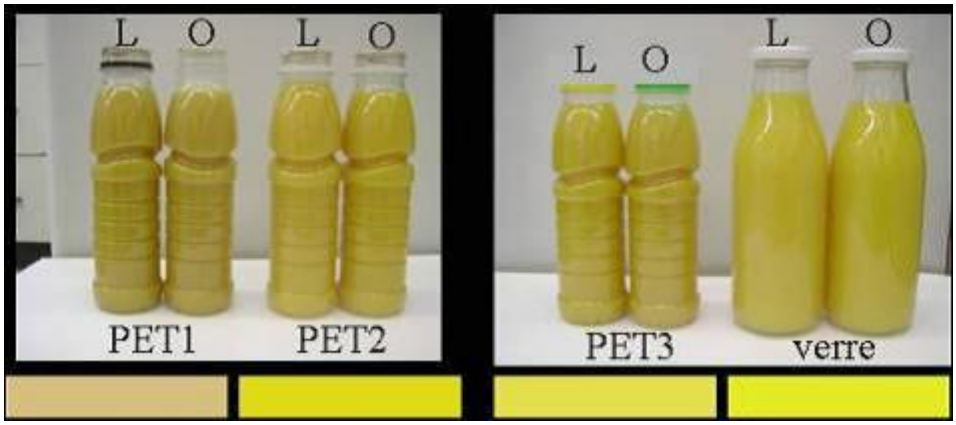


Figure 31. Bouteilles de jus d'orange emballées avec le PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™) et le verre après 9 mois de stockage ambiant (L : éclairage artificiel, O : obscurité)

Figure 32. Une bouteille de PET2 (Bindox®) juste après le remplissage du jus au temps t_0

Visuellement, le jus le plus brun est le jus conservé dans le PET1 alors que le plus clair est celui conservé dans le verre. Les technologies de PET barrière PET2 et PET3 présentent un jus avec un brunissement intermédiaire. De plus, pour un emballage donné, il est difficile de différencier les bouteilles conservées sous éclairage artificiel et à l'obscurité (Figure 31). Ces résultats sont en accord avec ceux de Solomon *et al.* (1995) qui ont montré que l'effet de la lumière artificielle n'était pas significatif sur le brunissement avec différents emballages et différentes conditions d'exposition.
Les évolutions des paramètres a* et ΔE* et les classements des jus obtenus par ces valeurs sont en bonne corrélation avec le résultat visuel. De plus, les couleurs présentées sous chaque type de bouteille dans la Figure 31 sont des reconstitutions données par le logiciel de traitement avec les valeurs des paramètres L, a* et b* mesurées. Le logiciel calcule en fait une valeur normalisée qui apporte une correction mathématique par rapport au simple ΔE* en tenant compte de la perception de l'oeil. Les reconstitutions des couleurs sont proches des couleurs qui peuvent être observées sur la photo ce qui confirme que la mesure de L, a* et b* puis le traitement du logiciel peuvent reproduire la manière dont l'œil perçoit la couleur.

En conclusion, l'étude de l'évolution de la teneur en vitamine C et de la couleur du jus d'orange du jus à base de concentré a montré que le verre permettait le meilleur maintien de la qualité pendant 9 mois de stockage à température ambiante. Dans les emballages PET, les pertes en vitamine C, la modification de couleur et l'apparition du brunissement sont d'autant plus importantes que la perméabilité à l'oxygène du matériau est élevée. La bibliographie nous a montré que le brunissement non-enzymatique est précédé par la formation de différents composés d'arôme comme le furfural, qui provoquent des notes négatives dans le jus d'orange. Nous allons donc nous intéresser à l'influence de la perméabilité à l'oxygène du corps creux sur l'évolution aromatique du jus.

5. Effet des différents emballages PET sur l'évolution aromatique du jus à base de concentré

5.1 Mise au point de la méthode d'extraction des composés d'arôme du jus d'orange à base de concentré par un mélange de solvants

Pour évaluer l'influence des différents emballages utilisés sur l'évolution des composés d'arôme du jus, nous avons choisi de réaliser des extractions par solvants afin d'obtenir des extraits les plus représentatifs des différentes classes de composés d'arôme présents dans le jus. Le choix du solvant ainsi que les conditions d'extraction interviennent sur le rendement d'extraction et sur la dégradation des composés initialement présents. Différents modes d'extraction ont déjà été testés au laboratoire (Brat *et al*., 2000 ; Gancel, 2004). Ainsi, un système de distillation/extraction simultanée Lickens et Nickerson avec le pentane/éther 1:1 sur des agrumes a révélé des pertes importantes en aldéhydes monoterpéniques (néral et géranial) (Gancel, 2004) et n'a donc pas été retenu. L'étude de Brat *et al.* (2000) sur du jus de fruit de la passion a montré que l'extraction liquide-liquide par un mélange pentane/dichlorométhane (2:1) permettait d'obtenir des quantités supérieures pour des composés comme le butanoate d'éthyle, le limonène et l'α-pinène, comparé à l'extraction avec le même solvant par Lickens et Nickerson.

L'extraction liquide-liquide à température ambiante est retenue et deux types de solvants sont testés : un mélange pentane/éther (1:1, v/v) et le dichlorométhane. Ces manipulations ont été réalisées dans l'unité FLAVIC de Dijon par Nicole Fournier sur un jus d'orange commercial après 6 mois de stockage. Les résultats des extractions pour quelques composés d'arôme sont présentés dans le Tableau 19. Le dichlorométhane extrait légèrement mieux les terpènes comme le β-myrcène, le limonène, l'α-terpinolène ou le valencène. Les composés comme le furfural, la carvone et le 4-vinylgaïacol sont également légèrement mieux extraits avec le dichlorométhane. Les autres composés présentés sont peu différents d'un solvant à un autre.

En conclusion, aucune différence majeure n'est observée entre ces 2 solvants avec quelques molécules légèrement mieux extraites avec le dichlorométhane. Cependant, nous avons observé que le dichlorométhane forme une émulsion avec le jus plus importante qu'avec le mélange pentane/éther (1:1, v/v) ce qui complique et allonge l'extraction. De plus le

pentane/éther s'évapore plus rapidement que le dichlorométhane. Pour des contraintes pratiques, nous avons donc retenu le mélange pentane/éther (1/1, v/v).

Tableau 19. Comparaisons des quantités de quelques composés extraits d'un jus d'orange commercial âgé de 6 mois par le pentane/éther et par le dichlorométhane en µg.g^{-1}

Composé	pentane/éther (1:1, v/v)	dichlorométhane
β-myrcène	1,65	1,83
limonène	112,78	113,63
α-terpinène	0,22	0,18
3-méthyl-2-buten-1-ol	0,17	0,17
cis-3-hexen-1-ol	0,02	0,02
furfural	0,60	0,73
linalol	0,85	0,86
1,4-terpinéol	0,34	0,36
α-terpinolène	7,49	7,74
valencène	2,02	3,04
carvone	0,55	0,66
trans-carvéol	0,37	0,38
géraniol	0,17	0,15
cis-carvéol	0,18	0,13
4-vinylgaïacol	0,41	0,53

Nous avons ensuite optimisé le nombre d'extractions et le ratio des volumes de jus et de solvant nécessaire pour avoir le meilleur rendement d'extraction. Ainsi, nous avons confirmé la nécessité d'extraire successivement 3 fois le jus (60g) avec 50 mL de solvant, la 4ème extraction ne contenant plus que 0,4 % du limonène total extrait. Nous avons ensuite concentré cet extrait jusqu'à un volume de 1mL (volume mort de la colonne à distiller). Enfin nous avons choisi le n-hexanol comme étalon interne car le jus n'en contenait pas et car son temps de rétention correspondait à une zone « libre » et médiane dans le chromatogramme. Le n-hexanol dilué dans le pentane/éther a été injecté plusieurs fois et l'aire moyenne a été comparée avec celle de plusieurs extraits qui avaient subis les étapes d'extraction et de concentration. Nous avons ainsi vérifié que le n-hexanol était récupéré quantitativement lors de notre protocole d'extraction.

Nous avons évalué la répétabilité de notre méthode d'extraction pour chaque composé d'arôme. Pour se faire, 3 bouteilles de jus d'orange d'un même lot sont prélevées et sur chaque bouteille, 3 extractions sont effectuées. Ceci nous permet de connaître la variabilité de

l'extraction pour chaque composé pour une même bouteille et la variabilité entre 3 bouteilles d'un même lot. Le pourcentage de variabilité obtenu sur les 9 extractions est également calculé (Tableau 20). Le limonène n'a pas été quantifié dans cette série de 9 extractions car il saturait et l'échantillon devait être dilué par 10 et réinjecté. Le limonène a été quantifié sur 3 extraits dilués et le coefficient de variation obtenu était de 6%. Pour 15 composés sur les 41 étudiés, la variabilité inter-bouteille s'est révélée plus importante que la variabilité due à l'extraction. Au contraire, pour les 26 autres composés d'arôme, la variabilité due à la méthode d'extraction s'est révélée supérieure à la variabilité inter-bouteille. Le coefficient de variation sur les 9 valeurs prend en compte à la fois la variabilité intra et la variabilité inter échantillon. Cette valeur est donc choisie comme le coefficient de variation pour chaque composé d'arôme. Plusieurs composés qui sont l'α-copaène, le valencène, la carvone ont des coefficients de variation supérieurs à 20 % dus à des phénomènes de coélution ou des concentrations trop faibles, ceux-ci ne seront donc pas quantifiés lors du suivi des composés d'arôme pendant le stockage.

Tableau 20. Evaluation de la répétabilité de la méthode d'extraction liquide-liquide : 3 séries de 3 extractions sur 3 bouteilles d'un même lot, moyenne et cœfficient de variation (%) pour chaque bouteille, pour les 3 moyennes et pour les 9 mesures

Composé (ordre des IR)[a]	1(1)	1(2)	1(3)	**Moy 1ère bteille**	**Coeff 1 (%)**	2(1)	2(2)	2(3)	**Moy 2ème bteille**	**Coeff 2 (%)**	3(1)	3(2)	3(3)	**Moy 3ème bteille**	**Coeff 3 (%)**	**Moy des 3 moy**	**Coeff (%)**	**Moy des 9**	**Coeff des 9 (%)**
α-pinène	0,24	0,21	0,22	**0,22**	**6,0**	0,22	0,22	0,18	**0,21**	**8,5**	0,19	0,18	0,15	**0,17**	**10,2**	**0,20**	**10,2**	**0,20**	**13,1**
butanoate d'éthyle	0,25	0,19	0,18	**0,21**	**15,9**	0,24	0,20	0,19	**0,21**	**11,6**	0,29	0,21	0,30	**0,27**	**14,5**	**0,23**	**12,6**	**0,23**	**19,1**
2-méthyl-3-buten-2-ol	0,47	0,43	0,43	**0,44**	**3,4**	0,43	0,41	0,46	**0,43**	**4,6**	0,40	0,42	0,38	**0,40**	**4,0**	**0,43**	**4,2**	**0,43**	**5,9**
δ-3-carène	0,11	0,10	0,11	**0,11**	**3,1**	0,11	0,11	0,10	**0,10**	**2,2**	0,07	0,09	0,08	**0,08**	**8,5**	**0,10**	**11,6**	**0,10**	**11,3**
β-myrcène	1,21	1,07	1,14	**1,14**	**5,0**	1,13	1,13	1,11	**1,12**	**0,8**	1,07	1,06	1,06	**1,06**	**0,3**	**1,11**	**2,9**	**1,11**	**4,2**
γ-terpinène	0,12	0,12	0,13	**0,12**	**3,7**	0,12	0,13	0,12	**0,12**	**3,4**	0,12	0,12	0,11	**0,12**	**2,8**	**0,12**	**2,7**	**0,12**	**4,3**
α-terpinolène	0,11	0,10	0,09	**0,10**	**5,6**	0,10	0,09	0,11	**0,10**	**10,3**	0,10	0,10	0,10	**0,10**	**0,9**	**0,10**	**1,3**	**0,10**	**6,9**
3-méthyl-2-buten-1-ol	0,12	0,11	0,12	**0,11**	**4,1**	0,12	0,11	0,11	**0,11**	**2,8**	0,12	0,11	0,11	**0,11**	**2,3**	**0,11**	**0,9**	**0,11**	**3,3**
furfural	0,26	0,22	0,23	**0,24**	**7,7**	0,20	0,19	0,20	**0,20**	**2,2**	0,22	0,22	0,20	**0,21**	**5,1**	**0,21**	**7,2**	**0,21**	**9,3**
α-copaène	0,17	0,16	0,20	**0,18**	**7,4**	0,16	0,14	0,12	**0,14**	**13,2**	0,02	0,03	0,04	**0,03**	**21,2**	**0,12**	**52,8**	**0,12**	**54,1**
linalol	1,17	1,08	1,17	**1,14**	**3,9**	1,15	1,18	1,10	**1,14**	**2,9**	1,08	1,15	1,04	**1,09**	**4,0**	**1,12**	**2,1**	**1,12**	**4,2**
octanol	0,12	0,10	0,12	**0,11**	**7,3**	0,11	0,12	0,11	**0,11**	**4,8**	0,12	0,11	0,10	**0,11**	**6,9**	**0,11**	**1,8**	**0,11**	**6,7**
terpinen-4-ol	0,42	0,39	0,48	**0,43**	**8,4**	0,41	0,37	0,42	**0,40**	**5,5**	0,37	0,43	0,40	**0,40**	**5,8**	**0,41**	**3,7**	**0,41**	**7,8**
β-terpinéol	0,24	0,22	0,24	**0,23**	**3,7**	0,23	0,22	0,21	**0,22**	**4,3**	0,20	0,23	0,20	**0,21**	**6,6**	**0,22**	**3,6**	**0,22**	**6,1**
α-terpinéol	3,39	3,20	3,44	**3,34**	**3,1**	3,60	3,41	3,23	**3,41**	**4,3**	3,15	3,58	3,10	**3,28**	**6,6**	**3,34**	**1,6**	**3,34**	**5,1**
valencène	1,62	1,84	1,70	**1,72**	**5,2**	2,15	1,88	1,68	**1,90**	**10,0**	0,91	1,14	1,39	**1,15**	**17,1**	**1,59**	**20,2**	**1,59**	**22,7**
carvone	0,36	0,08	0,10	**0,18**	**71,2**	nq	nq	nq	**nq**	**nq**	0,54	0,48	0,47	**0,49**	**6,4**	**0,34**	**46,6**	**0,34**	**54,2**
δ-cadinène	0,46	0,44	0,35	**0,42**	**10,9**	0,43	0,37	0,23	**0,34**	**23,4**	0,52	0,47	0,52	**0,50**	**5,2**	**0,42**	**15,5**	**0,42**	**20,4**
trans-carvéol	0,29	0,26	0,27	**0,27**	**3,2**	0,28	0,26	0,25	**0,26**	**5,1**	0,24	0,27	0,23	**0,25**	**6,9**	**0,26**	**4,1**	**0,26**	**6,6**
géraniol	0,14	0,14	0,11	**0,13**	**9,6**	0,13	0,12	0,12	**0,12**	**3,4**	0,11	0,13	0,11	**0,11**	**8,2**	**0,12**	**4,9**	**0,12**	**9,1**
cis-carvéol	0,10	0,09	0,09	**0,09**	**2,8**	0,09	0,09	0,08	**0,09**	**5,5**	0,08	0,09	0,08	**0,09**	**3,2**	**0,09**	**3,5**	**0,09**	**5,3**
p-mentha-1,8-dien-9-ol	0,09	0,09	0,09	**0,09**	**2,1**	0,09	0,08	0,08	**0,09**	**4,1**	0,08	0,09	0,08	**0,08**	**7,2**	**0,09**	**4,4**	**0,09**	**6,5**
4 vinylgaïacol	0,19	0,18	0,18	**0,18**	**1,9**	0,19	0,19	0,18	**0,19**	**1,9**	0,20	0,23	0,20	**0,21**	**6,7**	**0,19**	**5,3**	**0,19**	**6,9**
β-sinensal	0,07	0,06	0,07	**0,07**	**6,6**	0,07	0,08	0,09	**0,08**	**11,0**	0,09	0,07	0,08	**0,08**	**11,8**	**0,07**	**5,3**	**0,07**	**11,6**
limonène-1,2-diol	0,54	0,49	0,52	**0,52**	**4,0**	0,53	0,49	0,47	**0,50**	**5,1**	0,48	0,50	0,44	**0,48**	**5,2**	**0,50**	**3,2**	**0,50**	**5,7**
nootkatone	0,34	0,28	0,35	**0,32**	**9,8**	0,26	0,29	0,31	**0,29**	**6,5**	0,30	0,28	0,29	**0,29**	**3,7**	**0,30**	**5,1**	**0,30**	**9,0**

a : en $\mu g.g^{-1}$; nq : non quantifié

Tableau 21. Influence de la pasteurisation sur les concentrations en composés d'arôme du jus à base de concentré : concentrations des composés d'arôme dans le concentré, dans les fractions aqueuse et huileuse, total théorique (somme du concentré et des 2 fractions) et concentration réelle dans le jus pasteurisé, pour 1 L de jus reconstitué

Composé[a]	Concentré	Fraction aqueuse	Fraction huileuse	Total théorique	Conc. réelle jus pasteurisé à t0	Différence entre Théorique et réel	Pertes ou formation pendant la pasteurisation
α-pinène	0,18	0,00	0,21	0,39	0,27	0,12	30 % de pertes
butanoate d'éthyle	0,01	0,23	0,00	0,25	0,27	-0,03	
2-méthyl-3-buten-2-ol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	-0,05	formation
hexanal	0,00	0,10	0,00	0,10	0,13	-0,02	
δ-3-carène	0,07	0,00	0,01	0,08	0,11	-0,03	
β-myrcène	0,96	0,00	0,78	1,75	1,25	0,49	28 % de pertes
limonène	94,21	0,02	67,35	161,56	135,82	25,74	16 % de pertes
γ-terpinène	0,03	0,00	0,02	0,05	0,08	-0,03	
p-cymène	0,02	0,00	0,01	0,02	0,18	-0,16	formation
α-terpinolène	0,02	0,00	0,02	0,05	0,06	-0,02	
octanal	0,05	0,00	0,08	0,14	0,13	0,01	
3-méthyl-2-buten-1-ol	0,00	0,01	0,00	0,01	0,03	-0,02	
nonanal	0,05	0,00	0,06	0,11	0,08	0,03	
cis-oxyde de limonène	0,00	0,00	0,08	0,08	0,00	0,08	100 % de pertes
trans-oxyde de limonène	0,00	0,00	0,06	0,06	0,00	0,06	100 % de pertes
citronellal	0,00	0,00	0,11	0,11	0,00	0,11	100 % de pertes
décanal	0,36	0,00	0,53	0,89	0,68	0,21	23 % de pertes
linalol	0,83	0,07	0,92	1,81	1,94	-0,12	formation
octanol	0,04	0,01	0,03	0,08	0,10	-0,02	
β-caryophyllène	0,05	0,00	0,08	0,12	0,09	0,04	
terpinen-4-ol	0,16	0,01	0,09	0,25	0,33	-0,08	formation
p-menthadien-1-ol	0,00	0,00	0,10	0,10	0,12	-0,03	
β-terpinéol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	-0,02	
hexanoate de 3-hydroxyéthyle	0,00	0,02	0,00	0,02	0,03	0,00	
néral	0,00	0,00	0,17	0,17	0,00	0,17	100 % de pertes
α-terpinéol	0,27	0,03	0,24	0,53	0,64	-0,11	formation
valencène	0,65	0,00	1,09	1,74	1,48	0,27	15 % de pertes
géranial	0,00	0,00	0,36	0,36	0,02	0,34	94 % de pertes
δ-cadinène	0,13	0,00	0,19	0,32	0,43	0,09	formation
périllaldéhyde	0,07	0,00	0,13	0,20	0,17	0,03	
nérol	0,04	0,00	0,02	0,06	0,04	0,02	
trans-carvéol	0,02	0,00	0,08	0,11	0,14	-0,03	
géraniol	0,00	0,00	0,02	0,02	0,11	-0,10	formation
cis-carvéol	0,00	0,00	0,04	0,04	0,07	-0,03	
p-mentha-1,8-dien-9-ol	0,00	0,00	0,03	0,03	0,08	-0,05	formation
β-sinensal	0,06	0,00	0,01	0,07	0,07	0,00	
α-sinensal	0,08	0,00	0,01	0,08	0,05	0,03	
nootkatone	0,26	0,00	0,04	0,31	0,20	0,10	33 % de pertes
total	**98,84**	**0,64**	**73,27**	**172,74**	**145,76**	**26,98**	**16 % de pertes au total**

a : en $\mu g.g^{-1}$, en bleu: composés diminuant significativement pendant la pasteurisation, en rouge : composés augmentant significativement pendant la pasteurisation

5.2 Effets de la pasteurisation sur les composés d'arôme du jus à base de concentré : analyse du concentré, des phases aqueuse et huileuse

Lors de la fabrication pilote du jus à base de concentré, les ingrédients utilisés sont le concentré et les phases aromatiques aqueuse et huileuse. Chacune de ces matières premières est extraite et les composés d'arôme sont quantifiés. Afin de juger de l'influence de la pasteurisation sur les composés d'arôme, une comparaison est ensuite réalisée entre la teneur théorique (contributions des teneurs en composés d'arôme des différentes matières premières ajoutées) et la composition réelle obtenue dans le jus à base de concentré pasteurisé. Il aurait également été intéressant de quantifier les teneurs dans le jus non pasteurisé malheureusement cette manipulation n'a pas été réalisée. De plus, la fabrication pilote n'est pas équipée d'un dégazeur traditionnellement utilisé dans l'industrie si bien que les évolutions observées concernent essentiellement l'effet de la pasteurisation à 92ºC pendant 20 s.
Le Tableau 21 présente les concentrations mesurées dans le concentré, dans les fractions aromatiques aqueuse et huileuse et dans le jus pasteurisé.

Le composé majoritaire dans le concentré est le limonène qui représente plus de 93 % de l'ensemble des composés d'arôme (64 $\mu g.g^{-1}$). Les autres composés présents par ordre décroissant sont le β-myrcène, le linalol, le valencène, le décanal, l'α-terpinéol, la nootkatone, la carvone, l'α-pinène et le terpinen-4-ol. Leurs concentrations sont comprises entre 0,96 et 0,16 $\mu g.g^{-1}$. Tous les autres composés ont des concentrations inférieures à 0,13 $\mu g.g^{-1}$. Cette analyse confirme que le concentré a un profil aromatique très pauvre, les arômes ayant été perdus lors du procédé d'évaporation et de concentration. Des composés caractéristiques de l'oxydation du limonène comme la carvone et l'α-terpinéol ont également été identifiés.
La fraction aromatique aqueuse (phase la plus volatile obtenue lors de la concentration du jus) contient 36 % de butanoate d'éthyle, 16 % d´hexanal et 11 % de linalol. Cette fraction contient un faible nombre de composés d'arôme et son intérêt principal est le butanoate d'éthyle apportant des notes de fraîcheur au jus.

La fraction aromatique huileuse contient essentiellement des dérivés terpéniques avec 89 % de limonène et d'autres terpènes comme le valencène (2 %), le β-myrcène (1,5 %) et l'α-pinène (0,4 %). Nous pouvons noter également la présence de linalol, de décanal, de néral, de géranial, de citronellal, d'α-terpinéol et de carvone. Les deux derniers composés sont présents à la même concentration que dans le concentré et sont des composés d'oxydation du

limonène. De plus, des oxydes de limonène ont également été trouvés confirmant une oxydation du limonène dans le concentré et dans la fraction huileuse. Les fractions aromatiques analysées étaient celles disponibles chez l'industriel et conservés en bidons à 4ºC après ouverture. Les contacts avec l'air et l'absence d'inertage du bidon et de son espace de tête peuvent expliquer la présence de ces composés.

Quand la différence de concentration entre la valeur théorique et la valeur réelle obtenue dans le jus pasteurisé est inférieure à 0,05 $\mu g.g^{-1}$, le composé est considéré comme stable à la pasteurisation. Plusieurs composés présentent des pertes à la pasteurisation comme les terpènes : α-pinène, β-myrcène, limonène et le valencène. Ces pertes sont comprises entre 15 et 30 %. D'autres composés disparaissent totalement : oxydes de limonène, citronellal, néral, géranial (94 %). Enfin, le décanal et la nootkatone présentent des pertes respectives de 23 et 33 %.

Les composés dont les concentrations augmentent lors de la pasteurisation sont, par ordre croissant, le linalol, l'α-terpinéol, le terpinen-4-ol, le δ-cadinène, le *p*-mentha-1,8-dien-9-ol, le *p*-cymène et le géraniol. Enfin, le 2-méthyl-3-buten-2-ol n'était présent dans aucune matière première et apparaît dans le jus pasteurisé.

L'apparition de plusieurs composés est liée à la dégradation d'autres molécules. Ainsi, la perte de 16 % de limonène est cohérente avec la formations de plusieurs composés (voir Figure 10). En effet, Mitiku *et al.* (2000) ont rapporté la présence d'α-terpinéol, de nérol, de géraniol et de carvéol dans des huiles d'orange douce. Leur apparition est attribuée à l'oxydation du limonène. Tous ces composés sont en augmentation dans le jus pasteurisé par rapport au total théorique. De plus, des composés formés par catalyse acide du limonène sont également formés : *p*-cymène, terpinen-4-ol, α-terpinéol (Clark et Chamblee, 1992). Le néral et le géranial disparaissent presque totalement tandis que leurs sous-produits formés en conditions acides (Clark et Chamblee, 1992) sont en augmentation: *p*-menthadien-1-ol, *p*-mentha-1,8-dien-9-ol et *p*-cymène. La dégradation de l'α-pinène pourrait quant à elle être reliée à la formation de terpinen-4-ol et d'α-terpinéol par catalyse acide (Clark et Chamblee, 1992). Plusieurs composés de dégradation sont déjà présents dans le concentré (comme le *p*-cymène ou le terpinen-4-ol) et ont probablement été formés lors de la première pasteurisation. La fabrication du jus à base de concentré nécessite en effet deux étapes de pasteurisation. Ces deux traitements thermiques sont responsables de la formation de nouveaux composés dans le jus comme l'avait observé Sizer *et al.* (1988). La teneur en arôme diminue de 16 % pendant la deuxième pasteurisation, ce qui est principalement dû aux pertes en limonène par oxydation et/ou par catalyse acide.

Tableau 22. Composés d'arôme du jus d'orange à base de concentré conservé dans le verre, les PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™) après 2, 3 et 5 mois de stockage (notés 2m, 3m et 5m respectivement).

Composé[a]	Méthode d'identification[b]	IRL[c]	IRL[d]	t_0	verre 2m	PET1 2m	PET2 2m	PET3 2m	verre 3m	PET1 3m	PET2 3m	PET3 3m	verre 5m	PET1 5m	PET2 5m	PET3 5m
hydrocarbures monoterpéniques																
α-pinène	1	1038	1039	0,27	0,24	0,28	0,24	0,24	0,16	0,18	0,16	0,17	0,09	0,11	0,09	0,11
β-myrcène	1	1148	1148	1,25	1,15	1,46	1,22	1,35	1,02	1,17	1,22	1,05	0,8	1,03	1,05	1,12
limonène (+ β-phellandrène)	1	1183	1188	135,82	112,47	115,63	121,85	119,8	103,82	114,07	109,35	88,3	85,60	97,05	97,28	94,75
γ-terpinène	1	1224	1251	0,08	0,07	0,06	0,05	0,07	0,05	0,06	0,06	0,05	0,05	0,09	0,08	0,05
α-terpinolène	1	1264	1284	0,06	0,08	0,08	0,08	0,09	0,07	0,08	0,07	0,07	tr[f]	0,07	0,07	0,08
Total				137,48	114,01	117,51	123,44	121,55	105,12	115,56	110,86	89,64	86,54	98,35	98,57	96,11
hydrocarbures sesquiterpéniques																
ni[e]	2	1557	-	0,16	0,16	0,18	0,17	0,13	0,17	0,15	0,19	0,17	tr	0,06	tr	tr
β-caryophyllène	2	1562	1585	0,09	0,11	0,11	0,11	0,08	0,10	0,09	0,10	0,12	0,05	0,1	0,09	0,07
ni	2	1655	-	0,12	0,10	0,11	0,10	0,08	0,08	0,10	0,11	0,11	tr	tr	tr	tr
δ-cadinène	2	1722	1719	0,43	0,50	0,54	0,5	0,38	0,47	0,43	0,47	0,50	0,21	0,37	0,32	0,26
total				0,80	0,87	0,94	0,88	0,67	0,82	0,77	0,87	0,90	0,26	0,53	0,41	0,33
esters																
butanoate d'éthyle	1	1048	1040	0,27	0,22	0,24	0,22	0,23	0,16	0,18	0,18	0,20	0,12	0,13	0,10	0,14
alcools aliphatiques																
2-methyl-3-buten-2-ol	2	1051	1078	0,05	0,20	0,21	0,17	0,18	0,19	0,18	0,22	0,20	0,32	0,30	0,31	0,34
3-methyl-2-buten-1-ol	2	1301	1277	tr	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,09
octanol	1	1537	1536	0,10	0,10	0,13	0,12	0,12	0,09	0,09	0,09	0,12	0,06	0,07	0,08	0,08
total				0,15	0,36	0,40	0,36	0,37	0,35	0,34	0,38	0,40	0,46	0,45	0,47	0,51

Tableau 22, suite	Méthode d'identification[b]	IRL[c]	IRL[d]	T_0	verre 2m	PET1 2m	PET2 2m	PET3 2m	verre 3m	PET1 3m	PET2 3m	PET3 3m	verre 5m	PET1 5m	PET2 5m	PET3 5m
alcools monoterpéniques																
linalol	1	1525	1530	1,94	1,70	1,87	1,74	1,66	1,30	1,38	1,31	1,55	0,94	1,03	0,98	1,02
terpinen-4-ol	1	1574	1628	0,33	0,35	0,37	0,36	0,34	0,31	0,34	0,31	0,35	0,22	0,27	0,26	0,26
p-menthadien-1-ol	2	1600	1620	0,12	0,06	0,07	0,07	0,06	tr	0,05	tr	0,05	tr	tr	tr	tr
β-terpinéol	2	1603	1616	tr	0,11	0,12	0,12	0,12	0,14	0,14	0,15	0,15	0,14	0,18	tr	tr
α-terpinéol	1	1669	1661	0,64	1,88	1,76	1,79	1,78	2,19	1,95	2,40	2,36	2,33	2,30	2,81	2,55
trans-carvéol	1	1804	1801	0,14	0,18	0,2	0,21	0,19	0,18	0,19	0,20	0,22	0,17	0,18	0,20	0,18
géraniol	1	1822	1797	0,11	0,07	0,09	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,10	0,06	0,08	0,08	0,05
cis-carvéol	1	1835	1820	0,07	0,07	0,08	0,08	0,07	0,06	0,06	0,06	0,07	0,05	0,06	0,06	0,06
p-mentha-1,8-dien-9-ol	2	1962	1980	0,08	0,07	0,10	0,08	0,08	0,11	0,17	0,19	0,11	0,05	0,06	0,05	0,06
limonène-1,2-diol	2	2222	2115	0,60	0,66	0,77	0,66	0,62	0,60	0,52	0,53	0,68	0,49	0,64	0,51	0,55
total				4,03	5,15	5,43	5,19	5,00	4,97	4,88	5,22	5,64	4,45	4,8	4,95	4,73
aldéhydes et cétones																
hexanal	1	1077	1084	0,13	tr	0,06	0,05	0,05	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
octanal	1	1267	1276	0,13	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0	0	tr
nonanal	1	1369	1374	0,08	tr	0	tr	tr	tr	0	0	0	tr	0	0	0
furfural	2	1432	1433	0	tr	0,05	tr	0,05	0,07	0,05	0,07	0,08	0,14	0,15	0,19	0,19
décanal	1	1472	1478	0,68	0,08	0,05	0,09	0,10	0,05	tr	0,05	0,07	0,06	tr	0,06	0,07
β-sinensal	1	2186	2200	0,07	0,07	0,09	0,06	0,09	0,06	tr	0,06	0,07	0,05	tr	0,05	tr
α-sinensal	1	2253	2268	0,05	0,07	0,06	0,06	0,07	tr	0,06	0,07	0,07	0,05	0,06	0,06	0,05
5-(hydroxyméthyl)-2-furfural	2	2354	2410	0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
nootkatone	2	2366	2250	0,20	0,23	0,27	0,24	0,25	0,21	0,20	0,20	0,29	0,21	0,19	0,28	0,23
total				1,34	0,45	0,58	0,50	0,61	0,39	0,31	0,45	0,58	0,51	0,40	0,64	0,54
autres																
4-vinylgaïacol	2	2151	2121	0	0,05	0,08	0,10	0,08	0,10	0,10	0,09	0,14	0,14	0,13	0,16	0,15
total général				144,07	121,11	125,18	130,69	128,51	111,91	122,14	118,05	97,50	92,48	104,79	105,30	102,51

[a] en µg g^{-1}. [b] Méthode utilisée pour l'identification: 1. identification par l'indice de rétention linéaire et par le spectre de masse du compose de référence; 2. tentative d'identification par l'indice de rétention linéaire et par un spectre de masse similaire aux spectres des librairies [c] Indice de Rétention Linéaire calculé sur la DB-Wax. [d] IRL de la littérature: Jennings et Shibamoto (1980); Kondjoyan et Berdagué (1996). [e] Hydrocarbure sesquiterpénique non-identifié (*M*w = 204). [f] traces (< 0.05 µg g^{-1}).

5.3 Evolution des composés d'arôme des jus conditionnés au cours du stockage : aspects physicochimiques

Les concentrations en composés d'arôme du jus à base de concentré conservé dans le verre et dans les PET1, 2 et 3 après 2,3 et 5 mois sont présentées dans le Tableau 22. Les composés d'arôme sont regroupés par famille et la concentration totale de chaque famille est calculée. La limite de détection est de 0,05 $\mu g.g^{-1}$ et les écarts-types dépendent des valeurs de concentrations : de 0,05 à 0,5 $\mu g.g^{-1}$ (3-20 %) et de 0,5 à 150 $\mu g.g^{-1}$ (4-6 %). Il est important de signaler que les différents profils chromatographiques obtenus contiennent des pics associés à des composés issus des emballages de PET (phtalates). Ces composés mettent en évidence le phénomène de migration qu'il serait intéressant d'évaluer par la suite.

Une Analyse par Composante Principale (ACP) est réalisée en considérant les différentes familles de composés d'arôme. L'ACP montre que 91 % de la variance totale est représentée sur les axes 1 et 2, avec 80 % pour l'axe 1 et 11 % pour l'axe 2 (Figure 33).

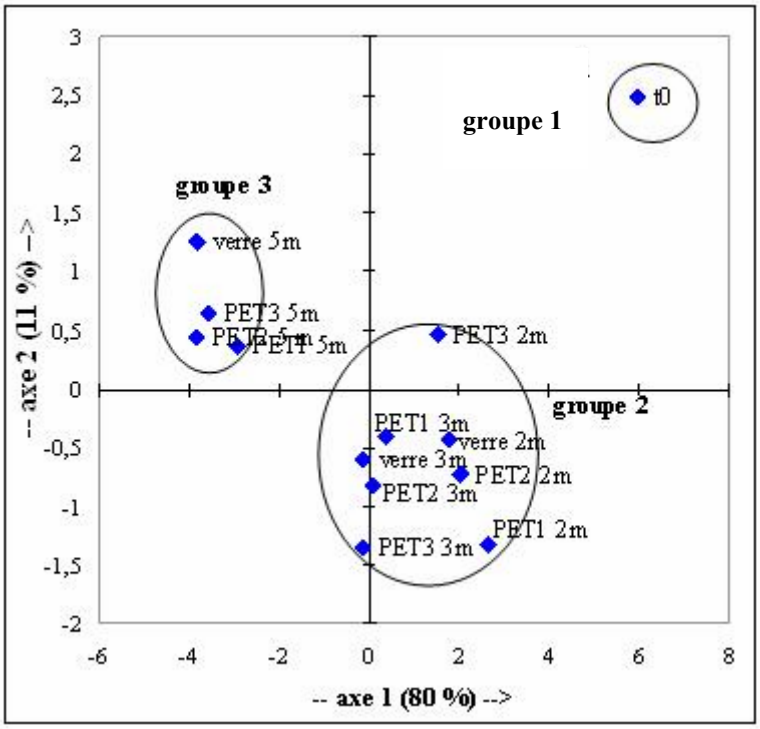


Figure 33. Distribution des individus (jus conservés dans les différents emballages PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™)) de l'Analyse en Composantes Principales après 0, 2, 3 et 5 mois de stockage

La distribution des variables est donnée dans la Figure 34. Deux groupes de variables sont bien représentés sur l'axe 1. Le premier groupe comprend les aldéhydes (sauf furfural et 5-(hydroxyméthyl)-2-furfural) et cétones (nootkatone), les hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques, le butanoate d'éthyle, des alcools aliphatiques (octanol) et monoterpéniques (linalol, terpinen-4-ol, *p*-mentha-dien-1-ol, géraniol). Le second groupe comprend le furfural, des alcools aliphatiques (2-méthyl-3-buten-2-ol et 3-méthyl-2-buten-1-ol) et monoterpéniques (α-terpinéol et β-terpinéol) et le 4-vinylgaïacol. Le premier groupe correspond aux composés d'arôme initialement présents dans le jus, dont la teneur diminue (D) tandis que le second groupe correspond aux composés qui augmentent (A) pendant le stockage.

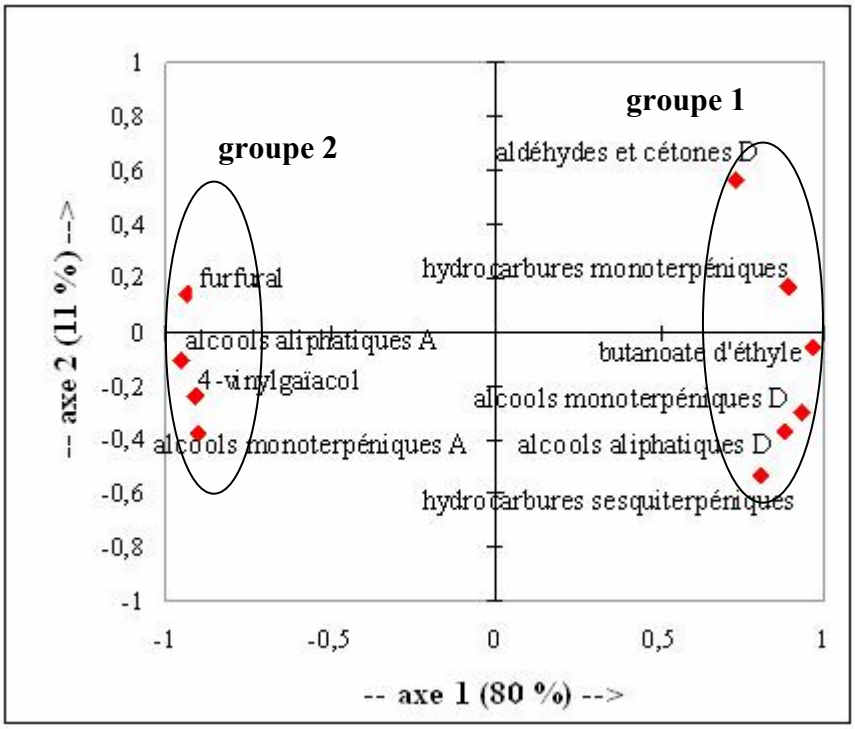


Figure 34. Distribution des variables (composés d'arôme) de l'ACP (A augmentant; D, diminuant)

La distribution des 13 individus (le jus à t_0 puis les jus conservés dans les 4 types de matériau à 3 temps différents) est donnée dans la Figure 33. Trois groupes d'individus peuvent être distingués :

- Groupe 1 : il correspond au jus d'orange initial (t0). Ce jus est caractérisé par de fortes teneurs en aldéhydes, comme l'hexanal et le décanal et également en cétones (Tableau 22).

- Groupe 2 : il comprend les jus conservés dans tous les emballages après 2 et 3 mois de stockage. Tous les jus sont situés dans la même zone de l'axe 1 ce qui signifie que les différences de leurs teneurs en composés d'arôme après 2 mois et 3 mois de stockage sont faibles. Ces jus contiennent alors des quantités plus faibles en composés d'arôme par rapport jus initial. Les principales évolutions en composés d'arôme se produisent entre t0 et 2 mois de stockage. Ces jus sont également moins riches en composés de dégradation (furfural ou 4-vinylgaïacol) que les jus après 5 mois de stockage (groupe 3).
- Groupe 3 : il comprend les jus conservés dans tous les emballages après 5 mois de stockage. Ils sont situés au même endroit sur l'axe 1 et ils sont caractérisés par des teneurs élevées et croissantes en composés de dégradation comme le furfural, les alcools aliphatiques et monoterpéniques (A), et le 4-vinylgaïacol (Tableau 22).

Ainsi, l'ACP réalisée a montré que les jus étaient différenciés par leur durée de stockage selon l'axe 1. Dans chaque groupe, les différents emballages ne semblent pas être différenciés. Enfin, l'axe 2 demeure difficile à interpréter et ne représente que 11 % de la variabilité totale. Une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) (Figure 35) est alors effectuée pour connaître les distances euclidiennes entre les différents individus.

Figure 35. Classification Ascendante Hiérarchique après 0, 2, 3 et 5 mois de stockage dans le verre et dans les PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis Lite™).

Deux groupes sont différenciés : le groupe I avec le t0 et les jus après 2 et 3 mois de stockage tout emballage confondu, et le groupe II avec les jus après 5 mois et le jus après 3 mois conservé dans le PET3. Le comportement de ce dernier pourrait être expliqué par une évolution plus rapide des composés d'arôme et donc par une similarité plus importante avec les jus conservés 5 mois.

Dans le groupe I, le t0 (i) est clairement différencié des autres jus (ii). Dans le sous-groupe (ii), le PET1 après 3 mois est plus proche des jus après 2 mois que des autres échantillons stockés 3 mois (Tableau 22). Globalement, comme dans l'ACP, la CAH montre que les jus sont principalement différenciés en fonction de leur durée de stockage. L'effet temps l'emporte par rapport à l'influence du type d'emballage sur l'évolution aromatique du jus. En effet, dans la CAH, au sein d'un sous-groupe, les différences entre les emballages sont faibles et il semble difficile d'établir une corrélation entre le type de matériau utilisé et l'évolution aromatique au sein du jus. Dans le groupe II, le jus conservé dans le verre pendant 5 mois est différencié des jus conservés dans les PET1, PET2 et PET3. Cette observation est en accord avec les résultats de Ducruet *et al.* (2001) réalisés sur un sirop de fraise. En effet, l'arôme de fraise était plus acceptable après 330 jours de stockage dans un matériau en verre que dans des bouteilles de PET.

Le verre pourrait avoir un avantage sur l'évolution aromatique par rapport au PET pour des stockages longs supérieurs à 5 mois. Il serait intéressant de poursuivre l'étude du vieillissement au-delà de 5 mois, ceci permettant de déterminer si la DLUO du jus peut être augmentée en emballage PET ou si le verre reste le matériau le plus adapté pour des temps longs de conservation.

L'ACP réalisée avec les composés d'arôme du jus a montré que l'évolution des composés d'arôme est comparable pour les différents matériaux, et ne dépend que de la durée de stockage. Pour représenter cette cinétique d'évolution des composés d'arôme, nous avons choisi l'un des emballages, le PET2 (Figure 36).

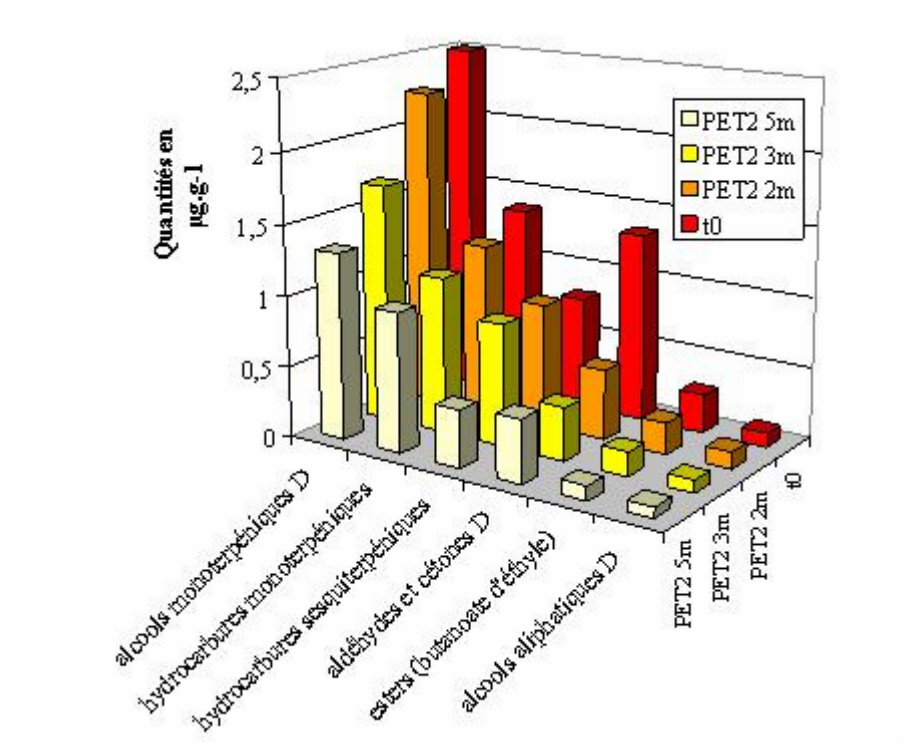


Figure 36. Diminution des concentrations des familles de composés d'arôme dans le jus au cours du stockage avec le PET2 (Bindox®), pendant 5 mois

Après 5 mois, les concentrations d'aldéhydes et de cétones ont diminué de 66 % (de 1,34 à 0,45 $\mu g.g^{-1}$) et celles du butanoate d'éthyle de 62 %. Les hydrocarbures monoterpéniques, sesquiterpéniques, les alcools aliphatiques et les alcools monoterpéniques ont également diminué de manière notable, respectivement de 28, 49, 20 et 47 % (Tableau 22 et Figure 36). La Figure 37 représente les diminutions spécifiques de plusieurs composés d'arôme de ces différentes familles. Le butanoate d'éthyle a été choisi car il est un des composés les plus importants dans les notes de tête de l'orange. Parmi les aldéhydes et les cétones qui diminuent au cours du stockage, l'hexanal, l'octanal, le nonanal et le décanal sont particulièrement affectés. Le décanal est représenté dans la Figure 37 comme exemple du comportement de ces trois aldéhydes. Ces derniers ont probablement été transformés en leurs acides correspondants. Les acides ont été identifiés dans les échantillons mais n'ont pas été quantifiés, l'usage d'une colonne de type FFAP aurait pu permettre de les quantifier avec une meilleure répétabilité. Les autres composés représentés dans la Figure 37 sont susceptibles de provoquer l'apparition de composés de dégradation.

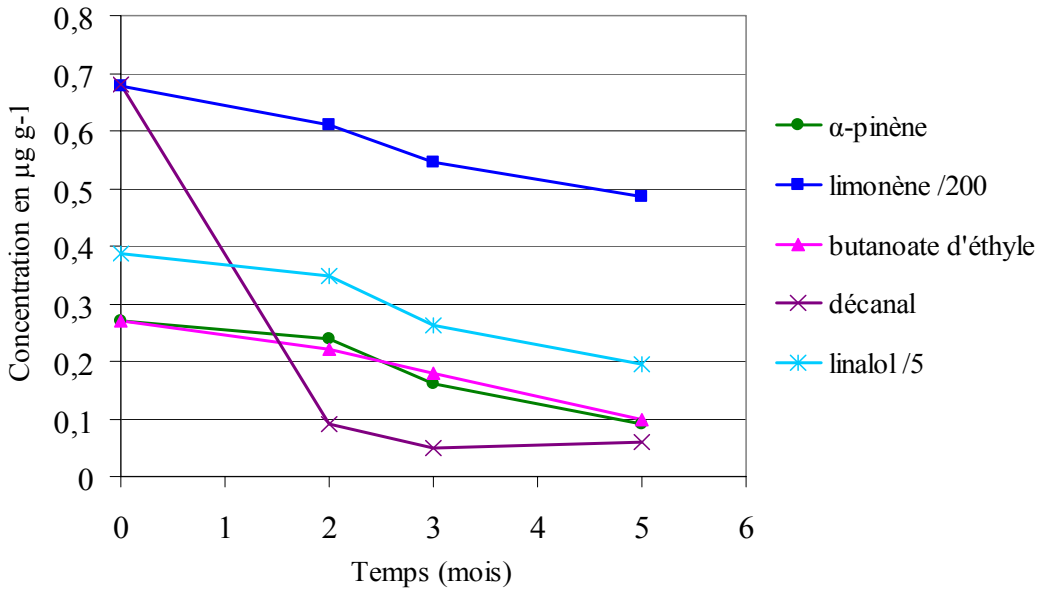


Figure 37. Diminutions des concentrations de plusieurs composés d'arôme dans le jus conservé dans le PET2 (Bindox®) pendant 5 mois à 20°C

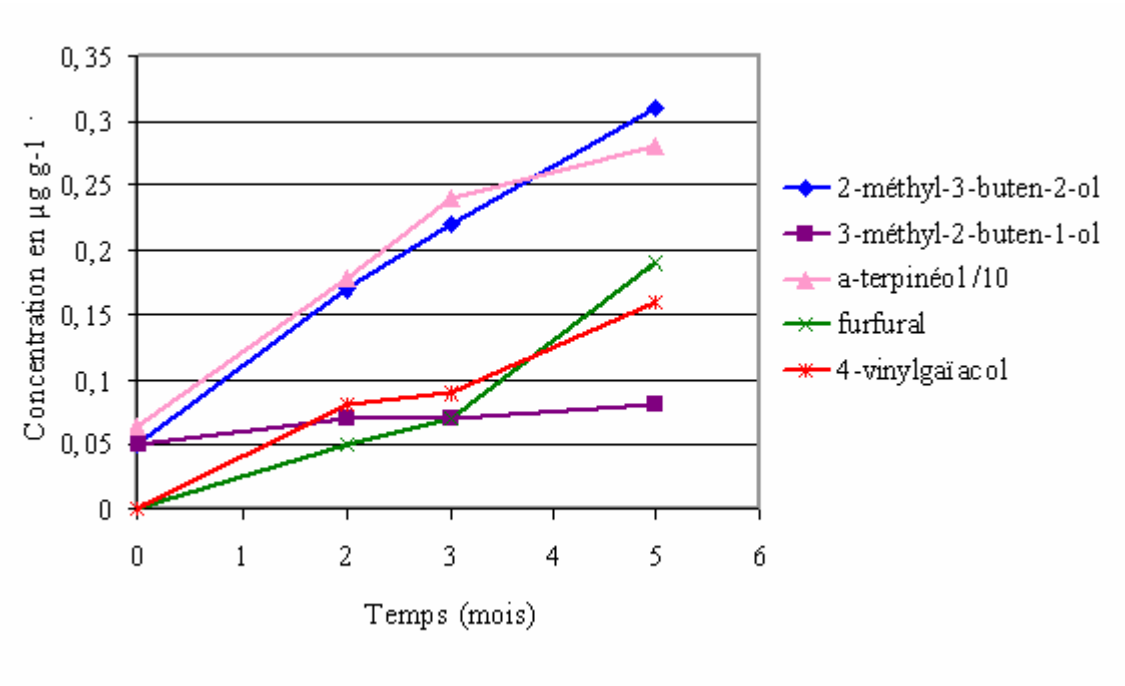


Figure 38. Augmentations des concentrations de plusieurs composés d'arôme dans le jus conservé dans le PET2 (Bindox®)pendant 5 mois à 20°C

Parmi eux, le limonène diminue de 28 % (de 136 à 97 $\mu g.g^{-1}$ après 5 mois de stockage dans le PET2) et il a été montré que ce composé était capable de générer des composés de dégradation par oxydation et par catalyse acide. La forte diminution de l'α-pinène (Figure 37) est connue pour générer du terpinen-4-ol et de l'α-terpinéol par catalyse acide (Clark et Chamblee, 1992)

Parmi les alcools monoterpéniques, le linalol est fortement affecté par le stockage et sa concentration diminue de 49 % après 5 mois (Figure 37). Cette évolution est en accord avec les travaux de Clark et Chamblee (1992) confirmant l'oxydation du linalol en α-terpinéol, en nérol et en géraniol. Le nérol et le géraniol sont présents dans le jus à t0 et leurs teneurs restent stables pendant la conservation.

Les principaux composés en augmentation dans le jus après 5 mois de stockage avec le PET2 sont représentés dans la Figure 38. Deux groupes de composés peuvent ainsi être distingués. Le premier groupe correspond aux composés d'arôme initialement présents dans le jus à base de concentré : α et β-terpinéol et les alcools aliphatiques 2-methyl-3-buten-2-ol et 3-methyl-2-buten-1-ol. Parmi eux, l'α-terpinéol et le 2-methyl-3-buten-2-ol présentent les plus fortes augmentations en passant respectivement de 0,64 à 2,81 et de 0,05 à 0,31 $\mu g.g^{-1}$ (Tableau 22 et Figure 38).

Le deuxième groupe de composés en augmentation comprend le furfural et le 4-vinylguaïacol. Ces composés ne sont pas présents dans le jus à t0 et apparaissent au cours du stockage. Dans le cas du PET2, le furfural apparaît après 2 mois et atteint 0,19 $\mu g.g^{-1}$ après 5 mois (Tableau 22 et Figure 38). Dans le jus d'orange, l'acide ascorbique se décompose en formant du furfural, celui-ci est un intermédiaire dans les réactions de polymérisation qui conduisent au brunissement non-enzymatique du jus. Moshonas et Shaw (1989) ont rapporté une augmentation d'un facteur 8 des quantités de furfural dans du jus d'orange conservé 10 mois à 21°C. Shinoda *et al*. (2005) ont montré que le furfural est obtenu par la voie de dégradation anaérobie de la vitamine C et qu'il est un indicateur du vieillissement du jus d'orange. Les concentrations de furfural après 5 mois sont d'ailleurs non significativement différentes entre les emballages possédant des perméabilités à l'oxygène très différentes, ce qui confirme sa formation préférentielle par la voie anaérobie de dégradation de la vitamine C.

Il peut être également observé l'apparition de traces de 5-(hydroxy-méthyl)-2-furfural (5-HMF) dans tous les jus à partir de 2 mois de stockage (Tableau 22). Ce composé spécifique pourrait être un sous-produit de la réaction de Maillard conduisant au brunissement non-enzymatique. Lee et Nagy (1988) ont également trouvé des traces de 5-HMF dans du jus

d'orange conservé 4 mois à 20°C. De plus, les faibles quantités de 5-HMF observées ici pendant tout le stockage à température ambiante vont dans le sens des travaux de Roig *et al*. (1999) et Shinoda *et al*. (2004) qui ont montré que le 5-HMF n'était pas un indicateur du stockage du jus d'orange. En effet nous ne pouvons pas faire de corrélation entre la concentration en 5-HMF et la durée du stockage, la teneur en 5-HMF restant faible pendant les 5 mois du suivi.

Le deuxième composé de dégradation identifié et quantifié est le 4-vinylgaïacol. Sa concentration dans le jus avec le PET2, augmente jusqu'à 0,16 $\mu g.g^{-1}$ après 5 mois de stockage à 20°C. Ce comportement typique est en accord avec les résultats de Naim *et al*. (1988) et Peleg *et al.* (1992) qui ont montré que l'acide férulique, produit de dégradation de la lignine, était un précurseur du 4-vinylgaïacol dans des solutions modèles de jus d'orange. L'acidité, le traitement thermique et les températures de stockage élevées favorisent la libération de l'acide férulique lié à des glycosides, des esters et des amides (Lee et Nagy, 1990) qui peut ensuite se dégrader par décarboxylation en 4-vinylgaïacol. La décarboxylation peut également avoir lieu en conditions anaérobies si certaines levures se maintiennent dans le jus d'orange concentré et congelé, malgré le traitement thermique. Cette réaction pourrait avoir également lieu dans des jus d'orange stockés à des températures trop élevées (Sutherland *et al*., 1995).

Effet d'un stockage à l'obscurité sur le profil aromatique

Comme pour la détermination de la teneur en vitamine C, les composés d'arôme ont été extraits dans les jus à base de concentré conservés à l'obscurité. Le Tableau 23 présente les concentrations obtenues en $\mu g.g^{-1}$ avec le verre et les emballages PET1, 2 et 3 après 3 mois de stockage à l'obscurité. Les valeurs sont comparées avec celles du PET1 3m sous éclairage artificiel (tubes fluorescents).

Tableau 23. Composés d'arôme du jus d'orange à base de concentré conservé dans le PET1 (monocouche) après 3 mois à l'obscurité et après 3 mois sous éclairage artificiel

		Obscurité	Eclairage
Composé[a]	t_0	PET1 3m	PET1 3m
hydrocarbures monoterpéniques			
α-pinène	0,27	0,19	0,18
β-myrcène	1,25	1,26	1,17
limonène + *β*-phellandrène	135,82	111,10	114,07
γ-terpinène	0,08	0,06	0,06
α-terpinolène	0,06	0,08	0,08
total	80,12	79,83	81,46
hydrocarbures sesquiterpéniques			
ni[b]	0,16	0,11	0,15
β-caryophyllène	0,09	0,07	0,09
ni	0,12	0,07	0,10
δ-cadinène	0,43	0,35	0,43
total	0,79	0,59	0,78
esters			
butanoate d'éthyle	0,27	0,17	0,18
alcools aliphatiques			
2-méthyl-3-buten-2-ol	0,05	0,23	0,18
3-méthyl-2-buten-1-ol	0,03	0,07	0,07
octanol	0,10	0,10	0,09
total	0,17	0,40	0,34
alcools monoterpéniques			
linalol	1,94	1,34	1,38
terpinen-4-ol	0,33	0,29	0,34
p-menthadien-1-ol	0,12	0,05	0,05
β-terpinéol	0,02	0,13	0,14
α-terpinéol	0,64	1,88	1,95
trans-carvéol	0,14	0,18	0,19
géraniol	0,11	0,08	0,08
cis-carvéol	0,07	0,06	0,06
p-mentha-1,8-dien-9-ol	0,08	0,07	0,17
limonène-1,2-diol	0,60	0,49	0,52
total	4,07	4,57	4,87
aldéhydes et cétones			
hexanal	0,13	0,03	0,04
octanal	0,13	0,01	0,01
nonanal	0,08	0,01	0,00
furfural	0,00	0,05	0,05
décanal	0,68	0,04	0,04
β-sinensal	0,07	nq[c]	nq
α-sinensal	0,05	nq	0,06
5-(hydroxyméthyl)-2-furfural	0,00	tr	tr
nootkatone	0,20	0,19	0,20
total	1,33	0,32	0,39
autres			
4-vinylgaïacol	0,00	0,10	0,10
total général	86,77	85,99	88,11

[a] en $\mu g.g^{-1}$. [b] ni = Hydrocarbure sesquiterpénique non identifié (*M*w=204). [c] non quantifié. [d] traces (<0,05 $\mu g.g^{-1}$).

La comparaison des valeurs entre le PET1 conservé sous éclairage artificiel et le PET1 conservé à l'obscurité après 3 mois de stockage ne présente pas de différences significatives, sauf pour le *p*-mentha-1,8-dien-9-ol, dont la concentration est légèrement supérieure à l'obsurité à celle obtenue sous éclairage. Ainsi, comme pour la vitamine C, l'évolution du profil aromatique est la même à l'obscurité et sous l'éclairage artificiel que nous avons utilisé. Les réactions de catalyse acide qui prédominent dans le milieu ne nécessitent pas de lumière pour être initiées (Clark et Chamblee, 1992) et se déroulent d'une manière comparable à l'obscurité totale. Les emballages opaques ne permettent donc pas de limiter les réactions de catalyse acide dans le jus d'orange.

5.4 Evolution des composés d'arôme des jus conditionnés au cours du stockage : impact olfactif

Les concentrations des composés d'arôme après 5 mois de stockage sont comparées avec leurs seuils de détection dans le but d'évaluer l'importance des modifications observées sur le plan sensoriel. Les OAV (Odorant Activity Value) sont calculées en divisant la concentration d'un composé par son seuil de détection orthonasal dans l'eau, cette dernière valeur étant obtenue dans les tables de Leffingwell (2005). Une OAV est donc une valeur obtenue par le calcul sans réaliser de mesures sensorielles par des expertes mais en se référant aux tables des seuils de détection des composés d'arôme. Plotto *et al.* (2004) ont déterminé les seuils de détection de plusieurs composés du jus d'orange en particulier les terpènes et les aldéhydes dans un jus d'orange déodorisé. Nous n'avons pas utilisé ces valeurs dans le calcul des OAV car nous ne disposions pas de données pour les composés de dégradation comme le furfural et 4-vinylgaïacol et nous cherchions à évaluer leur impact sensoriel dans le jus comparé aux autres composés d'arôme. Les seuils de détection déterminés par Plotto *et al.* (2004) sont présentés dans les Tableau 6et Tableau 7 de la recherche bibliographique.

Ainsi, un composé d'arôme avec OAV=1 est à la limite de détection et un composé avec une valeur élevée de OAV est considéré comme un fort contributeur à l'arôme d'orange (Buettner et Schieberle, 2001). Quand la concentration d'un composé est inférieure à 0,05 $\mu g.g^{-1}$ (tr dans le Tableau 24), son OAV tend vers zéro et son impact olfactif est très faible voire non existant. Cette démarche ne prend pas en compte les éventuels phénomènes d'interactions entre composés d'arôme qui peuvent modifier le rendu sensoriel. Les résultats des OAV sont présentés dans le Tableau 24. Le butanoate d'éthyle est le seul ester quantifié dans cette étude. Il contribue à la note de tête du jus d'orange avec une odeur très fruitée (Arctander, 1969). Après 5 mois de stockage, son OAV diminue de 274 (t0) à 118, 128, 104 et 140

respectivement dans le verre et les PET1, 2 et 3. Cette diminution pourrait expliquer la perte des notes de fraîcheur au cours de la conservation par rapport au jus initial. Comme le butanoate d'éthyle, le linalol et les aldéhydes présentent également une diminution des OAV quelque soit l'emballage utilisé. L'OAV du linalol chute de 323 à 157 dans le verre, provoquant certainement une diminution de la note florale. L'octanal et le nonanal sont connus pour contribuer aux notes d'agrumes dans les jus de fruits. Leur OAV respective diminue de 184 et 75 jusqu'à pratiquement 0 avec tous les types d'emballage, provoquant certainement une diminution considérables des notes vertes. La dégradation des aldéhydes pourrait avoir un fort impact sur la perception sensorielle du jus après stockage. L'α-terpinéol est décrit comme floral et avec une note de lilas mais il a aussi été décrit comme un off-flavor dans les jus d'orange après vieillissement avec des notes de moisi, terreux et champignon (Arctander, 1969). L'α-terpinéol se forme par catalyse acide par dégradation du limonène et du linalol (Haleva-Toledo *et al*., 1999). Dans notre jus, l'OAV de l'α-terpinéol augmente de 2 à 8 avec le PET2, en atteignant une concentration 4 fois supérieure à la concentration initiale. Quant au furfural, son OAV n'évolue que très peu quelque soit l'emballage utilisé, en passant de 0 à un maximum de 0,06. En effet, bien que le furfural soit connu comme un composé typique d'un stockage trop long, sa concentration reste ici trop faible pour le considérer comme un contributeur négatif direct aux notes du jus d'orange après plusieurs mois de conservation (Nagy et Dinsmore, 1974). Dans notre étude, la concentration en furfural reste inférieure à son seuil de détection dans l'eau.

Tableau 24. Evolution des OAV des composés volatils du jus d'orange après 5 mois de stockage dans le verre et dans les PET1 (monocouche), PET2 (Bindox®) et PET3 (Actis)

			t_o	5 mois			
	Descripteur d'odeur[a]	Seuil de détection[b]	OAV[c]	OAV verre	OAV PET1	OAV PET2	OAV PET3
butanoate d'éthyle	fruité	1	274	118	128	104	140
linalol	fleuri	6	323	157	172	163	170
α-terpinéol	floral, lilas	340	2	7	7	8	8
furfural	puissant, pain	3000-23000	0	0,006-0,05	0,006-0,05	0,008-0,06	0,008-0,06
4-vinylgaïacol	épicé, clou de girofle	3	0	45	43	54	49
hexanal	vert, gras	4.5	28	t[d]	t	t	t
octanal	vert, agrumes	0,7	184	t	t	t	t
nonanal	savonneux, agrumes	1	75	t	t	t	t
décanal	vert, savonneux	0,1-2	340-6810	t	t	t	t

[a]Descripteur olfactif perçu dans un port de flairage (Buettner et Schieberle, 2001). [b]Seuil de détection dans l'eau ($\mu g.kg^{-1}$) (Lefingwell). [c]OAV ($\mu g.kg^{-1}$) (concentration divisée par le seuil de détection). [d]OAV tendant vers zéro.

Le 4-vinylgaïacol est connu pour contribuer de façon importante aux notes négatives du jus d'orange. Son seuil de détection est de 3 $\mu g.kg^{-1}$ et il confère alors au jus une note de cuit (Peleg *et al*., 1992). Après 5 mois de stockage, son OAV est de 45, 43, 54 et 49 dans le verre et les PET1, 2 et 3. Contrairement au furfural, le 4-vinylgaïacol devrait donc être perçu par le jury lors de séances d'olfaction. Des analyses de CPG/Olfactométrie en fréquence de détection du jus à base de concentré après sa fabrication et après 5 mois de stockage ont été réalisées avec les extraits liquide-liquide dans l'unité FLAVIC de l'INRA de Dijon par Nicole Fournier. Le furfural et le 4-vinylgaïacol ont été détectés avec des notes respectives de biscuit chaud (et pomme de terre cuite) et clou de girofle dans l'extrait du jus après 5 mois de stockage. Cependant, ces composés ont aussi été détectés dans le t_0. L'analyse a été réalisée 2 ans après l'extraction liquide-liquide des jus. Bien que les extraits aient été conservés à -20ºC, les compositions des extraits ont peut-être évolué et ne permettent pas de conclure sur l'impact olfactif du furfural et du 4-vinylgaïacol. Il serait intéressant de confirmer cette hypothèse dans les travaux ultérieurs.

Les résultats des OAV montrent que la perte de qualité organoleptique du jus d'orange à base de concentré pourrait être liée à l'apparition de notes négatives après une courte période de stockage.

Chez l'industriel, des analyses sensorielles ont été menées sur les jus avec les différents conditionnements étudiés dont le verre après 4 mois de stockage. Les tests triangulaires réalisées avec 14 personnes n'ont pas permis de différencier les jus conservés dans les différents emballages. Ceci confirme que le profil aromatique de tous les jus, quelque soit l'emballage utilisé, a évolué de la même façon. La faible sorption de composés dans le PET1 ne provoque donc pas de différence sensorielle avec le verre. Ce résultat rejoint ceux de Pieper *et al*. (1992) qui avaient montré que la sorption de composés d'arôme n'avait pas d'influence sur la perception sensorielle du jus d'orange conditionné dans des briques en carton possédant une couche de PEBD en contact avec le jus. De même, Sadler *et al*. (1997) n'ont montré aucune différence sensorielle entre des jus témoins et des jus conservés au contact de polymères avec le PEBD, le PET, le PA ou l'EvOH en contact direct pendant 3 semaines à 5ºC.

Afin de s'affranchir de l'effet du bouchon, tous les travaux précédents ont été réalisés avec des bouteilles de verre et avec des bouteilles de PET fermées par une capsule en aluminium.

Dans l'étude suivante, nous avons mesuré les transferts des composés d'arôme au travers d'un emballage complet bouteille et bouchon.

6. Perméation des composés d'arôme au travers de l'emballage

L'étude de la perméation a pour objectif de tester des couples de bouteilles en PET et de bouchons en PEHD, afin de déterminer le rôle joué par chaque partie du contenant dans la perte globale des composés d'arôme. Cette étude permettra ainsi d'aider l'industriel à choisir le couple bouteille/bouchon permettant de limiter la perte des composés d'arôme du jus d'orange au cours du stockage.

Une nouvelle fabrication de jus à base de concentré a donc été réalisée et les bouteilles ont été operculées par différents bouchons en PEHD. Les bouteilles et bouchons testés ont été choisis pour leur intérêt à être utilisés par Délifruits.

Les résultats de sorption avec les bouteilles nous ont montré que les seuls composés sorbés après 5 mois de stockage sont le β-myrcène et le limonène à des teneurs faibles. Les résultats des tests de vieillissement de vitamine C et brunissement ont également été pris en compte pour le choix des bouteilles. Ainsi les PET2 et PET3 ont présenté des évolutions similaires, intermédiaires entre le verre, matériau le plus performant et le PET1, matériau le moins performant. Cependant le PET3 présente des difficultés supplémentaires de mise en œuvre par la nécessité d'un traitement plasma. Cette technologie est également plus coûteuse que la technologie Bindox multicouches du PET2. Dans notre test, le PET3 n'a donc pas été testé. Une nouvelle bouteille de PET Amosorb, PET4, a été introduite. Cette technologie, monocouche avec additif, était intéressante pour l'industriel pour comparer ses performances avec celles du PET2 Bindox. Le PET4 évite des problèmes de délamination observés avec le PET2 multicouche et présenterait donc, à performances égales, un avantage par rapport au PET2. Enfin, le PET1 monocouche est également testé car il est l'emballage de référence chez Délifruits.

Les bouchons sont constitués majoritairement d'un matériau, le PEHD, qui est beaucoup plus perméable aux arômes que le PET. (Imai *et al*., 1990). Le bouchon A en PEHD standard est le seul à être utilisé en production chez l'industriel. Les bouchons B absorbeur d'oxygène et C barrière (joint multicouche avec EvOH) sont des technologies nouvelles intéressantes à tester pour lesquelles Délifruits n'a aucune donnée de perméation aux arômes.

Bien que le bouchon en PEHD ne soit pas au contact direct du jus, un espace de tête gazeux d'environ 20 mL est présent. Pour perméer au travers du bouchon, les composés d'arôme doivent d'abord passer en phase gazeuse dans l'espace de tête du bouchon puis être solubilisés à la surface du bouchon et enfin diffuser au travers de celui-ci avant d'être désorbés sur la face externe du bouchon. Ainsi le paramètre jouant sur la présence d'un composé dans l'espace de tête, et ainsi son aptitude à être en contact avec le bouchon, est son coefficient de partage gaz/liquide (jus d'orange). Nous avons déterminé le coefficient de partage de plusieurs composés d'arôme dans le jus à base de concentré (chapitre 2) à 45°C. Cette température a été choisie car elle permet d'obtenir l'état d'équilibre en un temps acceptable pour les analyses sans provoquer de dégradations dans le milieu jus.

Cependant, notre mesure de perméation se déroule à température ambiante (25°C) pendant plusieurs mois de stockage. Le coefficient de partage augmente avec la température selon la relation linéaire entre K et 1/T : Log K = a + b(1/T) (Ettre *et al*., 1993). Ainsi, les coefficients de partage des composés d'arôme sont plus élevés à 45°C qu'à 25°C. Toutefois comme la relation entre log K et 1/T est linéaire, il nous est possible de supposer que le composé d'arôme présentant la plus faible valeur de K à 45°C présentera également une faible valeur de K à 25°C. Nous pouvons donc ainsi nous appuyer sur les valeurs de K des composés d'arôme mesurés à 45°C pour en déduire lesquels seront présents en phase gazeuse à 25°C. Les valeurs de K sont données Tableau 25.

Tableau 25. Composés d'arôme quantifiés dans l'étude de perméation au travers des couples bouteille/bouchon, valeurs des coefficients de partage K et concentrations dans le jus (en µg.g^{-1})

Composé	K gaz/liquide = K air/jus (x10^{-2} à 45°C°)	Log *P*	Concentration initiale dans le jus	Concentration après 5 mois de stockage ambiant dans le PET1
acétate d'éthyle	non mesuré	0,73	non mesuré	non mesuré
éthanol	0,2	-0,31	non mesuré	non mesuré
α-pinène	31,1 +/- 3,7	4,83	0,27 +/- 0,04	0,11 +/- 0,01
butanoate d'éthyle	5,1 +/- 0,4	1,85	0,27 +/- 0,05	0,13 +/- 0,02
hexanal	4,7 +/- 0,4	1,78	0,13	<0,05
β-myrcène	18,5 +/- 1,5	4,17	1,25 +/- 0,05	1,03 +/- 0,04
limonène	12,8 +/- 1,0	4,57	135,82 +/- 8,14	97,05 +/- 5,82
octanal	4,3 +/- 0,9	2,78	0,13 +/- 0,02	0

Ainsi, parmi les composés d'arôme étudiés, les monoterpènes α-pinène, β-myrcène et limonène ont les valeurs de coefficients de partage les plus élevées et sont donc plus facilement relargués dans l'espace de tête de la bouteille. La valeur initiale de la concentration du composé dans le jus doit également être prise en considération car pour deux valeurs de K proches, le composé en plus forte concentration prédomine dans l'espace de tête. Ainsi, l'α-pinène qui a le plus grand K est 500 fois moins concentré que le limonène. Dans notre cas, le limonène est de loin le composé majoritaire dans l'espace de tête. Ces composés hydrophobes présentent une meilleure affinité avec le PEHD que les composés plus polaires comme l'éthanol ou l'acétate d'éthyle (cf valeurs des Log *P* dans le Tableau 25) donc à priori ils devraient être les espèces les plus perméantes au travers du bouchon.

Enfin, la réactivité des composés d'arôme devra être prise en compte. L'hexanal et l'octanal sont très instables et disparaissent du jus après 5 mois de stockage. Le limonène diminue de plus de 28 %. La perméation devrait donc être affectée par la réactivité de ces composés au cours du temps.

6.1 Mesure semi-quantitative de la perméation par extraction statique de l'espace de tête (SPME)

6.1.1 Choix des couples bouteille/bouchon testés

Nous avons choisi de tester en priorité le PET4 avec les 3 bouchons A, B et C. Un autre objectif était de comparer le PET4 avec le PET2. Ainsi, nous avons utilisé les 4 petites cellules identiques avec les bouteilles PET4 et PET2 et les différents bouchons précisés dans la Figure 39.

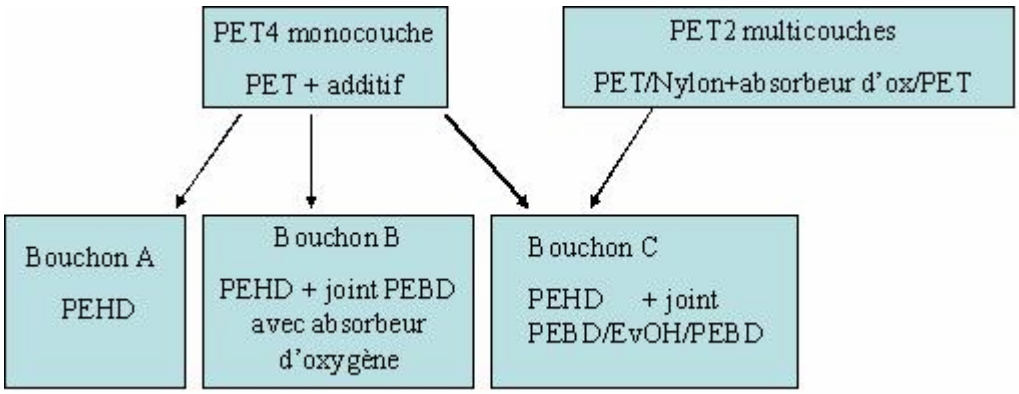


Figure 39. Couples bouteille/bouchon testés dans la série 1

Les 3 autres grandes cellules ont été utilisées pour comparer les PET1 et PET2 et pour tester l'intérêt du bouchon C avec la bouteille la moins performante dans les tests de suivi de vitamine C et brunissement. Les couples testés sont présentés dans la Figure 40.

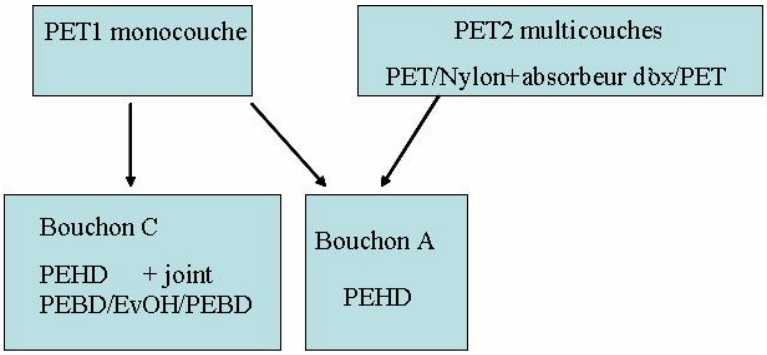


Figure 40. Couples bouteille/bouchon testés dans la série 2

6.1.2 Choix des conditions d'extraction par SPME

Pour évaluer la perméation par SPME, nous avons choisi la fibre CAR/PDMS. En effet, cette fibre est bien adaptée aux composés volatils de faible poids moléculaire (Roberts *et al*., 2000), comme l'acétate d'éthyle ou l'acétaldéhyde. Ces composés n'avaient pu être déterminés pendant le suivi du vieillissement du jus, du fait de l'utilisation de solvant pour l'extraction. Nous avons souhaité les suivre dans cette partie du travail car ils sont importants pour la flaveur du jus d'orange, ils participent aux notes de fraîcheur (Hinterolzer et Schieberle, 1998). Du fait de leur volatilité, ces composés sont très présents dans l'espace de tête et seraient susceptibles d'être perdus par perméation, au travers du bouchon. De plus, la fibre CAR/PDMS présente une meilleure capacité d'adsorption avec les composés polaires par rapport à d'autres fibres comme la PDMS qui n'extrait que les composés apolaires (Roberts *et al*., 2000).

Nous avons testé différentes durées d'extraction de l'espace de tête d'une cellule de perméation contenant une bouteille de jus d'orange, avec la fibre CAR/PDMS. Les durées testées sont 30, 40, 60 et 75 min. Les extractions se font à température ambiante pour tester les conditions réelles de perméation des composés d'arôme. La Figure 41 montre que les quantités maximales sont obtenues après 60 min d'extraction de l'espace de tête. Avec 75 min de temps d'extraction, les quantités absorbées sur la fibre sont légèrement inférieures. L'aire du limonène augmente fortement en passant de 40 min à 60 min de contact. Ce phénomène

peut être expliqué par un mécanisme de compétition sur la fibre, quand l'absorption d'un composé augmente fortement sur une fibre SPME, les autres composés peuvent voir leur absorption diminuer (Grote et Pawliszyn, 1997).

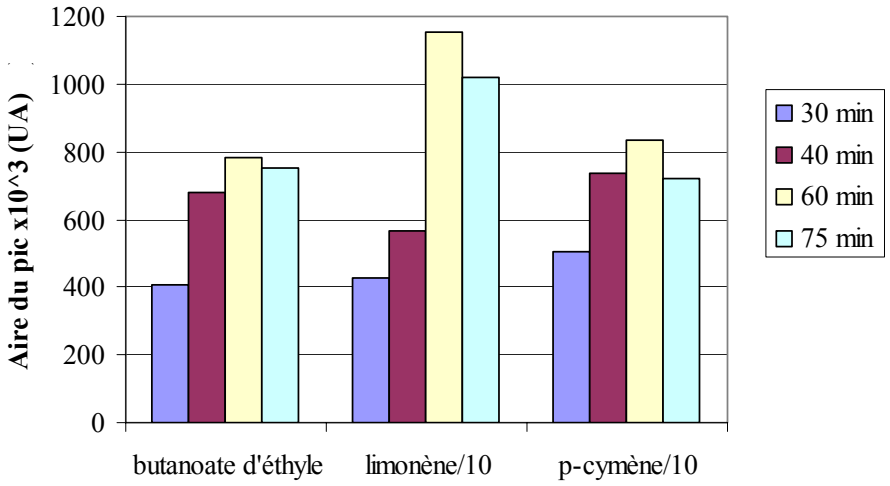


Figure 41. Comparaison des aires de composés d'arôme en fonction de la durée de mise en contact de la fibre dans l'espace de tête de la cellule de perméation (n = 1)

Nous avons choisi une durée de 40 min qui constitue un bon compromis entre durée d'analyse et augmentation de la sensibilité de détection pour le butanoate d'éthyle et le *p*-cymène. Pour confirmer ce choix, la répétabilité des aires a été évaluée en effectuant 3 mesures par jour pendant 2 jours. Les écarts-types des aires obtenues sont compris entre 2 et 15 %. Les résultats sont donc répétables et les conditions choisies permettent la comparaison de la perméation au travers des différents couples bouteille/bouchon testés après différents temps de stockage.

6.1.3 Perméation des composés d'arôme après 1 mois de stockage pour les séries 1 et 2

Série 1

La Figure 42 présente les aires des pics des composés d'arôme qui perméent pour les couples bouteille/bouchon : PET4 avec bouchons A, B ou C et PET2 avec bouchon C, 1 mois après la mise en place des bouteilles dans les cellules.

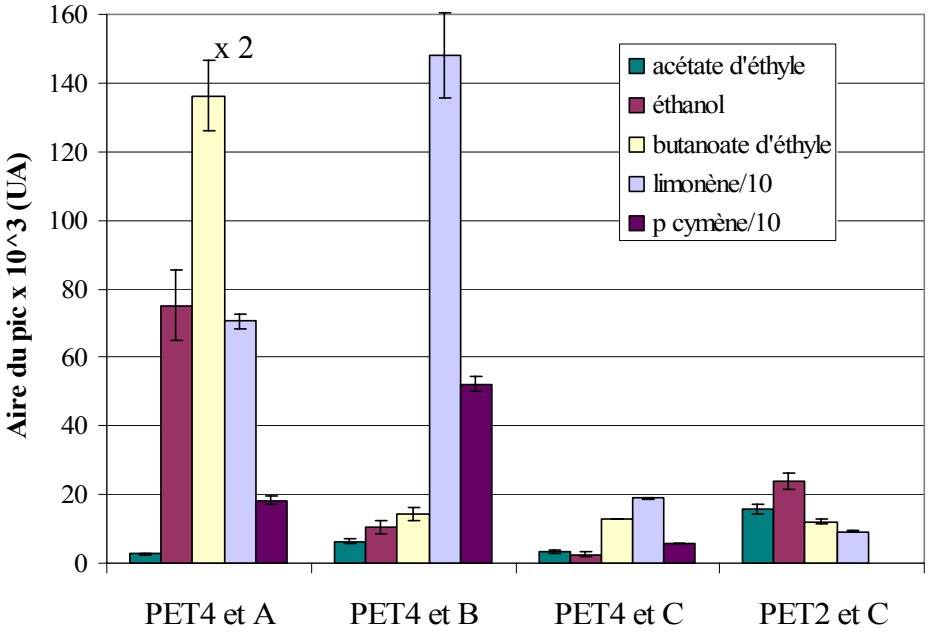


Figure 42. Aires des pics (SPME-CPG/DIF) de plusieurs composés d'arôme pour les couples de la série 1 (petites cellules) après 1 mois de stockage dans les cellules de perméation (n=3). La valeur du butanoate d'éthyle pour PET4/A est divisée par 2.

La comparaison des PET4/A (standard), PET4/B (absorbeur d'oxygène) et PET4/C (EvOH) permet d'étudier l'effet du bouchon pour une même bouteille de PET. Pour l'éthanol et le butanoate d'éthyle, les aires sont jusqu'à 30 fois plus petites avec les bouchons B et C qu'avec le bouchon A. Pour le limonène, la perméation est 2 fois plus élevée avec le bouchon B (absorbeur d'oxygène) qu'avec le bouchon A (PEHD standard). Par contre elle est presque 4 fois plus faible avec le bouchon C contenant un joint avec une couche d'EvOH par rapport au bouchon A. Le même effet est constaté avec le *p*-cymène.

La comparaison des couples PET4/C et PET2/C permet d'observer l'effet de la bouteille pour un même bouchon (barrière). Les aires obtenues sont relativement proches.

Série 2

Les résultats de la série 2 après 1 mois de stockage permettent de comparer les PET1 et PET2 avec le bouchon standard A (Figure 43). Les profils de perméation obtenus sont quasi-similaires. Par contre, la comparaison de PET1/C avec PET1/A montre une grande efficacité du bouchon C barrière qui diminue fortement la perméation des composés d'arôme, sauf pour

l'acétate d'éthyle. Au bilan, l'effet le plus barrière n'est pas obtenu en changeant de bouteille mais en utilisant le bouchon C à la place du bouchon A.

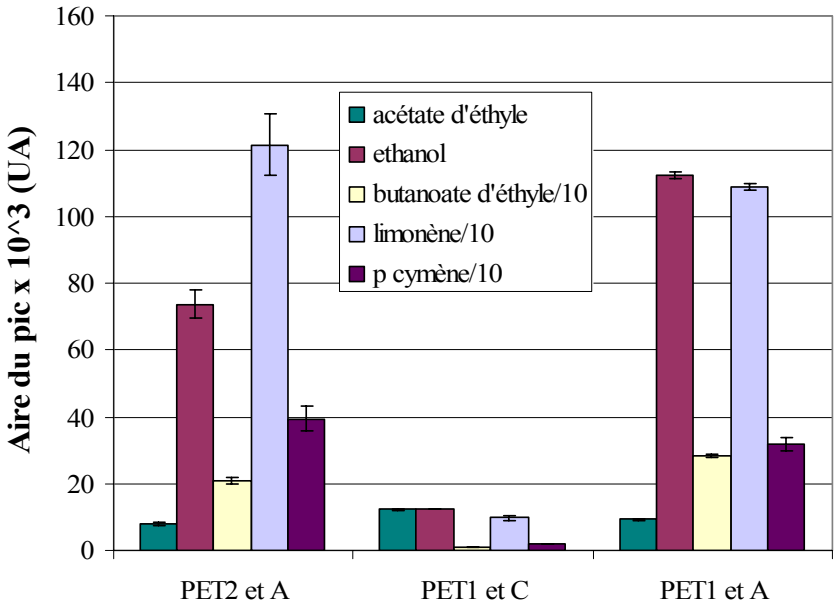


Figure 43. Aires des pics (SPME-CPG/DIF) de plusieurs composés d'arôme pour les couples de la série 2 après 1 mois de stockage des bouteilles (n=3)

Comparaison de la série 1 avec la série 2

Dans le but de comparer les 7 couples bouteille/bouchon testés, nous avons tenu compte des différences de volume entre les cellules. En effet, les petites cellules ont un volume de 560 mL. Les 3 grandes cellules des volumes de 1740, 1850 et 1858 mL. Le volume occupé par la bouteille de PET est de 350 mL. L'expérience se déroulant à pression atmosphérique et à la même température du laboratoire pour toutes les cellules, nous avons appliqué le ratio des volumes des espaces de tête des cellules pour corriger les aires obtenues sur les deux types de cellule. Ainsi, les aires de la série 2 sont respectivement multipliées d'un facteur 6,6 ; 7,14 et 7,18 pour être comparées avec les aires de la série 1. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 44.

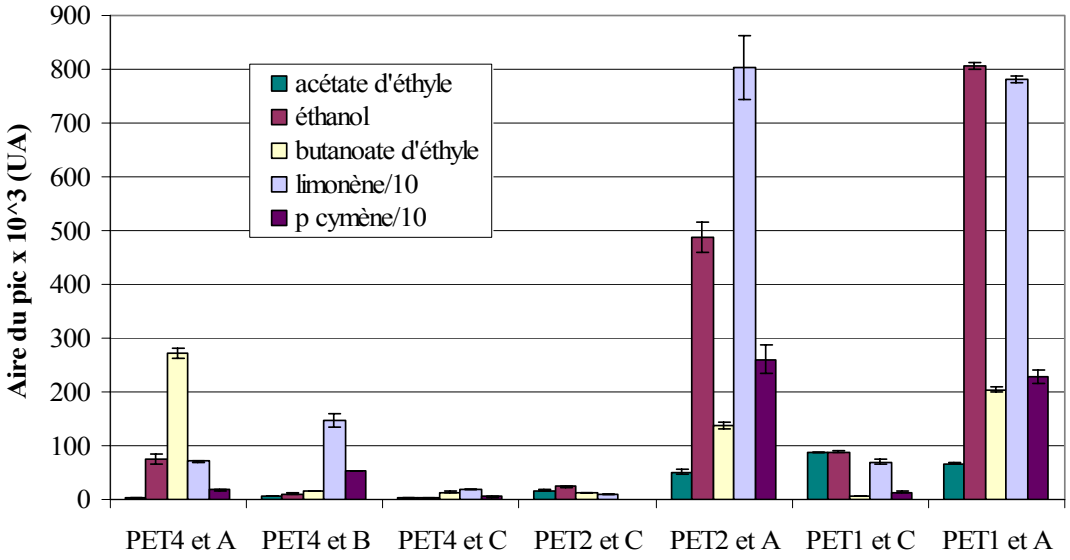


Figure 44. Aires des pics de composés d'arôme pour les séries 1 et 2 après 1 mois de stockage dans les cellules de perméation

La Figure 44 qui représente les 7 couples testés après 1 mois confirme l'intérêt du bouchon C. En effet, tous les couples testés avec le bouchon C présentent des perméations plus faibles. Si l'on considère que le rapport de volume appliqué entre les séries 1 et 2 est exact, la Figure 44 montre aussi l'intérêt de la bouteille PET4 dans le couple PET4/A. En effet, malgré l'utilisation du bouchon standard, les aires de composés d'arôme sont nettement inférieures aux aires obtenues dans les couples PET1/A et PET2/A. De plus, la comparaison de PET4/C avec PET1/C confirmerait l'avantage de la bouteille PET4. Après 1 mois de stockage, les couples les plus barrières sont le bouchon C avec soit la bouteille PET4, soit la bouteille PET2.

6.1.4 Perméation des composés d'arôme après 2 mois de stockage pour les séries 1 et 2

La Figure 45 représente les 7 mêmes couples après 2 mois de stockage. D'une manière générale, les quantités perméées augmentent par rapport à 1 mois. Les différences entre les couples restent les mêmes. Les couples les plus barrières sont toujours le bouchon C avec la bouteille de PET4 ou de PET2. L'écart avec le PET1 et bouchon C a diminué, ce qui confirme le rôle prépondérant de ce bouchon pour limiter la perméation.

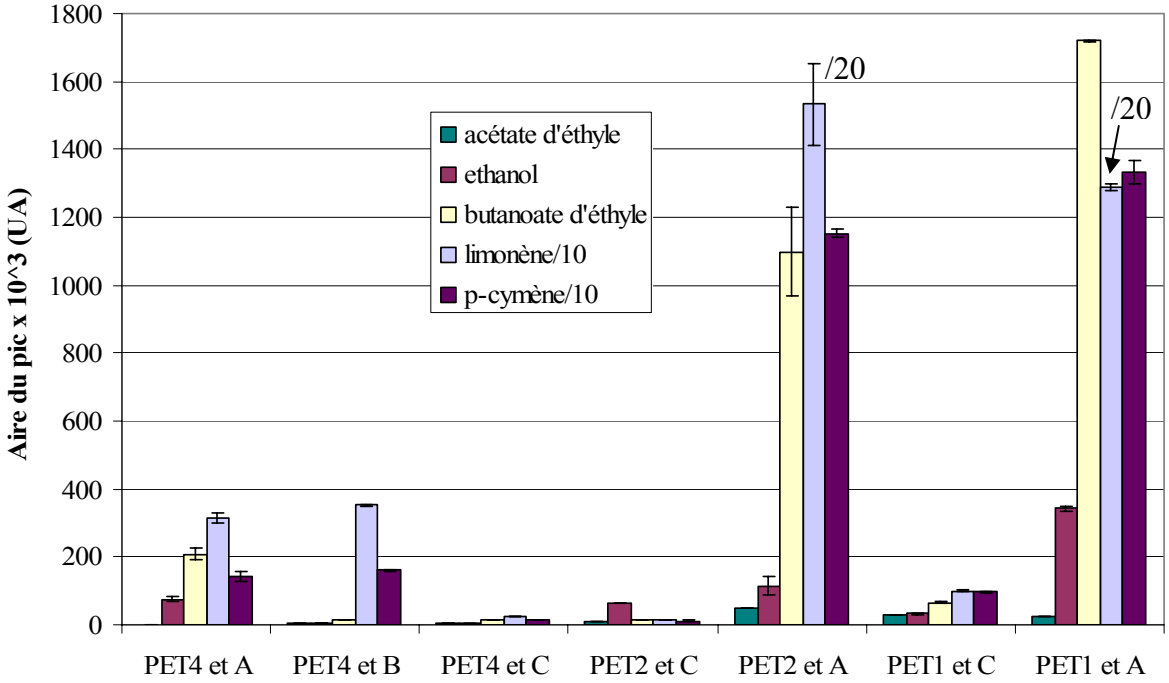


Figure 45. Aires des pics de composés d'arôme pour les séries 1 et 2 après 2 mois de stockage dans les cellules de perméation.

La détermination semi-quantitative de la perméation des composés d'arôme au travers de différents couples bouteille/bouchon a montré l'intérêt d'utiliser le bouchon barrière (C) pour limiter le passage des composés d'arôme. Ce bouchon reste coûteux par rapport au bouchon standard A ce qui pourrait être un frein à son utilisation. Mais la perte de butanoate d'éthyle provoquée par les bouchons A et B doit être compensée par une supplémentation de ce composé dans la fraction aromatique aqueuse. Le butanoate d'éthyle est le composé d'arôme le plus cher de la fraction aqueuse, une augmentation de sa concentration aura donc également une répercussion sur le coût du produit. D'une part, il faudrait donc comparer le coût supplémentaire induit par l'utilisation d'un bouchon barrière par rapport au coût de la reformulation de l'arôme en butanaoate d'éthyle. Pour se faire, il s'avère indispensable de quantifier les pertes en butanoate d'éthyle au travers du bouchon. D'autre part, l'utilisation de la bouteille de PET4 permet de limiter le passage du butanoate d'éthyle et l'utilisation de cette bouteille barrière pourrait être plus intéressante économiquement qu'un bouchon barrière.

L'étape suivante du travail est de faire un bilan quantitatif des pertes de composés d'arôme par perméation pour évaluer l'importance de ce phénomène sur l'évolution aromatique globale du jus d'orange pendant son stockage. Ce bilan permettra à l'industriel de justifier

d'un investissement dans un bouchon plus coûteux mais plus efficace, dans le coût global du produit emballé. La quantification de la perméation est présentée dans le paragraphe suivant. La technique d'analyse choisie, l'extraction dynamique de l'espace de tête, permet de s'affranchir de l'absorption préférentielle des composés d'arôme rencontrée par extraction SPME et permet une quantification plus directe des composés ayant perméé.

6.2 Mesure quantitative de la perméation par extraction dynamique de l'espace de tête (PTI)

6.2.1 Choix des couples bouteille/bouchon testés

La bouteille PET4 (Amosorb) qui est un matériau monocouche avec additif ayant été testée et validée par l'industriel sur d'autres critères (vitamine C et couleur, résultats non présentés) a été choisie pour l'étude quantitative. L'étude semi-quantitative nous ayant montré que la perméation se faisait majoritairement par le bouchon en PEHD standard, deux nouvelles technologies innovantes de bouchon barrières, bouchon D sans joint (PEHD + additif) et E avec joint et dépôt plasma sur la face extérieure du bouchon (absorbeur d'oxygène/PEHD/dépôt externe) ont donc été choisies par l'industriel. Par comparaison, le bouchon A (PEHD) a été conservé. Enfin, le bouchon B (joint et absorbeur d'oxygène) donnait de bons résultats avec la bouteille PET4 et a également été retenu.
Le Tableau 26 rappelle les caractéristiques des différents bouchons testés avec la bouteille de PET4.

Tableau 26. Caractéristiques principales des bouchons utilisés dans l'étude quantitative de perméation

Code du bouchon	Composition	Joint interne	Autre
A	PEHD	/	/
B	PEHD	PEBD avec absorbeur d'oxygène	/
D	PEHD + additif	/	/
E	PEHD	PEBD avec absorbeur d'oxygène	Dépôt plasma externe en époxy amine

6.2.2 Courbes de calibration

La perméation a été mesurée avec le système PTI après 1, 2, 4, 7, 12 et 16 semaines. A chaque temps, la cellule de perméation est purgée avec de l'hélium, les composés d'arôme sont piégés par cryogénie puis injectés dans le chromatographe en phase gazeuse couplé au spectromètre de masse. Nous obtenons les aires des différents composés qui ont perméé. Ces aires sont converties en quantités de matière grâce à la réalisation de courbes de calibration externe. Pour chaque composé, une courbe de calibration a été établie dans la gamme d'aires obtenue. Une solution mère contenant les 8 composés quantifiés est préparée dan le pentane puis diluée plusieurs fois. 1µL de ces différentes solutions sont injectés dans le CPG/SM utilisé avec le système PTI. Les équations linéaires donnant la quantité d'un composé en µg (y) en fonction de l'aire (x) sont données Tableau 27. Les coefficients de régression des courbes de calibration sont également indiqués.

Tableau 27. Equations linéaires des courbes de calibration des composés étudiés et coefficient de régression R^2.

Composé	Equation donnée par la courbe de calibration	R^2
acétate d'éthyle	$y = 2{,}40*10^{-8}*x - 1{,}45^{*}10^{-3}$	0,985
éthanol	$y = 5{,}16*10^{-8}*x - 6{,}18^{*}10^{-3}$	0,983
α-pinène	$y = 9{,}57*10^{-9}*x - 1{,}32^{*}10^{-3}$	0,992
butanoate d'éthyle	$y = 1{,}25*10^{-7}*x - 8{,}78^{*}10^{-3}$	0,999
hexanal	$y = 2{,}14*10^{-7}*x - 7{,}68^{*}10^{-3}$	0,997
β-myrcène	$y = 1{,}19*10^{-8}*x - 7{,}78^{*}10^{-3}$	0,997
limonène	$y = 5{,}49*10^{-8}*x + 4{,}91^{*}10^{-2}$	0,999
octanal	$y = 1{,}70*10^{-8}*x - 2{,}78^{*}10^{-4}$	0,998

6.2.3 Mesure quantitative de la perméation des composés d'arôme pendant 4 mois (16 semaines)

PET4 et bouchon A

Les quantités perméées accumulées pendant les 16 semaines de l'étude pour les 8 composés d'arôme sont présentées par quantité décroissante pour le couple bouteille PET4 et bouchon A dans le Tableau 28. Le limonène est le composé majoritaire qui permée ce qui est cohérent avec sa concentration élevée dans le jus et dans l'espace de tête ainsi que son affinité pour le PEHD. Après 16 semaines, 84 µg de limonène ont perméé au travers du PET4 et du bouchon A.

Tableau 28. Quantité totale de plusieurs composés d'arôme ayant perméé après 16 semaines avec le couple PET4/bouchon A

Composé	Quantité totale perdue par perméation après 16 semaines (4 mois) en µg
limonène	85
hexanal	1,25
éthanol	0,46
butanoate d'éthyle	0,23
α-pinène	0,19
β-myrcène	0,05
octanal	0,03
acétate d'éthyle	0,01

Les autres valeurs de perméation sont beaucoup plus faibles, avec par exemple 1,25 µg pour l'hexanal.

Comparaison des différents bouchons testés avec la bouteille de PET4

Les Figure 46 et Figure 47 représentent respectivement les quantités totales accumulées en µg et les flux de perméation en $\mu g.m^{-2}.jour^{-1}$ des différents composés d'arôme étudiés pour les bouchons A, E, B et D.

Sur la Figure 46 (quantités totales accumulées), deux groupes de composés d'arôme peuvent être distingués. Le premier groupe comprend les composés qui perméent pendant les 16

semaines de l'étude avec le limonène, le β-myrcène et le butanoate d'éthyle. La quantité totale accumulée s'accroît au cours du temps. Le deuxième groupe comprend des composés dont la perméation s'arrête après une certaine durée de stockage, la courbe de quantité totale accumulée atteignant un palier. Les composés de ce groupe sont l'α-pinène, l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'hexanal et l'octanal. Pour ce dernier composé, la perméation augmente de plus en plus faiblement. Pour l'α-pinène, la perméation reprend entre la semaine 12 et la semaine 16 dans le cas du bouchon A. Ceci n'est pas observé avec les autres bouchons.
Les évolutions en pourcentage dans le jus à base de concentré des concentrations de ces composés d'arôme après 2, 3 et 5 mois de stockage (paragraphe 5.3) sont données dans le Tableau 29.

Tableau 29. Pertes en pourcentage de plusieurs composés d'arôme du jus à base de concentré (PET1) au cours du stockage du jus

Composé	Concentration initiale en $\mu g.g^{-1}$	Après 2 mois	Après 3 mois	Après 5 mois
limonène	135,82	-15 %	-16 %	-29 %
β-myrcène	1,25	pas de pertes	-6 %	-18 %
butanoate d'éthyle	0,27	-11 %	-33 %	-52 %
α-pinène	0,27	pas de pertes	-33 %	-59 %
hexanal	0,13	-54 %	-73 %	-85 %
octanal	0,13	-55 %	-91 %	-100 %

L'hexanal et l'octanal présentent des pertes très importantes (90 et 100 % après 5 mois) et rapides dans le jus. Initialement, ils sont en plus faible proportion dans le jus. Pour le butanoate d'éthyle et l'α-pinène, la dégradation commence plus lentement et reste inférieure. Enfin, le limonène et le β-myrcène présentent des pertes encore plus faibles (29 et 18 % après 5 mois) et sont en plus forte proportion dans le jus.

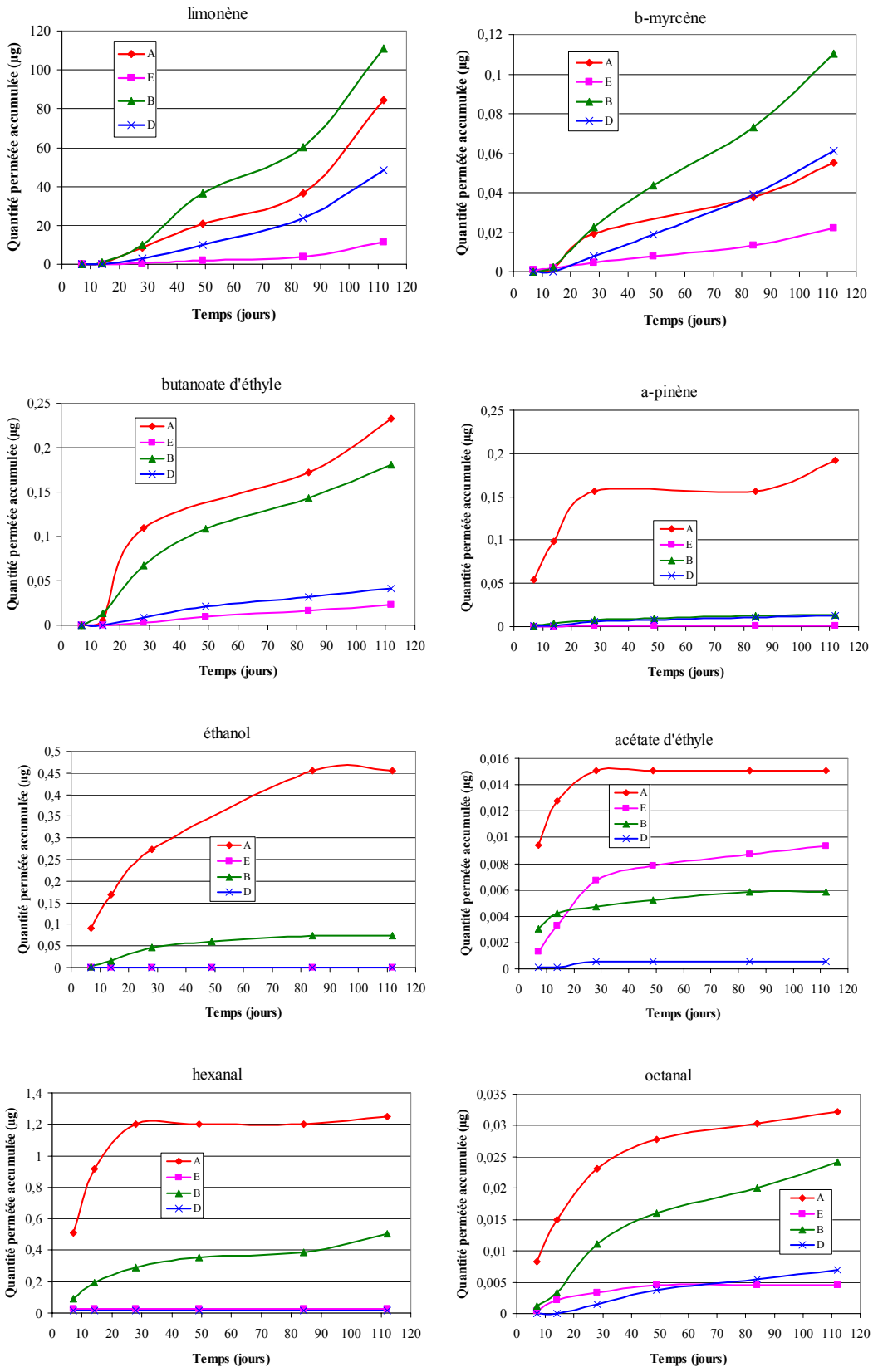


Figure 46. Quantité perméée accumulée des composés d'arôme en fonction du bouchon utilisé A : bouchon PEHD, E : PEHD avec dépôt plasma externe et avec joint et absorbeur d'oxygène, B : PEHD avec joint et absorbeur d'oxygène, D : PEHD + additif

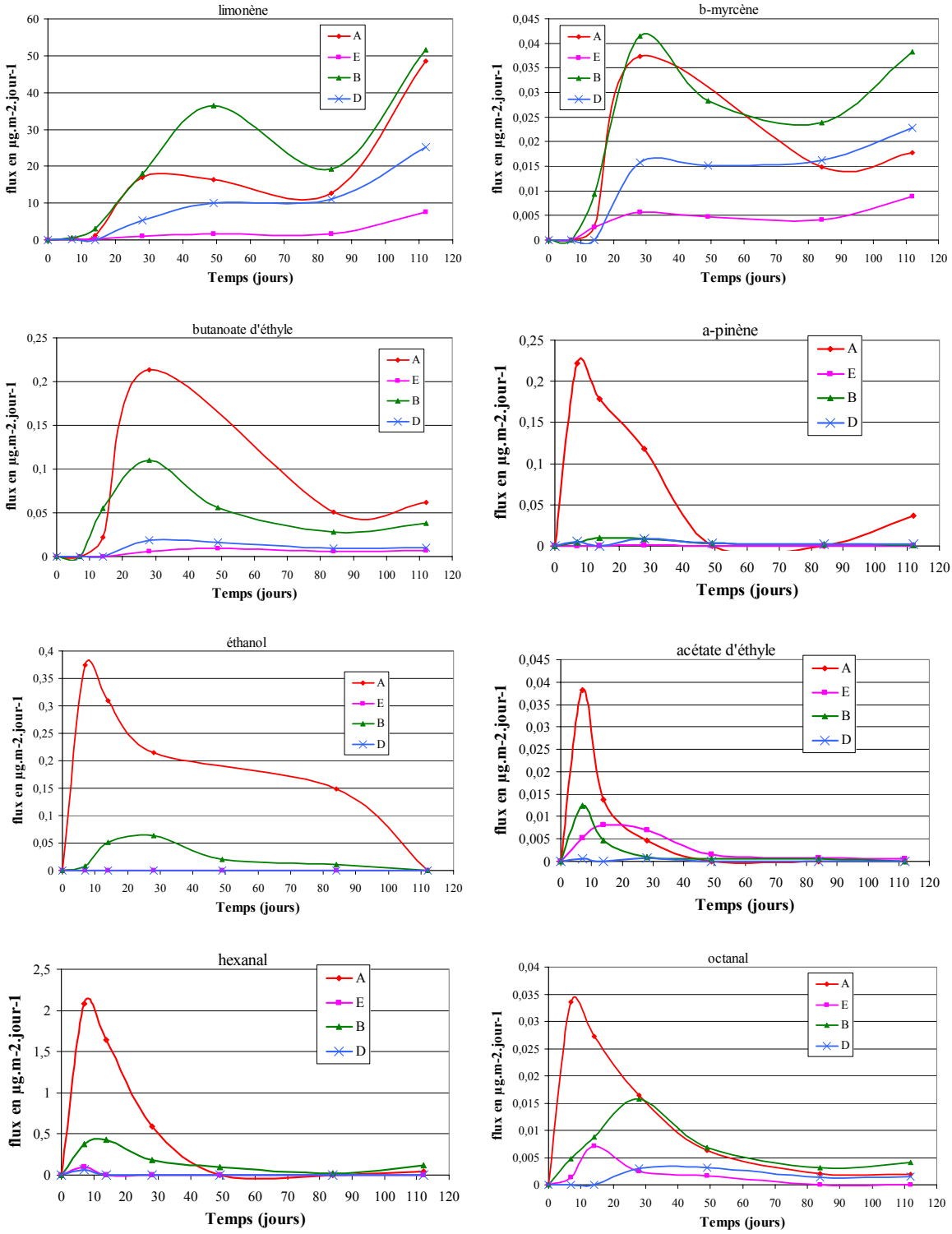


Figure 47. Flux de perméation en µg.m^{-2}.jour^{-1} des composés d'arôme en fonction du bouchon utilisé A : bouchon PEHD, E : PEHD avec dépôt plasma externe et avec joint et absorbeur d'oxygène, B : PEHD avec joint et absorbeur d'oxygène, D : PEHD + additif

Comparaison des flux des composés d'arôme avec le bouchon A monomatière

L'observation des flux des composés d'arôme dans la Figure 47 pour le bouchon A permet de distinguer deux groupes de composés :

- le premier groupe comprend le limonène, le β-myrcène, le butanoate d'éthyle et l'α-pinène,
- le second groupe comprend l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'hexanal et l'octanal.

Pour le premier groupe, une augmentation importante du flux est observée dans un premier temps, puis une diminution jusqu'à 84 jours (12 semaines ou 3 mois). Ce flux augmente à nouveau entre 84 et 112 jours.

Pour le second groupe, le flux augmente puis diminue. Cette diminution pourrait s'expliquer selon deux hypothèses. D'une part, ces composés sont en forte diminution dans le jus (Tableau 29) ce qui induit une diminution du gradient de concentration, force motrice de la perméation. D'autre part, du fait de la sorption des composés d'arôme, le matériau se modifie et sa structure devient moins perméable. Toutefois, les modifications du matériau induites par la sorption affecteraient également les composés du premier groupe. L'hypothèse retenue pour expliquer la diminution du flux pour les composés du second groupe est la réactivité des composés dans le jus. Elle affecte d'ailleurs tous les composés étudiés, plus ou moins tardivement.

La reprise de l'augmentation du flux entre 84 et 112 jours pour le premier groupe de composés d'arôme et pour tous les bouchons pourrait s'expliquer par une modification du matériau due à la sorption des composés d'arôme. En effet, Charara *et al*. (1992) ont montré que la sorption du limonène d'un jus d'orange à base de concentré contenant une huile d'agrumes riche en limonène provoquait un gonflement du polymère semi-cristallin. Cette sorption du limonène favoriserait ainsi la sorption des autres composés d'arôme dans les zones amorphes du polymère, composés qui seuls, ont moins d'affinité pour les polyoléfines. Dans les travaux de Charara *et al*. (1992), cet effet était d'autant plus marqué avec le PEBD qu'avec le PEHD ou le PP, étant donné leurs différentes cristallinités (respectivement 21 ; 40 et 37 %). Ces auteurs expliquent également que le gonflement des zones amorphes serait responsable d'une perturbation dans les régions cristallines et provoquerait une réorganisation des cristallites dans la structure. D'autres auteurs comme Hernandez-Muñoz *et al.* (1999) et Van Willige *et al*. (2002) rapportent également que le gonflement du polymère (plastification) provoque une modification de la structure du polymère et augmente sa perméabilité. Le gonflement du polymère pourrait ainsi être à l'origine de l'augmentation du flux de perméation du limonène, du β-myrcène, du butanoate d'éthyle et de l'a-pinène à partir de 84 jours.

Comparaison des différents bouchons testés avec le PET4.

Concernant le limonène, la perte la plus élevée par perméation est supérieure en utilisant le bouchon B (PEHD avec joint en PEBD et absorbeur d'oxygène) par rapport au bouchon A en PEHD. Le même résultat est obtenu pour le β-myrcène. Un schéma du bouchon B est donné dans la Figure 48.

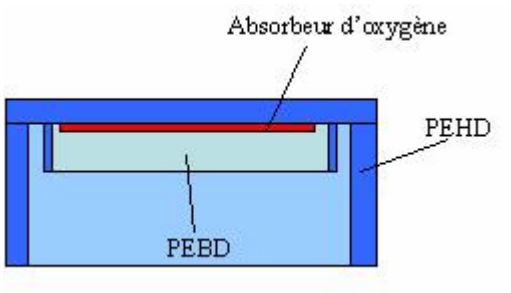


Figure 48. Schéma d'une coupe transversale du bouchon B (PEHD et joint en PEBD support d'un absorbeur d'oxygène)

Le joint en PEBD du bouchon B sert de matrice d'incorporation à l'absorbeur d'oxygène. Le PEBD est ainsi au contact de l'espace de tête du jus d'orange. Le PEBD a une meilleure affinité avec le limonène et le β-myrcène que le PEHD. En effet, le PEBD a une cristallinité et une densité plus faibles que le PEHD ce qui favorise la sorption et la diffusion (Charara *et al*., 1992). Les composés les plus hydrophobes aptes à être sorbés dans le PEBD vont donc être facilement concentrés dans le joint en PEBD. Ainsi le bouchon en PEHD ne va plus être en contact avec les composés présents dans l'espace de tête de la bouteille (cas du bouchon A en PEHD sans joint) mais en contact avec un joint en PEBD qui a concentré et solubilisé majoritairement le limonène et le β-myrcène. Le joint favorise ainsi le transfert de ces molécules vers le bouchon et provoque une augmentation de leur perméabilité. Ce phénomène n'est pas observé pour les composés de taille plus faible et qui diffusent plus vite, et qui de plus, sont plus polaires donc ayant moins d'affinité pour le PEBD, comme l'acétate d'éthyle ou l'éthanol. Pour ces molécules, la présence du joint ralentit leur perméation par augmentation de l'épaisseur du matériau.

Pour tous les composés sauf l'acétate d'éthyle, le bouchon E (PEHD avec joint interne + absorbeur d'oxygène et dépôt plasma externe) est très efficace puisqu'il permet de réduire la perméation de plus de 8 fois par rapport au bouchon A en PEHD. Le dépôt plasma sur la face

externe du bouchon introduit une barrière qui retarde la diffusion. Ainsi, les molécules les plus encombrées (cas du limonène et du β-myrcène) perméent beaucoup moins grâce au dépôt plasma. Le dépôt plasma a une moins bonne efficacité pour les molécules plus petites comme l'acétate d'éthyle qui a un coefficient de diffusion élevé. Le bouchon D (PEHD + additif) est également efficace pour limiter la perméation par rapport au bouchon A, sauf pour le limonène et le β-myrcène.

En conclusion, le bouchon E (PEHD avec joint et absorbeur d'oxygène et dépôt plasma externe) permet de limiter de manière très efficace la perméation de l'ensemble des composés d'arôme étudiés par rapport au bouchon PEHD simple (d'un facteur 3 à 10), sur des temps de conservation de 112 jours ou 16 semaines. Cependant, même pour le bouchon E, les flux de perméation du limonène, du β-myrcène, du butanoate d'éthyle et de l'α-pinène augmentent à nouveau à partir de 84 jours ou 12 semaines. Ce bouchon perd donc en efficacité sur des temps longs de conservation supérieurs à 3 mois. Il serait intéressant d'évaluer si l'absorbeur d'oxygène est susceptible de retenir les composés d'arôme jusqu'à une certaine saturation, ce qui correspondrait à la reprise de l'augmentation du flux de perméation.
Dans le Tableau 30, nous avons réalisé un bilan matière tenant compte de nos données de sorption dans la bouteille, de perméation au travers de l'emballage bouteille et bouchon et de dégradation dans le jus.

Tableau 30. Bilan matière tenant compte des pertes par sorption, perméation et dues à la réactivité dans la matrice après 5 mois de stockage (en µg et en % par rapport à la quantité initiale de chaque CA) pour une bouteille de jus à base de concentré de 33 cL.

Composé	Quantité initiale (Tableau 22)	Quantité après 5 mois (Tableau 22)	Pertes totales	Pertes par sorption dans le PET1	Pertes par perméation avec le PET4 et bouchon PEHD (Figure 46)	Pertes dues à la réactivité dans la matrice
limonène	44814	32026	12788 (28,6 %)	120 (0,3%)	180 (0,4 %)	12488 (27,9 %)
β-myrcène	412,5	339,9	72,6 (17,6 %)	2 (0,5 %)	0,1 (0,02 %)	70,5 (17,1 %)
α-pinène	89,1	36,3	52,5 (58,9 %)	0	0,25 (0,3 %)	52,25 (58,6 %)
butanoate d'éthyle	89,1	42,9	46,2 (51,8 %)	0	0,3 (0,3 %)	45,9 (51,5 %)
hexanal	42,9	6,6	36,3 (84,6 %)	0	1,2 (2,8 %)	35,1 (81,8 %)
octanal	42,9	0	42,9 (100 %)	0	0,035 (0,1 %)	42,865 (99,9 %)

Les résultats de sorption et de concentration dans le jus ont été obtenus après 5 mois de stockage. Les résultats de perméation ont été obtenus jusque 4 mois donc la valeur à 5 mois a été extrapolée à partir des courbes de perméation de la Figure 46. Notons que pour réaliser un bilan complet, il manque les donnés de sorption dans le bouchon.

Après 5 mois de stockage, les pertes des composés d'arôme par rapport aux quantités initialement présentes sont globalement importantes, elles varient de 17,6 à 100 % (Tableau 29). Les pertes par sorption et par perméation représentent dans tous les cas une part minime de la dégradation totale observée. Le cas le plus extrême est l'octanal qui disparaît totalement du jus avec 99,9 % des pertes dues à la réactivité de la molécule dans le jus et 0,1 % dues à la perméation au travers de l'emballage. Le composé le plus stable dans le jus est le β-myrcène avec 17,6 % de pertes totales et 17,1 % de pertes dues à la réactivité dans la matrice. Les pertes par perméation sont dans ce cas les plus faibles avec seulement 0,05 % de la quantité d'arôme initial perdu. L'hexanal est le composé dont la perte par perméation est la plus grande (2,8 % de la quantité d'arôme initiale). Pour les composés d'arôme très instables dans le jus comme l'hexanal ou l'octanal, la perméation qui dépend du gradient de concentration s'arrête rapidement (Figure 47). Les propriétés barrière de l'emballage ne peuvent donc pas être concrètement évaluées.

Ce bilan de matière a été réalisé avec les données de sorption du PET1 et les données de perméation du PET4. La mesure de perméation semi-quantitative a été effectuée avec le PET1 et le PET4 si bien que nous pouvons comparer les deux bouteilles et ajuster ce bilan de pertes en comparant les rapports de perméation entre le PET1 et le PET4. Par exemple, pour le butanoate d'éthyle, sur la Figure 45, après 2 mois de stockage, nous observons que le PET1/ Bouchon A présente une perméation 8 fois plus importantes que le PET4 / Bouchon A. Sur la courbe de perméation du butanoate d'éthyle après 2 mois (Figure 46), une perméation de 0,15 µg est obtenue avec le bouchon PEHD et le PET4 que nous calculons à 0,15 x 8 soit 1,2 µg avec le bouchon PEHD et le PET1. La concentration dans le jus après 2 mois est de 79,2 µg pour une bouteille de 0,33 L (Tableau 31) soit 9,9 µg de pertes totales dont 1,2 par perméation. Dans ce cas on obtient une perte de 9,7 % par rapport à la quantité initiale d'arôme due à la réactivité dans la matrice et 1,3 % due à la perméation (Tableau 31). Ainsi, après 2 mois, pour le butanoate d'ethyle, la perte par perméation est beaucoup plus importante que celle observée par réactivité, encore limitée à ce stade de conservation. Ce ne serait pas le cas pour les aldéhydes qui sont très rapidement dégradés ou pour le limomène qui a déjà

diminué de 6662 µg après 2 mois de stockage alors que sa perméation est de quelques dizaines de µg.

Tableau 31. Bilan de matière pour le butanoate d'éthyle après 2 mois de stockage: avec le PET1 tenant compte des pertes par sorption et dues à la réactivité dans la matrice, et de la perméation (en µg et en % par rapport à la quantité d'arôme initiale)

Composé	Quantité initiale (Tableau 22)	Quantité après 5 mois (Tableau 22)	Pertes totales	Pertes par sorption dans le PET1	Pertes par perméation avec le PET1 et bouchon PEHD (Figure 46)	Pertes dues à la réactivité dans la matrice
butanoate d'éthyle	89,1	79,2	9,9 (11,1 %)	0	1,2 µg (1,3 %)	8,7 (9,7 %)

Le butanoate d'éthyle après 2 mois de stockage présente 9,7 % de pertes par réactivité et 1,3 % par perméation. A 5 mois ces pourcentages respectifs sont de 51,5 % et 0,3 %. En effet, la dégradation du composé a augmenté donc sa concentration en amont diminue et la perméation chute.

Selon les données de l'industriel, la date moyenne de consommation des jus se situe entre 2 et 3 mois après la fabrication. L'utilisation d'un bouchon barrière présenterait donc un intérêt étant donné la date moyenne de consommation pour limiter les pertes en butanoate d'éthyle d'environ 10 % après 2 mois. Néanmoins, la quantité de matière préservée serait de 1 µg, ce qui correspond seulement à un peu plus de 1 % de la quantité de butanoate d'éthyle initialement présente. L'utilisation des bouchons barrière ne pourra être justifiée économiquement que si ces bouchons présentent d'autres intérêts, par exemple sur la stabilité du produit (vitamine C et couleur) du fait de leur faible perméabilité à l'oxygène par rapport au bouchon en PEHD monomatière. L'intérêt d'un bouchon barrière plus coûteux semble limité en ce qui concerne la perte par perméation.

En conclusion, le bilan de pertes présenté ci-dessus montre que la réactivité des composés d'arôme est le phénomène le plus critique et que les transferts avec l'emballage, bouteille PET et bouchon PEHD, même sur des temps relativement longs de stockage de 5 mois, sont limités et provoquent des pertes inférieures à 3 % de la quantité d'arôme initial.

7. Conclusion du chapitre 1 et hiérarchisation des phénomènes de dégradation

Dans le chapitre 1, nous avons réalisé un suivi de plusieurs paramètres de qualité (nutritionnel et organoleptique) du jus d'orange à base de concentré au cours de son stockage pendant 9 mois. Ce suivi nous permet de hiérarchiser les phénomènes selon la manière dont il contrôle la perte de qualité du jus d'orange emballé.

Le phénomène le moins critique est la perte de composés d'arôme dans le PET, polymère vitreux pour lequel la sorption est faible, et par perméation au travers du bouchon en PEHD. Globalement, la perte de composés d'arômes due à l'emballage, par sorption ou par perméation, reste négligeable par rapport à la teneur initiale dans le jus (moins de 3 %).
Le deuxième paramètre est la perméabilité à l'oxygène du matériau, qui aggrave les pertes en vitamine C et le brunissement non-enzymatique par rapport à un emballage imperméable à l'oxygène comme le verre. Les technologies de PET barrière à l'oxygène comme le PET2 et le PET3 ont permis un meilleur maintien de la qualité du jus.
Enfin, l'importance de la dégradation propre au jus a été mise en évidence. En effet, bien que le dégazage de l'oxygène dissous ait montré son efficacité en évitant l'oxydation des composés d'arôme, il n'a pas permis d'éviter les pertes en vitamine C et l'apparition du brunissement non-enzymatique. Ainsi, le stockage dans le verre montre que la dégradation anaérobie de la vitamine C en conditions acides entraîne des pertes de 20% et la modification de couleur. Concernant l'évolution du profil aromatique, elle est indépendante de la perméabilité à l'oxygène de l'emballage PET et elle est contrôlée par les conditions de pH acide du milieu. Dans tous les emballages y compris le verre, des réactions de catalyse acide conduisent à la formation de composés néo-formés dès le deuxième mois de stockage.

En conclusion, les deux paramètres principaux contrôlant la qualité mis en évidence dans ce chapitre 1 sont la quantité d'oxygène dissous et le pH. L'emballage a montré son intérêt pour limiter l'entrée d'oxygène grâce à l'utilisation de technologies barrière mais il ne permet pas de diminuer la perte de qualité provoquée par les réactions de catalyse acide. Ces résultats nous ont conduit à diriger les travaux de recherche sur la matrice elle-même (jus et arômes) dans le but de la stabiliser au cours du stockage.

Chapitre 2. Qualité aromatique du jus d'orange : Influence de la matrice et du procédé

Résultats et discussions – Chapitre 2. Qualité aromatique du jus d'orange : Recherche sur la matière première (jus et arômes) et influence du procédé

Comme nous l'avons vu précédemment, la matrice jus se dégrade pendant le stockage. Un travail en amont sur la composition aromatique du jus (reformulation aromatique des fractions ajoutées) et son évolution au cours des différentes étapes technologiques (raffinage, centrifugation, dégazage et pasteurisation) s'est révélé nécessaire. Une modulation du pH est également réalisée dans le but de limiter la catalyse acide. Les travaux portent ensuite sur la rétention des composés d'arôme dans la matrice jus et sur l'influence de la pulpe et de la pasteurisation sur la perception organoleptique. Cette étude devrait permettre de mieux comprendre le rôle des macromolécules du jus sur la qualité aromatique du jus d'orange.

1. Reformulation des phases aromatiques utilisées dans le jus à base de concentré

Dans le chapitre 1, d'une part, l'analyse des fractions aromatiques, du concentré et l'analyse du jus pasteurisé ont permis d'identifier les composés d'arôme sensibles à la pasteurisation et donnant naissance à des composés néoformés à impact olfactif négatif. D'autre part, les cinétiques d'évolution du profil aromatique au cours du stockage nous ont renseignés sur la stabilité des composés d'arôme. Ce suivi nous a permis d'envisager une reformulation de l'arôme orange par l'intermédiaire des fractions aqueuse et huileuse pour améliorer le rendu aromatique à l'instant de consommation en tenant compte de l'évolution de ces fractions. Jusqu'à présent, les fractions aromatiques proposées par les aromaticiens sont sélectionnées chez l'industriel par un jury interne lors d'analyses sensorielles puis testées par un jury consommateur de 60 personnes. Le projet que nous avons mis en place a consisté à élaborer, en collaboration avec des aromaticiens, des nouvelles compositions aromatiques des phases aqueuse et huileuse avant de les valider par l'analyse sensorielle. Pour des raisons de

confidentialité, les compositions aromatiques des nouvelles formules ne peuvent pas être présentées dans ce mémoire, nous présentons donc la démarche de travail adoptée.

Le projet a démarré par le choix des principales molécules odorantes du jus d'orange. Ces molécules ont été ajoutées individuellement dans le concentré dilué non aromatisé pour estimer leur impact olfactif dans la matrice. Le Tableau 32 rappelle les molécules retenues et les connaissances sur leur stabilité à la pasteurisation et au stockage (chapitre 1).

Tableau 32. Composés d'arôme retenus pour la reformulation, descripteur olfactif à la dégustation dans le concentré dilué et évolutions dans le jus à la pasteurisation et au stockage

Composé	Descripteur	Concentration attendue[a]	Concentration après pasteurisation	Concentration après 5 mois dans le PET1
acétaldéhyde	frais	nq[b]	nq	nq
butanoate d'éthyle	frais, mûr et vert, fruité	0,25	0,27	0 ,13
hexanal	doux, vert, fruité	0,10	0,13	tr
octanal	fruité, jus	0,14	0,13	0
décanal	vert, jus, doux	0,89	0,68	tr
linalol	floral	1,81	1,94	1,03
valencène	frais, long en bouche	1,74	1,48	1,45
α-sinensal	jus, long en bouche	0,08	0,05	0,06
β-sinensal	jus, long en bouche	0,07	0,07	tr

[a] : en $\mu g.g^{-1}$. [b] : non quantifié

Nous ne disposions pas de données sur les concentrations en acétaldéhyde dans le jus si bien qu'une étude de vieillissement accélérée spécifique à la stabilité de ce composé a été effectuée par les aromaticiens.

L'effet du dégazage a été testé en particulier pour 2 composés susceptibles d'être perdus au cours de ce traitement : l'acétaldéhyde et le butanoate d'éthyle. Le Tableau 33 présente les concentrations en composés d'arôme d'un jus d'orange à base de concentré pendant sa fabrication industrielle. Le jus est prélevé sur la ligne de fabrication une fois les phases aromatiques aqueuse et huileuse ajoutées (jus frais), puis après le dégazage sous vide (jus dégazé) et enfin après la pasteurisation (jus pasteurisé). Les pertes dues à chacune de ces étapes et les pertes totales sont également calculées. Ces analyses mettent en évidence que le dégazage (60°C, 0,15 bar (pression absolue)) est responsable de la plus importante perte de

composés. Par exemple, l'α-pinène et le butanoate d'éthyle diminuent respectivement de 56 % et 21 % au dégazage et restent stables à la pasteurisation. Le total de composés sans le limonène diminue de 22 % au dégazage, de 6 % à la pasteurisation et de 26 % au total. Jordan *et al.* (2005) ont également montré que la désaération (40°C; 0,6 bar) provoquait des pertes significatives de toutes les familles de composés d'arôme.

Tableau 33. Concentrations des composés d'arôme d'un jus d'orange à base de concentré pendant sa fabrication industrielle, effet du dégazage et de la pasteurisation, pertes en %

				Pertes en %		
Composé[a]	Jus frais	Jus dégazé	Jus pasteurisé	Pertes au dégazage (en %)	Pertes à la pasteurisation (en %)	Pertes totales (en %)
α-pinène	0,60	0,27	0,26	56	1	56
butanoate d'éthyle	0,21	0,16	0,17	21	-1	20
β-myrcène	2,19	1,59	1,59	27	0	28
limonène + β-phellandrène	105,62	114,61	107,67	-9	6	-2
α-terpinolène	0,09	0,05	tr	44	10	49
octanal	0,14	0,13	0,11	4	15	19
nonanal	0,07	0,07	0,07	-5	-4	-8
décanal	0,52	0,74	0,65	-43	12	-26
linalol	2,09	2,01	1,91	3	5	8
octanol	0,13	0,11	0,11	17	2	19
β-caryophyllène	0,20	0,09	0,10	55	-7	51
terpinen-4-ol	0,41	0,34	0,32	18	4	21
p-menthadien-1-ol	0,13	0,09	0,08	27	12	36
β-terpinéol	tr	tr	tr			
néral	0,05	tr	tr			
3-hydroxy hexanoate d'éthyle	0,06	tr	tr			
α-terpinéol	0,86	0,61	0,55	29	10	36
géranial	0,08	tr	tr			
nérol	0,07	tr	tr			
trans-carvéol	0,19	0,11	0,11	39	7	43
géraniol	0,06	tr	tr			
cis-carvéol	0,11	0,06	0,06	41	11	47
p-mentha-1,8-dien-9-ol	0,14	0,07	0,06	48	13	55
β-sinensal	0,20	0,07	0,06	65	13	69
limonène-1,2-diol	0,81	0,62	0,60	23	4	26
α-sinensal	nq	0,15	0,13		10	
nootkatone	0,39	0,22	0,23	43	-2	42
total	115,38	122,19	114,83			6
total sans le limonène	9,76	7,58	7,16	22	6	26

a : en $\mu g.g^{-1}$

Nous avons donc réalisé une aromatisation après le dégazage (post-dégazage) sur la ligne de fabrication industrielle pour évaluer son intérêt en terme de gain d'arômes. Ces différents travaux ont abouti à la formulation de 2 phases aqueuses et de 2 phases huileuse. Les teneurs en composés d'arôme ont été mesurées pendant le vieillissement à température ambiante des différents échantillons conservés dans le PET1. Les échantillons de composition différente ont été évalués par un jury expert et par un jury interne. Finalement, un jury consommateur de 52 personnes a évalué les jus après 3,5 mois de stockage. La séance a été organisée par la société Qualtech (Vandoeuvre les Nancy, France). 4 jus correspondants à 4 reformulations différentes ont été présentés aux juges. Les 4 produits ont été proposés de façon anonyme, identifiés par des codes à 3 chiffres, dans un ordre aléatoire. Le jury a évalué les 4 jus sur une échelle hédonique graduée de 1 (très mauvais) à 9 (très bon), selon les critères suivants :

- Qualité d'ensemble,
- Qualité de l'aspect,
- Qualité de l'odeur,
- Qualité du goût,
- Qualité de la texture.

Une préférence pour une reformulation perçue comme reproduisant l'arôme d'un jus frais a été retenue. L'acte de réachat était également meilleur pour ce produit.

Le travail de reformulation a donc été réalisé en tenant compte du procédé de fabrication. Il a été adapté à un concentré permettant une durée de conservation de trois à quatre mois tout en augmentant significativement la fraîcheur du jus à l'instant de consommation. Cependant, il a aussi révélé les limites de l'amélioration de la formulation. En effet, à partir de 4,5 mois, le jus contenant les fractions aromatiques reformulées n'a pas été perçu significativement différent du témoin (ancienne formulation). Les réactions de catalyse acide et de dégradation de la vitamine C, fortement dépendantes du pH du jus, entraînent l'apparition de composés d'arôme indésirables, masquant l'amélioration obtenue par la reformulation. Dans le paragraphe suivant, l'étude présentée a pour objectif d'augmenter le pH du jus pour limiter les réactions de catalyse acide.

2. Augmentation du pH d'un pur jus pressé à la main : effet sur la qualité après 1 mois de stockage

L'évolution des composes d'arôme du jus d'orange à base de concentré a été étudiée dans le chapitre 1. Cette évolution ne dépendait pas du type d'emballage utilisé et de sa perméabilité à l'oxygène mais de réactions propres à la matrice. Ces réactions de catalyse acide dues aux conditions de pH (3,9) conduisent à la formation de composés d'arômes de dégradation comme le furfural, le 4-vinylgaïacol et l'α-terpinéol et débouchent sur la nécessité de travailler sur la matrice pour améliorer la qualité aromatique du jus. Une diminution de l'acidité du jus pourrait permettre de limiter ces réactions de catalyse acide. Pour se faire, une étude modèle est conduite au laboratoire à partir de pur jus pressé à la main dont le pH est modulé par l'ajout de différentes teneurs en hydroxyde de sodium.

2.1 Effet sur la teneur en vitamine C

La teneur en acide ascorbique du pur jus pressé à la main au pH initial de 3,2 est de 538 ± 13 $mg.L^{-1}$. Les valeurs obtenues dans le même jus après 1 mois de stockage ambiant, et dans le même jus aux pH ajustés à 3,5; 4,0; 5,0; 6,0 et 7,0 par ajout de soude avant le stockage sont présentées dans le Tableau 34.

Tableau 34. Teneurs en acide ascorbique ($mg.L^{-1}$) (moyenne ± écart-type, n=3) du pur jus d'orange en fonction de son pH après 1 mois de stockage ambiant

pH	*Teneur en acide ascorbique ($mg.L^{-1}$)*
3,2	267 ± 8 [a]
3,5	300 ± 6 [b]
4,0	330 ± 14 [c]
5,0	313 ± 10 [bc]
6,0	416 ± 7 [d]
7,0	473 ± 9 [e]

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes (p<0.05, test de Duncan).

Le Tableau 34 montre que plus le pH est élevé et plus les pertes en vitamine C sont faibles. A pH 3,2 la teneur en vitamine C après 1 mois de stockage est de 267 ± 8 $mg.L^{-1}$ et à pH 7,0 elle est de 473 ± 9 $mg.L^{-1}$. Excepté à pH 5 où la teneur en acide ascorbique demeure proche des valeurs obtenues à pH 3,5 et 4,0, toutes les valeurs sont significativement différentes ($p<0.05$) et supérieures lorsque le pH augmente. Ce résultat est en accord avec les observations de Yuan et Chen (1998) qui montraient que la voie de dégradation aérobie de la vitamine C donnant naissance au furfural est favorisée à de faibles pH compris entre 1 et 3. De même Li *et al*. (1989) ont diminué le pH d'un jus à 2 et 2,5 et ont observé des pertes plus importantes en vitamine C.
La protection de la vitamine C par un pH supérieur devrait donc limiter la formation des composés d'arôme de dégradation comme le furfural.

2.2 Effet d'une augmentation du pH sur les teneurs en composés d'arôme

Evolution des composés d'arôme du pur jus par rapport au jus à base de concentré au pH natif

La modulation du pH et son effet sur les teneurs en composés d'arôme ont été effectués sur du pur jus en condition modèle au laboratoire. Nous avons donc comparé les compositions du jus à base de concentré et du pur jus et leurs évolutions après 1 mois de stockage. Les concentrations de 30 composés d'arôme du pur jus d'orange (Naveline, Espagne) pressé à la main à t_0 et après 1 mois de stockage sont données dans le Tableau 35 en fonction du pH du jus. Ces concentrations ont été comparées à celles du jus à base de concentré et à son évolution, étudié dans le chapitre 1 (Tableau 22).

Le pur jus obtenu est beaucoup moins riche en limonène (5 fois moins) et de façon plus générale moins riche en terpènes. Le concentré d'orange contenait déjà des concentrations plus élevées en ces composés que le pur jus. En effet, l'extraction mécanique du jus augmente les teneurs en constituants des huiles essentielles par rapport à une extraction manuelle (Moshonas et Shaw, 1994), procédé utilisé pour notre pur jus. La fraction aromatique huileuse ajoutée dans le concentré et constituée majoritairement de limonène et d'autres terpènes a amplifié les écarts entre le jus à base de concentré et le pur jus.

Concernant les esters, le butanoate d'éthyle n'a pu être quantifié car il a coélué avec l'α-pinène. Néanmoins, nous pouvons constater que le pur jus contient plus d'esters aussi bien en quantité de matière qu'en nombre de composés (hexanoate d'éthyle, 3-hydroxy butanoate d'éthyle et 3-hydroxy hexanoate d'éthyle). Le concentré ne contient en effet aucun de ces composés et le butanoate d'éthyle est l'ester très majoritaire de la fraction aqueuse ajoutée. Pour les alcools aliphatiques, hormis l'octanol présent dans le concentré et dans la fraction huileuse et donc dans le jus à base de concentré, le pur jus contient plusieurs autres alcools comme le 2-méthyl-1-propanol et le *cis*-3-hexen-1-ol. Au contraire, les alcools monoterpéniques sont moins concentrés dans le pur jus que dans le jus à base de concentré. Le linalol, comme les terpènes, est présent dans les huiles essentielles du flavedo (Bazemore *et al*., 2003), sa teneur est donc plus élevée dans le concentré. Les autres alcools monoterpéniques sont des produits générés par catalyse acide ou oxydation, il est donc logique d'obtenir des teneurs plus faibles de ces composés dans le pur jus, qui a été pasteurisé une seule fois et n'a pas connu de transport et stockage avant son utilisation. Les aldéhydes octanal, nonanal et décanal sont absents du pur jus alors qu'ils sont présents dans le concentré et dans la phase huileuse. Ils sont présents dans les huiles essentielles (Mitiku *et al*., 2000). Seul l'hexanal est présent dans le pur jus mais il reste moins concentré que dans le jus à base de concentré dont l'apport provient de la fraction aqueuse.

Le 4-vinylgaïacol, produit de dégradation, est détecté dans le pur jus pasteurisé natif alors qu'il n'était pas présent dans le jus à base de concentré à t_0. Ces 2 jus n'ont pas le même pH : 3,9 pour le jus à base de concentré et 3,2 pour le pur jus. De plus, le traitement thermique appliqué est différent. Le jus à base de concentré a été deux fois flash-pasteurisé pendant 20s à 92°C alors que le pur jus a subi une augmentation progressive de sa température pendant 5 min jusqu'à 92°C. Marcotte *et al.* (1998) ont étudié l'effet de la température du traitement thermique et du pH sur la formation de 4-vinylgaïacol dans le jus d'orange. Les purs jus ont été chauffés par immersion dans des bains d'eau à des températures de 75, 85 et 95°C pendant 15, 30 et 60 min. Ces auteurs ont montré que les augmentations de la durée et de la température du chauffage provoquaient une augmentation de la concentration de 4-vinylgaïacol. Les différences de pH et de traitement thermique entre le jus à base de concentré (flash-pasteurisation) et le pur jus (pasteurisation plus longue) pourraient ainsi expliquer la présence de 4-vinylgaïacol dans le pur jus pasteurisé à t_0.

Tableau 35. Concentrations* des composés d'arôme du pur jus pressé à la main et pasteurisé à t_0 et après 1 mois de stockage en fonction du pH du jus

			Après 1 mois de stockage en fonction du pH					
Composé	**IRL**[†]	**t_0 pH 3,2**	**3,2**	**3,5**	**4,0**	**5,0**	**6,0**	**7,0**
hydrocarbures monoterpéniques								
α-pinène + butanoate d'éthyle	1040	0,42 a	0,47 b	0,44 b	0,50 a	0,41 a	0,38 a	nq
β-myrcène	1148	0,52 a	0,66 b	0,55 ac	0,67 b	0,60 c	0,50 a	0,51 a
limonène (+ β-phellandrène)	1188	27,13 a	30,98 b	27,43 ab	28,78 ab	27,76 ab	23,88 a	25,00 a
α-terpinolène	1284	0,02 a	0,02 a	0,01 b	0,02 a	0,01 c	tr[‡]	tr
hydrocarbures sesquiterpéniques								
valencène	1751	2,99 a	1,72 b	1,68 bc	2,29 d	2,99 a	2,16 d	1,44 c
esters								
hexanoate d'éthyle	1223	0,01 a	0,01 b	0,01 b	0,01 b	0,01 b	tr	tr
3-hydroxy butanoate d'éthyle	1524	0,03 a	0,03 a	0,03 a	0,03 a	0,03 a	n.q.[††]	tr
3-hydroxy hexanoate d'éthyle	1677	0,40 a	0,29 b	0,28 b	0,37 a	0,38 a	n.q.	0,27 b
alcools aliphatiques								
2-méthyl-1-propanol	1054	0,04 a	0,06 b	0,06 b	0,05 b	0,04 a	0,04 ab	0,06 b
butanol	1113	0,03 a	0,02 a	0,03 a	0,03 a	0,03 a	0,05 b	0,15 c
3-méthyl-2-buten-1-ol	1277	0,06 a	0,04 b	0,04 b	0,03 c	0,02 d	0,02 cd	0,04 b
cis-3-hexen-1-ol	1351	0,09 a	0,10 a	0,09 a	0,10 a	0,09 a	0,09 a	0,08 b
octanol	1537	0,08 a	0,11 b	0,10 b	0,11 b	0,08 a	0,06 a	0,11 b
alcools monoterpéniques								
linalol	1530	0,09 a	0,07 a	0,08 a	0,08 a	0,07 a	0,08 a	0,08 a
terpinen-4-ol	1574	0,06	0,06	0,06	0,06	0,12	0,05	0,06
β-terpinéol	1616	0,06 a	0,09 b	0,06 a	0,02 c	tr	tr	tr
α-terpinéol	1661	0,32 a	0,49 b	0,33 a	0,17 c	0,03 d	0,07 e	0,04 d
nérol	1757	0,02 a	0,01 a	0,01 a	0,02 b	0,02 a	0,02 a	0,02 a
trans-carvéol	1801	0,07 a	0,06 a	0,05 b	0,04 c	0,02 d	0,03 c	0,01 d
géraniol	1797	0,02 a	0,01 b	0,02 b	0,02 a	0,02 a	0,02 a	0,06 c
cis-carvéol	1820	0,02 a	0,02 a	0,02 a	0,01 b	0,01 b	0,01 b	0,02 a
limonène-1,2-diol	2222	0,03 a	0,03 a	0,02 a	0,03 a	nq	0,03 a	0,02 a
aldéhydes et cétones								
hexanal	1084	0,03 a	0,03 a	0,03 a	0,03 a	0,01 b	tr	tr
3-penten-2-one		tr	0,05 a	0,04 a	0,03 b	0,01 c	0,01 c	0,01 c
3-hydroxy-2-butanone	1066	0,09 a	0,08 a	0,08 a	0,07 a	0,06 a	0,20 b	0,17 c
furfural	1433	0,02 a	0,07 b	0,05 c	0,01 a	tr	tr	tr
nootkatone	2250	0,52 a	0,36 b	0,35 b	0,29 b	0,34 b	0,45 a	0,30 b
Autres								
4-vinylgaïacol	2121	0,09 ad	0,02 b	0,02 b	0,04 c	0,08 a	n.q.	0,10 d
vanilline	2414	0,11 a	0,10 a	0,09 a	0,15 b	0,18 c	tr	tr

* en $\mu g.g^{-1}$ (n=3). Les moyennes suivies de lettres différentes dans une même ligne sont significativement différentes (p<0.05, test de Duncan).[†] IRL Indice de Rétention Linéaire (Jennings et Shibamoto (1980); Kondjoyan et Berdagué (1996)) [‡]tr = traces (< 0,01 $\mu g.g^{-1}$). [††] n.q.= non quantifié

Les évolutions des composés d'arôme du pur jus au pH natif de 3,2 après 1 mois de stockage et les évolutions dans le jus à base de concentré (2 mois de stockage) sont globalement similaires. Les marqueurs du stockage sont l'α et le β-terpinéol dont les concentrations augmentent de 50 % (Tableau 35). L'augmentation de la teneur en furfural est observée mais la teneur reste faible (0,07 $\mu g.g^{-1}$) et inférieure au seuil de détection dans l'eau (3 $\mu g.g^{-1}$). Notons cependant que la cinétique d'apparition de l'α-terpinéol dans le jus à base de concentré est plus rapide. D'autre part, les hydrocarbures monoterpéniques diminuaient de manière notable au cours du temps pour le jus à base de concentré à partir de 2 mois de stockage (Tableau 22). Ici pour le pur jus après 1 mois de stockage, le comportement est différent et les valeurs obtenues sont supérieures aux valeurs à t0.

Ainsi, le pur jus pressé à la main contient moins d'hydrocarbures monoterpéniques, de linalol, d'octanal, de nonanal et de décanal que le jus à base de concentré étudié dans le chapitre 1. Le pur jus contient par contre une plus grande quantité d'esters. L'étude de la modulation du pH sur le pur jus permet donc d'étudier son influence sur une gamme plus large de composés d'arôme.

Evolution des composés d'arôme du pur jus en fonction de la modulation du pH

Hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques

Parmi les hydrocarbures monoterpéniques, comparées aux concentrations initiales dans le jus à pH 3,2, les concentrations du β-myrcène et du limonène ne sont pas significativement affectées (p<0,05) après 1 mois de stockage à pH 6,0 et 7,0. Au contraire, l'α-terpinolène, stable après 1 mois à pH 3,2, présente des pertes de plus en plus fortes au fur et à mesure que le pH augmente. Aux pH 6,0 et 7,0 il n'est plus présent qu'à l'état de traces. Les teneurs en valencène, un hydrocarbure sesquiterpénique, diminuent de 42 % après un stockage au pH initial. Une augmentation du pH jusque 5,0 permet de limiter les pertes et à partir du pH 6,0 les teneurs diminuent à nouveau.

Esters

Concernant l'hexanoate d'éthyle et le 3-hyroxybutanoate d'éthyle, les concentrations ne sont ni affectées par le stockage ni affectées par une augmentation du pH de 3,2 à 5,0. Aux pH 6,0 et 7,0, ces composés disparaissent. La teneur en 3-hydroxyhexanoate d'éthyle du jus à t_0 est conservée à pH 4,0 et 5,0 alors que des pertes sont observées aux autres pH. .

Alcools aliphatiques

Les alcools aliphatiques sont très peu affectés par une augmentation du pH. Le 3-méthyl-2-buten-1-ol a augmenté dans le jus d'orange à base de concentré de manière progressive pendant les 5 mois de stockage (Chapitre 1). Ce composé a une odeur phénolique et métallique (Fenaroli, 1995). Ici, une augmentation du pH à 5,0 et 6,0 aurait l'intérêt de diminuer sa formation.

Alcools monoterpéniques

Pendant le stockage, l'augmentation du pH ne modifie pas les quantités de linalol, nérol, géraniol, carvéol et limonène-1,2-diol. Au contraire, les quantités d'α et de β-terpinéol sont fortement dépendantes du pH du jus, et diminuent significativement et progressivement entre pH 3,5 et pH 7,0 (Figure 49). Cette observation conforte l'hypothèse de formation de l'α et du β-terpinéol par catalyse acide dans le jus d'orange. Les différents précurseurs de ces composés sont le limonène, l'α et le β-pinène et le linalol (Clark et Chamblee, 1992). Haleva-Toledo et al. (1999) ont montré que le pH avait une forte influence sur la formation d'α-terpinéol à partir du limonène ou du linalol dans des solutions modèles tamponnées à pH 2,8 et 3,8 et conservées 1 mois. Le jus le plus acide présentait les plus fortes teneurs en α-terpinéol. Une augmentation du pH du jus pourrait permettre de limiter sa formation. Par contre, cette diminution de la formation d'α et de β-terpinéol ne se traduit pas par un gain net des différents composés précurseurs.

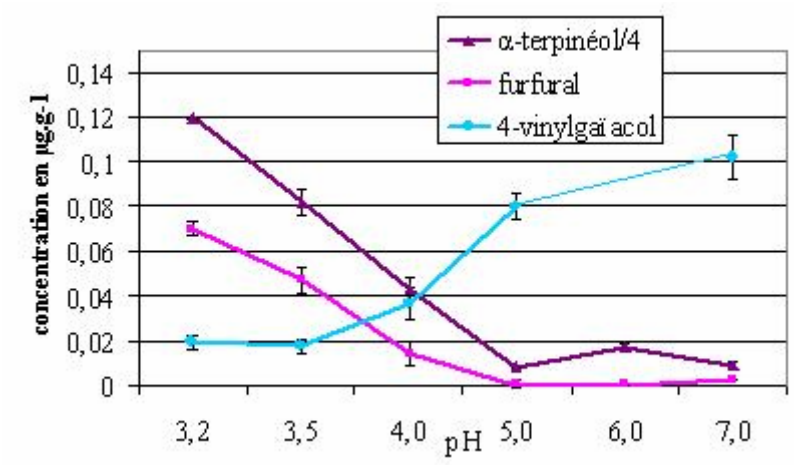


Figure 49. Concentrations en α-terpinéol, furfural et 4-vinylgaïacol (moyenne ± écart-type, n=3) après 1 mois de stockage en fonction du pH du jus

Aldéhydes et cétones

Les teneurs en hexanal demeurent stables jusqu'à pH 4,0; au-delà, elles diminuent progressivement. La nootkatone reste plus ou moins stable. La 3-hydroxy-2-butanone est stable jusqu'à pH 5,0, puis augmente fortement à pH 6,0 et 7,0. Les concentrations de 3-penten-2-one et furfural augmentent significativement lors d'un stockage d'un mois à pH 3,2. Comme pour l'α-terpinéol, une augmentation du pH de 3,2 à 7,0 permet de limiter considérablement leurs formations (Figure 49).Yuan et Chen (1998) ont étudié la dégradation de l'acide ascorbique dans des solutions aqueuses à différents pH chauffées à 100°C pendant 2 h. Ils ont montré que l'acide ascorbique était très sensible aux conditions acides et donnait naissance à des composés de dégradation, principalement le furfural. En augmentant le pH, la formation de furfural était limitée. Ici, une augmentation du pH de 3,2 à 4,0 permet de diminuer la quantité en furfural de 0,07 à 0,01 $\mu g.g^{-1}$. Cette diminution de la quantité de furfural est à relier avec la diminution des pertes en vitamine C.

Autres

Le 4-vinylgaïacol constituait l'un des produits de dégradation du jus à base de concentré avec un impact olfactif connu pour être négatif (note de cuit, Peleg *et al*., 1992). Par modulation du pH et après une pasteurisation à 95°C, Marcotte et al. (1998) ont obtenu des teneurs en 4-vinylgaïacol respectivement 8 fois et 3 fois supérieures à pH 3,1 et 3,8 par rapport au pH de 4,5. Ainsi, la formation de 4-vinylgaïacol est fortement favorisée à de faibles pH. Dans notre étude, il semble que l'intervalle compris entre 3,2 et 4,0 soit le plus favorable à de faibles apparitions de 4-vinylgaïacol qui restent inférieures au seuil de détection établi par Tatum et al. (1975) (Figure 49). Cependant, contrairement à Marcotte *et al*. (1988) qui observait une diminution entre pH 3,1 et 4,5, la concentration en 4-vinylgaïacol de notre jus augmente à partir de pH 3,5. A pH 7,0, la concentration est 5 fois supérieure à celle obtenue à pH 3,2.

De nombreuses études rapportent la formation de 4-vinylgaïacol à partir de l'acide férulique par voie bactérienne (Karmakar *et al*., 2000) ou par des levures (Sutherland *et al*., 1995 ; Coghe *et al.*, 2004). Le 4-vinylgaïacol formé peut alors se transformer en vanilline puis être oxydé en acide vanillique et enfin déméthylé en acide protocatéchique (Figure 50). Cette réaction constitue d'ailleurs une voie intéressante de biotransformation de l'acide férulique en vanilline et acide vanillique (Karmakar *et al*., 2000).

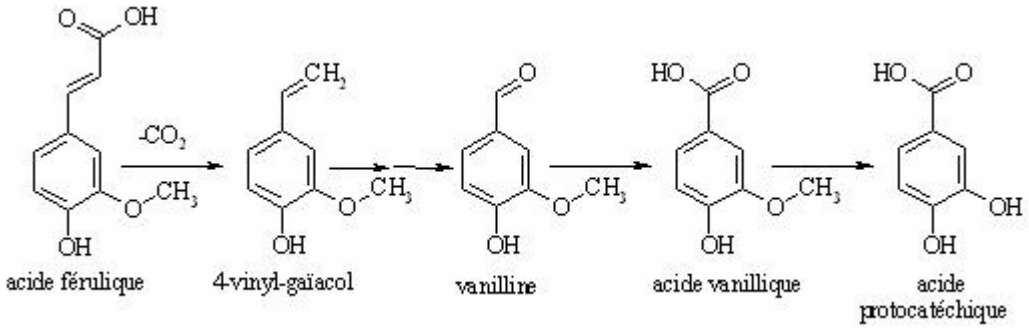


Figure 50. Mécanisme de dégradation de l'acide férulique par des microorganismes (d'après Karmakar *et al*., 2000)

Les bactéries qui survivent à la pasteurisation sont le plus souvent incapables de se développer dans les conditions acides du milieu (Blocher et Busta, 1983). Cependant, des bactéries thermoacidophiles *Alicyclobacillus acidoterrestris* ont été détectées dans des jus de fruits pasteurisés (Petthiper *et al*., 1997 ; Silva *et al*., 1999 ; Zierler et al., 2004 ; Gocmen *et al*., 2005). Ces bactéries sont non-pathogènes mais responsables de l'apparition de notes sensorielles négatives dites « médicinales ». La température, le pH et la teneur en solides insolubles influencent le développement de ces bactéries. (Silva *et al*., 1999). Alors que l'augmentation de la température est le paramètre le plus efficace pour la réduction bactérienne, une diminution des solides insolubles et du pH, au contraire, Dans le chapitre 1, dans les conditions acides du milieu, cette voie de formation du 4-vinylgaïacol par des bactéries thermoacidophiles est donc également envisageable. La gamme de pH de leur développement est large, comprise entre 2,5 et 6,0, pour des températures de stockage de 25-60°C (Murukami *et al.*, 1998). La gamme de pH que nous étudions, du moins jusque pH 6, resterait donc favorable à leur développement.

2.3 Effet d'une augmentation du pH sur le brunissement

L'indice de brunissement du pur jus d'orange pressé à la main à son pH initial de 3,2 était 0,126 à t_0. Les indices de brunissement après 1 mois de stockage aux pH modifiés sont donnés dans le Tableau 36.

Tableau 36. Indices de brunissement (moyenne ± écart-type, n=3) des jus après 1 mois de stockage en fonction du pH

pH	*Indice de brunissement*
3,2	0,166 ± 0,005 [a]
3,5	0,179 ± 0,007 [a]
4,0	0,187 ± 0,005 [b]
5,0	0,217 ± 0,006 [c]
6,0	0,261 ± 0,005 [d]
7,0	0,169 ± 0,007 [a]

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes ($p<0.05$, test de Duncan).

Après 1 mois de stockage à pH 3,2, l'indice de brunissement augmente de 32 % par rapport au t_0. A pH 6,0, l'augmentation est de 106 %. Ainsi, une augmentation du pH provoque une augmentation de l'indice de brunissement néfaste à la qualité visuelle du jus pendant sa conservation.

L'acide ascorbique est une réductone et la plupart des études sur le brunissement l'ont considéré comme une substance participant à l'apparition du brunissement puisqu'elle s'apparente à un intermédiaire dans le cycle des réactions de Maillard entre les sucres réducteurs et les acides aminés. Pendant l'étape finale qui conduit au brunissement, les intermédiaires polymérisent et des pigments colorés bruns, les mélanoïdines, sont formés (Hodge, 1953). Dans notre étude, en augmentant le pH de 3,2 à 6,0, les pertes en acide ascorbique diminuent alors que le brunissement augmente. Ainsi, l'acide ascorbique seul ne peut expliquer l'apparition du brunissement. La réaction de Maillard entre les sucres et les acides aminés dépend du pH de sorte qu'un pH compris entre 4 et 7 favorise cette réaction et donc le brunissement non-enzymatique des aliments contenant des teneurs élevées en protéines ou en sucres (Kroh, 2004). Kennedy *et al*. (1990) ont mesuré les teneurs en sucres dans les jus d'orange à pH 1,15; 1,95; 3,1; 4,15 et 7 pendant 35 jours de stockage. La quantité en sucres totaux restait constante quelque soit le pH et excluait leur participation dans le brunissement non-enzymatique. Un suivi des teneurs en sucres de nos échantillons a également été sous-traité et a confirmé leur stabilité au cours du stockage.

Cependant, entre des pH de 3,2 et 4,0, l'augmentation du brunissement est limitée comparée à celle observée entre pH 4,0 et 6,0. De plus, les indices de brunissement aux pH 3,2 et 3,5 ne sont pas significativement différents ($p<0.05$) (Tableau 36). Ainsi, une augmentation du pH

entre 3,2 et 4,0 pourrait avoir un impact visuel limité. Celui-ci resterait proche de la modification de couleur observée au pH initial de 3,2. De plus, une augmentation du pH de 3,2 à 4,0 permettrait un gain non négligeable en vitamine C de 63 $mg.L^{-1}$ (Tableau 34), soit 12 % de la teneur initiale en acide ascorbique.

2.4 Choix d'un pH optimal et faisabilité pour la fabrication de jus

L'augmentation du pH de 3,2 à 4,0 de notre pur jus pressé à la main a montré l'intérêt de limiter la formation de notes négatives et de diminuer les pertes en vitamine C sans provoquer une apparition supplémentaire significative de brunissement. Cette modulation de pH en condition réelle peut être obtenue par le choix de la variété d'orange utilisée, la zone de production ou le degré de maturité des oranges (Topuz *et al.*, 2005).

Néanmoins, des contraintes liées au marché mondial de production des concentrés sont à prendre en considération. Ainsi, nous avons mesuré chaque mois pendant 10 mois le pH du jus d'orange à base de concentré produit chez l'industriel. Nous avons obtenu une moyenne de 4,02 +/- 0,02 montrant une très forte stabilité du pH du jus à base de concentré sur une période de production suffisamment longue. Le concentré d'orange est produit en très grande quantité au Brésil avec 1189,5 milliers de tonnes exportées en 2003 (38 % du volume total de concentré exporté dans le monde) (FAO, 2003). Le concentré doit répondre à une teneur en Brix et à un ratio Brix/acidité pour que le produit conserve ses caractéristiques pendant une année d'approvisionnement. Ainsi, il semble très difficile de se procurer des concentrés d'orange présentant des pH différents et plus élevés. De plus il resterait à confirmer que les améliorations observées dans le pur jus après une augmentation du pH seraient les mêmes dans un jus à base de concentré, et après des durées de stockage supérieures à 1 mois.

L'entreprise conditionne également des purs jus d'orange. Comme pour le jus d'orange à base de concentré, nous avons suivi les valeurs de pH pendant 10 mois. Le pur jus d'Espagne avait un pH compris entre 3,50 et 3,66 et le pur jus de Floride ou Brésil/Floride un pH compris entre 3,80 et 4,10. Ainsi, cette observation confirme que le pH serait dépendant de la zone géographique de production. Il serait possible de sélectionner une zone de production et une variété présentant des pH supérieurs. Topuz *et al.* (2005) ont étudié les propriétés physico-chimiques et nutritionnelles de 4 variétés d'orange. Les pH des jus étaient respectivement de 3,19; 3,64; 3,62 et 3,84 pour les variétés Alanya, Finike, Washington Navel et Shamouti.

Cependant, le choix d'une variété à pH supérieur ne permet pas d'obtenir une valeur stable de pH pendant toute une durée de production car la variété n'est pas le seul critère déterminant le pH. L'état de maturité du fruit est également déterminant.

Pour obtenir des jus à pH plus élevé, des procédés de désacidification des jus ont été conçus. Les travaux de Vera *et al.* (2003) montrent que le jus de fruit de la passion peut être désacidifié selon différentes méthodes (dont l'électrodialyse) qui permettent une augmentation du pH de 2,9 à 4,0. Ces mêmes auteurs précisent que l'augmentation du pH est limitée à 4,0 pour éviter le développement de micro-organismes et la contamination du produit.

D'un point de vue sensoriel, l'augmentation du pH doit également être limitée car elle modifie la perception des composés d'arôme. Nagy et Dinsmore (1974) ont étudié la relation entre la formation de furfural et les modifications de flaveur dans un pur jus d'orange commercial conservé en canettes à 21°C. Ils ont réalisé des tests organoleptiques en utilisant des jus provenant soit d'oranges Valencia de mi-saison, soit d'oranges Valencia tardives. Avec les oranges de mi-saison, le pH du jus était compris entre 3,52 et 3,68 et les teneurs en furfural des jus étaient comprises entre 31 et 71 $\mu g.L^{-1}$. Avec les oranges Valencia tardives, le pH du jus était compris entre 3,78 et 3,88 et les teneurs en furfural étaient comprises entre 18 et 38 $\mu g.L^{-1}$. Pourtant, dans les deux cas, le jus était perçu différent du jus initial après 2 à 4 semaines de stockage. Les auteurs ont conclu que l'acidité du jus avait probablement deux effets antagonistes : elle provoque la formation de furfural par catalyse acide et elle masque partiellement les notes négatives. D'après cette étude, l'impact du furfural dépend donc fortement de l'acidité du jus. Cependant, le seuil de détection dans l'eau du furfural est très élevé (3000-23000 $\mu g.L^{-1}$) ce qui suggère qu'il n'est pas détecté, aussi bien dans les jus d'orange à pH acide et moins acide de cette étude.

L'étude modèle sur l'augmentation du pH des jus par ajout de soude nous a montré qu'une augmentation du pH de 3,2 à 4 pourrait permettre de limiter la formation des composés d'arôme issus de la catalyse acide et de protéger la vitamine C tout en limitant l'augmentation du brunissement non-enzymatique. D'un point de vue industriel, la sélection de variétés d'oranges ou de zones de production n'est pas facile à mettre en place et est limité par la contrainte des volumes de production à satisfaire. Le procédé de désacidification constituerait une solution technologique à l'augmentation du pH. Néanmoins, son utilisation n'est pas mentionnée dans la réglementation européenne (annexe 1).

3. Effet des fractions pulpe/trouble/sérum dans le jus à base de concentré sur la rétention des composés d'arôme

La perception de la flaveur d'un aliment est liée à la façon dont les composés d'arôme sont retenus dans la matrice. Cette rétention des composés d'arôme dépend de leur caractéristique physico-chimique et de leur concentration mais aussi de leurs interactions avec les macro constituants de la matrice. Peu d'études ont abordé l'effet du taux de solides insolubles sur la rétention des composés d'arôme du jus d'orange. Jordan *et al.* (2001) ont montré que les quantités présentes dans l'espace de tête d'un jus d'orange frais industriel, de plusieurs composés d'arôme (alcools et hydrocarbures monoterpéniques) diminuaient après diminution de la quantité de solides insolubles par centrifugation de 10-15 % à 3 %. Rega *et al.* (2004a) ont montré à l'échelle du laboratoire qu'une addition de pulpe avant la pasteurisation protégeait la qualité aromatique du jus. De plus, une addition de pulpe dans un jus frais faiblement pulpé pourrait augmenter la perception de la fraîcheur du jus par des effets physico-chimiques (la pulpe contient des quantités importantes de composé d'arôme) mais aussi cognitifs, à cause de la texture de la pulpe (Rega *et al*., 2004b). Ainsi, une modification du taux de pulpe pourrait influencer la rétention des composés d'arôme suite à une modification des interactions entre les composés d'arôme et les particules insolubles.

La mesure du coefficient de partage K d'un composé d'arôme entre la phase vapeur et la matrice permet d'étudier l'aptitude d'un composé d'arôme à être retenu dans la matrice, en conditions d'équilibre. Plusieurs méthodes, statiques ou dynamiques permettent la détermination de cette rétention. La méthode dynamique de dilution exponentielle consiste à obtenir une diminution exponentielle de la concentration du composé d'arôme dans la phase gazeuse en fonction du temps (Sadafian et Crouzet, 1987). Les méthodes statiques nécessitent le plus souvent la détermination de la concentration du composé d'arôme dans les deux phases, espace gazeux et matrice, une fois l'équilibre atteint (Cayot *et al*., 2000 ; Nahon *et al*., 2000). Elle nécessite une calibration externe, pour déterminer la concentration du composé d'arôme dans la phase vapeur (méthode VPC Vapour Phase Calibration) et une extraction de la phase liquide.pour déterminer la concentration dans la phase liquide. Une autre méthode statique a été proposée par Ettre et Kolb (1991), c'est la méthode de variation du rapport de phase PRV (Phase Ratio Variation method). Cette méthode a été appliquée pour la première fois à une matrice alimentaire par Jouquand *et al.* (2004). Elle est plus facile à mettre en œuvre que les méthodes précédentes car elle ne nécessite pas la détermination des

concentrations dans chacune des phases (Chaintreau *et al*.,1995). Le principe de la détermination du coefficient de partage par cette méthode est décrit dans le chapitre Matériels et Méthodes.

3.1 Détermination des pourcentages massiques de pulpe/trouble/sérum et choix d'un protocole

Les différentes fractions pulpe, trouble et sérum sont récupérées après centrifugation et leurs pourcentages massiques respectifs calculés sont 4,8 %; 0,5 % et 94,6 % de la masse totale en poids humide initial de jus centrifugé.

Dans le but de déterminer les effets de chacune des fractions du jus sur la rétention des composés d'arôme, les coefficients de partage sont d'abord déterminés dans le jus entier. Puis la même expérimentation est conduite sur le sérum seul ; le sérum supplémenté en pulpe et enfin le sérum supplémenté en trouble. Pour amplifier les effets d'un rajout de pulpe ou de trouble sur les coefficients de partage des composés d'arôme, les quantités introduites en pulpe et en trouble sont volontairement augmentées par rapport aux valeurs déterminées dans le jus. Ainsi, le sérum supplémenté en pulpe contient 2 fois plus de pulpe que le jus entier (9,6 % au lieu de 4,8 %) et le sérum supplémenté en trouble contient 10 fois plus de trouble que le jus entier (5 % au lieu de 0,5 %). Ces proportions sont choisies en fonction des quantités de pulpe et de trouble récupérées disponibles pour réaliser les différentes manipulations et leurs répétitions. Dans le but de comparer les effets respectifs de la pulpe et du trouble, nous tiendrons compte du fait que nous avons ajouté 2 fois plus de pulpe que de trouble au sérum (exactement 1,92 fois plus).

3.2 Comparaison des coefficients de partage pour le jus entier et avec les différentes fractions

Pour chaque composé d'arôme, le coefficient de partage (gaz/jus) est mesuré 3 fois. Chaque valeur de K est déterminée par une droite de régression linéaire qui représente l'aire du pic en fonction du rapport de phase β. Les composés d'arôme les plus polaires comme l'acétate d'éthyle ou l'éthanol sont très solubles dans le milieu, la variation de la concentration en phase gazeuse ne varie pas lorsque β augmente. La méthode PRV ne peut donc pas être

appliquée pour ces composés. Il en est de même pour des composés ayant des tensions de vapeur trop faibles ou présents en trop faibles quantités pour pouvoir calculer K avec un coefficient de régression acceptable (supérieur à 0,98).

La **Figure 51** présente les coefficients de partage obtenus pour les différents composés d'arôme étudiés. Les composés les plus hydrophiles comme le butanoate d'éthyle, l'hexanal et l'octanal, avec des Log *P* de 1,7 ; 1,78 et 2,78 ont les valeurs de K les plus faibles, ils ont une bonne affinité avec le milieu. Les autres composés sont des monoterpènes avec des Log *P* supérieurs compris entre 4,17 et 4,83 donc avec des coefficients de partage supérieurs car ils ont moins d'affinité avec la matrice.

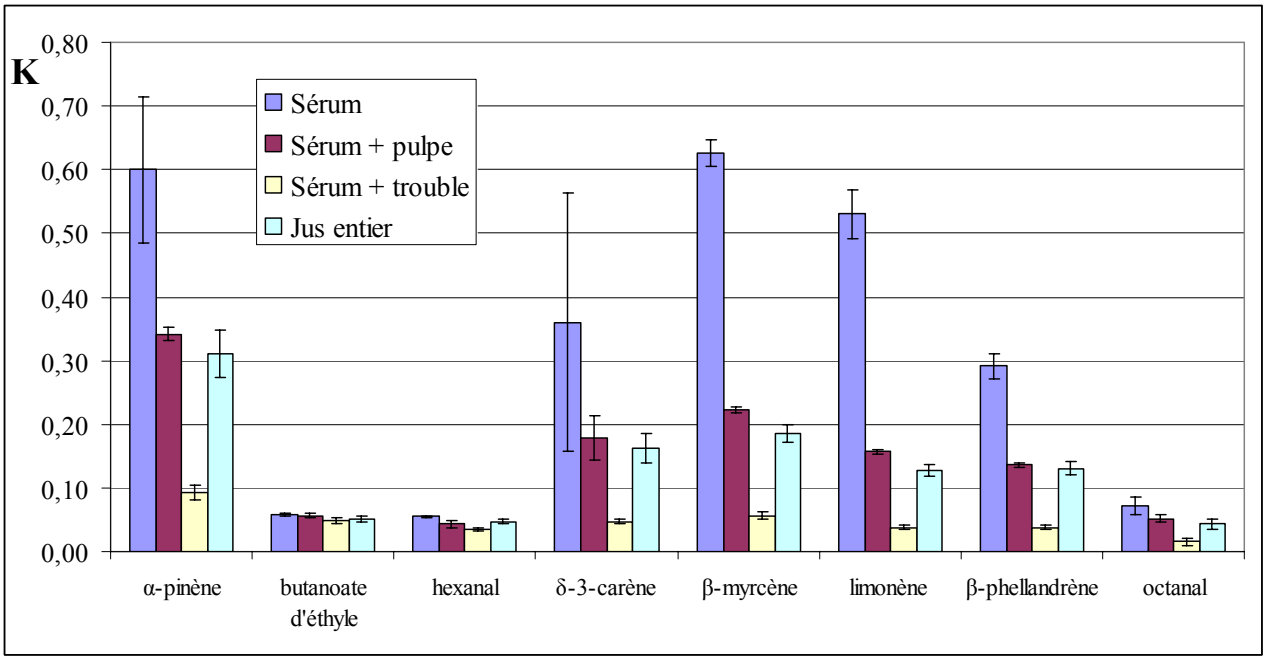


Figure 51. Coefficients de partage K (air/liquide) de composés d'arôme dans le sérum, le sérum supplémenté en pulpe, en trouble et le jus entier à base de concentré (n=3), méthode linéaire

Les coefficients de partage du butanoate d'éthyle et de l'hexanal ne sont pas affectés de manière significative par ajout de pulpe ou de trouble dans le sérum. De plus, la valeur de K dans le sérum est la même que dans le jus entier. Pour l'octanal qui est légèrement plus hydrophobe, l'ajout de trouble augmente significativement sa rétention dans le milieu.

Pour les monoterpènes, la comparaison des K dans le sérum et dans le sérum avec 2 fois plus de pulpe montre une diminution (significative au seuil de 0,05) donc une augmentation de la rétention de ces composés. Lors d'un ajout de trouble (10 fois plus que dans le jus)

l'augmentation de la rétention est encore plus grande. Ces composés sont donc mieux retenus en présence de pulpe ou de trouble que dans le sérum seul. Ce résultat est cohérent avec les travaux de Radford *et al.* (1974) et Brat *et al*. (2003) qui ont montré que ces composés terpéniques interagissent avec la pulpe et le trouble par effet hydrophobe.

Les valeurs de K du sérum avec 2 fois plus de pulpe ne sont pas significativement différentes (p<0,05) des valeurs de K dans le jus entier (sauf β-myrcène et limonène). L'effet de rétention observé avec le sérum supplémenté en trouble est beaucoup plus important que l'effet observé avec le sérum supplémenté en pulpe. Le sérum doit contenir 2 fois plus de pulpe (9,6 %) pour présenter la même rétention des monoterpènes que le jus entier, qui contient 4,8 % de pulpe et 0,5 % de trouble.

Ces observations nous ont conduits à exprimer la différence de rétention des composés d'arôme dans les milieux sérum et sérum avec pulpe et trouble par rapport au jus entier. Le pourcentage de rétention est calculé de la façon suivante :

% de rétention = ((1-K(milieu étudié)/K(jus entier)) * 100

Les valeurs des pourcentages de rétention obtenus sont données dans la Figure 52.

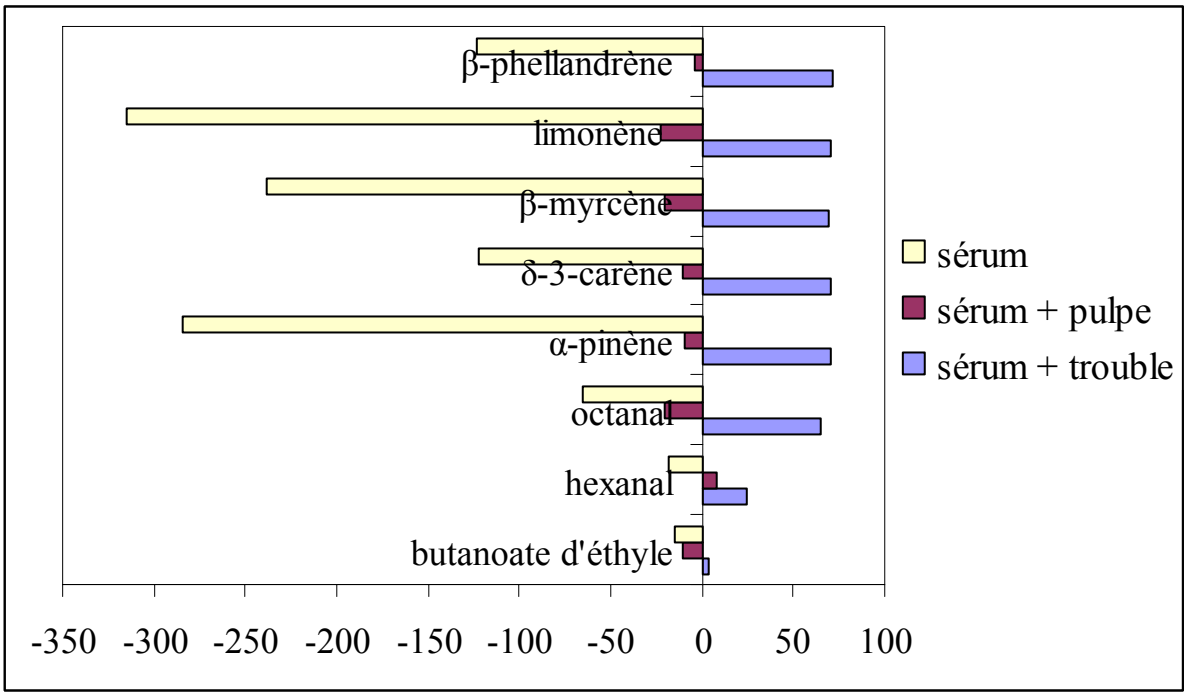


Figure 52. Pourcentages de rétention des composés d'arôme dans les différents milieux étudiés par rapport au jus entier

Le sérum seul présente des pourcentages de rétention négatifs pouvant aller jusqu'à -300 %. Le sérum supplémenté avec 2 fois plus de pulpe qu'un jus normal permet de s'approcher de la rétention obtenue dans le jus entier, même si elle reste encore légèrement inférieure. Enfin, le sérum avec 10 fois plus de trouble présente un pourcentage de rétention de 70 % pour les monoterpènes et de 3 ; 24 et 64 % pour le butanoate d'éthyle, l'hexanal et l'octanal par rapport au jus entier. Ces pourcentages de rétention confirment le rôle des fractions pulpe et principalement de la fraction trouble sur la rétention des composés les plus hydrophobes.

La distribution des composés d'arôme dans les différentes fractions d'un jus d'orange a été étudiée par Brat *et al.* (2003). En raisonnant en matière sèche à partir des données en poids humide des auteurs, nous pouvons constaté que le trouble contient une plus grande quantité d'hydrocarbures monoterpéniques que la pulpe. En effet, la concentration en limonène est de 8500 $\mu g.g^{-1}$ dans la pulpe et de 14000 $\mu g.g^{-1}$ dans le trouble. Les auteurs ont extrait les lipides, constituants qui peuvent jouer un rôle dans la rétention des composés d'arôme dans la pulpe et dans le trouble. La pulpe et le trouble, de même composition lipidique, contenaient respectivement 1,8 % et 13,5 % de lipides en poids humide. En tenant compte de leurs quantités de matière sèche dans la pulpe et dans le trouble, nous obtenons 34 % de lipides dans la pulpe et 80 % de lipides dans le trouble (en matière sèche). Ainsi, la différence de concentrations en composés monoterpéniques entre la pulpe et le trouble, en particulier pour le limonène, pourrait être reliée à la différence de teneurs en lipides. Cette différence de composition en lipides expliquerait également le meilleur pouvoir rétenteur du trouble par rapport à la pulpe que nous avons observé pour plusieurs composés hydrophobes.

4. Influence du taux de pulpe et de la pasteurisation des purs jus sur la perception organoleptique

L'objectif de cette partie est d'étudier l'effet d'un procédé de fabrication industriel sur la rétention des composés d'arôme dans des purs jus d'orange. Ce procédé de fabrication est optimisé pour produire un pur jus au taux de pulpe réduit par l'utilisation de techniques de raffinage et de centrifugation. Ce jus à faible taux de pulpe répond aux attentes d'une partie des consommateurs préférant des jus de faible viscosité. D'autre part, la réduction du taux de pulpe facilite les étapes de la production. Le prélèvement de différents échantillons sur le site de production en Espagne permet la comparaison entre des jus frais et des jus pasteurisés. Les

3 jus frais (A1), (B1) et (C1) ont respectivement 12 %, 6 % et 6 % de pulpe et ont été obtenu par différents raffinages et centrifugation Les 3 jus pasteurisés correspondants sont codés (A2), (B2) et (C2) (Figure 53). Une approche sensorielle par SPME et Olfactométrie a été menée afin de déterminer les composés d'arôme odorants et leurs fréquences de détection dans les différents jus. Ensuite, afin d'évaluer l'impact du taux de pulpe et du traitement thermique sur la rétention des composés d'arôme dans le milieu, la mesure des coefficients de partage gaz/liquide de plusieurs composés d'arôme a été réalisée par la méthode PRV.

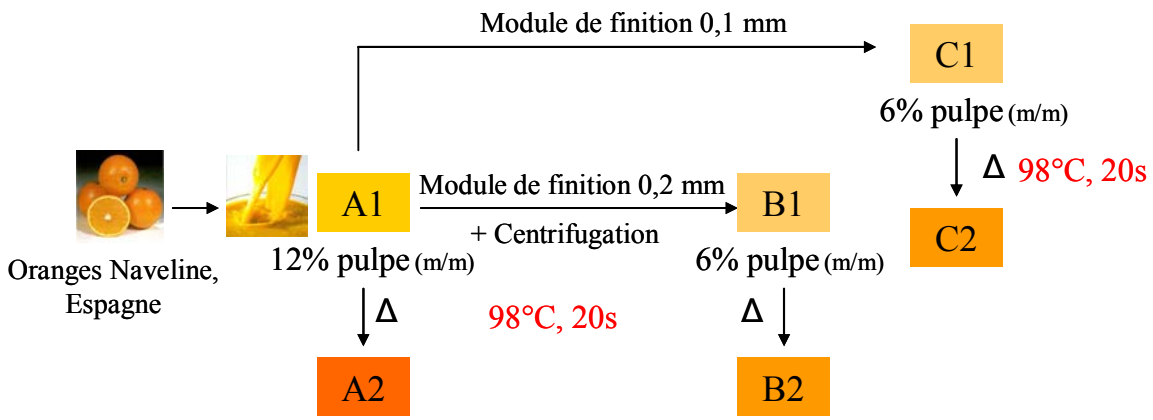


Figure 53. Schéma de fabrication des purs jus d'orange industriels

4.1 Tests de représentativité des extraits SPME par D-GC-O

La SPME est couramment utilisée dans l'analyse de la flaveur du jus d'orange (Steffen et Pawliszyn, 1996, Jia *et al.*, 1998) car elle permet non seulement l'analyse physico-chimique des composés d'arôme présents dans l'espace de tête mais aussi une approche sensorielle par couplage avec des méthodesd'olfactométrie, pour identifier les composés odorants du jus. Pour réaliser cette approche sensorielle, la première étape du travail a consisté dans l'évaluation de la qualité de nos extraits en terme de similarité d'odeur avec le jus d'orange réel. Dans ce but, nous avons utilisé l'Olfactométrie Directe (D-GC-O), qui consiste à désorber dans l'injecteur d'un chromatographe en phase gazeuse la fibre SPME puis, grâce à une colonne capillaire courte et désactivée, à acheminer l'extrait global au port de flairage. Par ce dispositif, le juge apprécie la qualité olfactive globale des extraits SPME par rapport au produit de référence (Lecanu et *al.*, 2002, Landy *et al.*, 2004).

4.1.1 Optimisation des conditions d'extraction

L'analyse par SPME nécessite le choix d'un type de fibre et l'optimisation des paramètres de temps de mise à l'équilibre du jus d'orange et de temps d'exposition pour obtenir la meilleure similarité d'odeur entre l'extrait et le produit. Rega *et al*. (2003a) ont étudié la représentativité d'extraits SPME du jus d'orange par D-GC-O. Parmi les trois fibres testées (DVB/CAR/PDMS, CAR/PDMS et PDMS/DVB), la fibre DVB/CAR/PDMS a permis d'obtenir la meilleure similarité d'odeurs entre le jus réel et l'extrait SPME grâce à une meilleure restitution de la fraîcheur du jus. Notre étude a été réalisée avec la même variété d'oranges (Naveline, Espagne), nous avons donc également choisi d'utiliser la fibre DVB/CAR/PDMS. Puis, les conditions de l'extraction en SPME ont été optimisées. En effet, cette optimisation des conditions d'extraction et de mise à l'équilibre dépend du type de produit alimentaire mais aussi des caractéristiques de la matrice. Roberts *et al.* (2000) ont par exemple utilisé un temps court d'exposition de la fibre dans l'espace de tête du flacon (1 min) qui permettait de mieux représenter les composés d'arôme du café et dans des solutions aqueuses aromatisées. Rega *et al*. (2003b), avec les jus d'orange Naveline (Espagne), ont obtenu la meilleure similarité d'odeur avec une note de 5,1 (sur une échelle de 0 à 10, 10 : éloigné) en effectuant 30 min de mise à l'équilibre à 40°C puis 1 min de temps d'exposition de la fibre DVB/CAR/PDMS. Ils ont pourtant retenu 5 min de mise à l'équilibre puis 1 min d'exposition de la fibre car ces conditions permettaient d'obtenir une note de similarité très proche de 5,3 en raccourcissant le temps de l'expérimentation. Pour notre étude, il nous a semblé intéressant de tester de nouvelles conditions pour chercher à améliorer les notes de similarité obtenues. Le temps d'exposition de la fibre a été allongé à 2 min et 5 min. Un temps de mise à l'équilibre de 15 min, intermédiaire entre 5 et 30 min, a également été choisi. Les conditions testées et les notes de similarité obtenues sont données dans le Tableau 37.

Tableau 37. Moyennes des notes des tests de similarité obtenues avec la fibre DVB/CAR/PDMS lors d'extractions à 40°C sous agitation avec 2 temps d'incubation et d'exposition de la fibre, avec le jus (B2) pris pour référence

Temps de mise à l'équilibre	Temps d'exposition de la fibre	Moyenne notes de similarité (/10)[a]	Ecart-type
15 min	5 min	3,1 a	1,3
5 min	2 min	3,9 a	1,4

[a] Moyenne des notes obtenues avec 6 juges et 3 répétitions. L'échelle est bornée de 0 (proche de la référence) à 10 (éloigné de la référence). Les moyennes obtenues ne sont pas significativement différentes (même lettre) au seuil de 5 %.

Les moyennes des notes obtenues pour les deux conditions testées sur l'échelle de 0 (meilleure note) à 10 (plus mauvaise note) sont 3,1 et 3,9. Nos notes de similarité ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %, comme pour Rega *et al*. (2003b) qui, en utilisant la même échelle, obtenaient des notes comprises entre 5,1 et 5,9. Une meilleure représentativité des extraits était obtenue par le prélèvement à la seringue à gaz de l'espace gazeux du jus d'orange (Rega *et al*., 2003b). Néanmoins, nos notes de similarité sont légèrement meilleures et les conditions de 15 min d'incubation puis 5 min d'exposition de la fibre permettent d'améliorer la représentativité. De plus, 5 juges sur les 6 ont donné une meilleure note de similarité avec ces conditions d'extraction. Par conséquent, les conditions retenues pour la suite de l'étude sont 15 min d'incubation du jus à 40ºC puis 5 min d'exposition de la fibre.

4.1.2 Test de différenciation des jus d'orange par D-GC-O

Différenciation des jus pasteurisés

Chacune des odeurs des jus pasteurisés (A2), (B2) et (C2) est extraite par SPME. L'odeur d'un extrait est comparée à l'odeur du jus de référence (B2) présenté dans un gobelet. Les notes de similarité obtenues sont données dans le Tableau 38, elles ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %. La meilleure note de similarité est 3,5 ; elle est obtenue avec l'extrait du jus (B2), soit le même jus que le gobelet de référence. L'extrait SPME du jus (A2) obtient la moins bonne note de similarité soit 3,8. Cette note est néanmoins peu différente de celle obtenue avec (B2). La note obtenue pour l'extrait provenant du jus (C2) est 3,6 ; elle est donc intermédiaire entre celles de (B2) et (A2). Les notes de (B2) et (C2) sont les plus proches. Ce test ne révèle donc pas de grandes différences d'odeurs entre les jus pasteurisés.

Tableau 38. Moyenne des notes de similarité pour le test de différenciation des jus pasteurisés (A2), (B2) et (C2)

Jus	Teneur en pulpe (% m/m)	Moyenne notes de similarité (/10)[a]	Ecart-type
A2	12 %	3,8 a	1,2
B2	6 %, finisher 1 + centrifuge	3,5 a	1,6
C2	6 %, finisher 2	3,6 a	1,4

[a] Moyenne des notes des 6 juges, 4 répétitions. Les notes ne sont pas significativement différentes (même lettre) au seuil de 5 %.

Différenciation entre un jus frais et le même jus pasteurisé

Les notes de similarité entre un extrait SPME d'un jus frais et un extrait SPME du même jus pasteurisé sont données dans le Tableau 39.

Tableau 39. Notes de similarité pour le test de différenciation des jus frais et pasteurisés

Comparaison avant et après pasteurisation	Teneur en pulpe (% m/m)	Note de similarité (/10)[a]	Ecart-type
A1/A2	12 %	3,3 a	1,7
B1/B2	6 %, finisher 1 + centrifuge	3,0 a	1,0
C1/C2	6 %, finisher 2	2,8 a	1,2

[a] Moyenne des notes des 6 juges, 4 répétitions. Les notes ne sont pas significativement différentes (même lettre) au seuil de 5 %.

Les notes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %. Plus la note est faible et plus les odeurs des extraits des jus avant et après pasteurisation sont proches. La plus grande différence entre les odeurs est obtenue avec les jus (A1) et (A2) à 12 % de pulpe. La meilleure similarité est obtenue avec les jus (C1) et (C2) à 6 % de pulpe. La note de similarité entre (B1) et (B2) est très peu différente des 2 autres notes. Ce second test de différenciation ne révèle pas de grandes différences entre les odeurs des jus frais et des jus pasteurisés. Dans le premier test de différenciation, les extraits des jus (A2) et (B2) ont obtenu la plus grande différence de notes. Dans le second test, la pasteurisation semble avoir le plus modifié le jus à 12 % de pulpe (A1). Par conséquence, les 4 jus choisis pour la suite des séances sont les jus (A1), (A2), (B1) et (B2). Des séances d'Olfactométrie "classique" avec séparation de l'extrait sur une colonne analytique de CPG ont alors été conduites pour confirmer ces résultats.

4.2 Olfactométrie des extraits SPME des jus d'orange

4.2.1 Choix de la méthode

La CPG-O a pour objectif d'apprécier le pouvoir odorant d'un composé volatil, sa contribution au profil sensoriel de l'arôme dépendant de sa concentration mais également de

son seuil de perception. Il existe 4 méthodes développées par CPG-O pour mesurer les informations obtenues pendant les séances de flairage et apprécier la contribution d'une molécule à l'arôme d'un aliment.

La première méthode consiste à évaluer les seuils de perception de chaque composé par dilutions successives de l'extrait pour obtenir l'impact olfactif du composé en effectuant le rapport entre la concentration du composé et son seuil de détection (analyse par dilution). La méthode AEDA (Aromatic Extraction Dilution Analysis) (Ulrich et Grosch, 1987) et la méthode CHARM (Combined Hedonic Response Measurement) (Acree et Barnard, 1994) qui de plus associe un descripteur olfactif, sont les deux méthodes d'analyse par dilution généralement utilisées.

La deuxième méthode est la méthode de l'intensité à posteriori. L'intensité perçue est enregistrée sur une échelle après l'élution du composé (Casimir et Whitfield, 1978). Du fait qu'il existe une grande variabilité entre juges, cette technique est peu utilisée.

La troisième méthode est la méthode temps-intensité qui enregistre l'intensité perçue. Les juges doivent être entraînés pour mesurer la durée du pic, signaler l'intensité maximale du pic et la fin de la perception de l'odeur, sans oublier le descripteur olfactif de l'odeur. C'est la technique OSME (Mc Daniel *et al.*, 1990).

La dernière méthode est la fréquence de détection. Elle consiste à mesurer la contribution du composé odorant par la mesure du nombre de réponses des juges (Linssen *et al.,* 1993). Cette méthode est souvent utilisée car elle ne nécessite pas l'entraînement du jury (Van Ruth et Roozen, 2004) et elle peut s'effectuer avec un nombre restreint de juges, entre 6 et 12 (Pollien *et al*., 1997). Nous avons choisi cette technique qui a déjà montré son intérêt pour le jus d'orange (Rega *et al*., 2003b). Elle doit nous permettre de mettre en évidence les composés odorants et leurs différences de fréquence de détection dans les jus industriels étudiés. Un jury de 7 personnes a été constitué avec des personnes déjà familiarisées au dispositif de SPME-GC-O dont 6 personnes avaient participé aux séances de D-GC-O. Chaque jus a été répété une fois pour chaque juge. La fréquence de détection maximale d'un composé d'arôme est donc de 14.

4.2.2 Résultats des fréquences de détection des composés d'arôme

Les résultats de la méthode de fréquence de détection pour les 4 jus d'orange étudiés sont précisés dans le Tableau 40. Dans ce travail, 17 odeurs ont été perçues dans le port de flairage

et chacune d'elles a été perçue dans au moins 5 des 14 séances réalisées pour chaque jus. Une ACP est réalisée (Figure 54 et Figure 55) avec les fréquences de détection des composés odorants comme variables et avec les différents jus (A1), (A2), (B1) et (B2) comme individus. La fréquence de détection de l'hexanoate d'éthyle ne peut pas être inclue dans l'ACP car elle n'est pas une variable, la valeur est exactement la même dans les 4 jus. Ce composé n'a donc pas été pris en compte dans l'ACP1. Le plan factoriel principal (axes 1 et 2) de l'ACP1 représentent 85 % de la variabilité totale (59 et 26 % pour les axes 1 et 2, respectivement).

Tableau 40. Composés d'arôme odorants dans les analyses de GC-Olfactométrie et fréquences de détection dans les extraits SPME des jus : (A1) 12 % de pulpe et non pasteurisé, (A2) 12 % de pulpe pasteurisé, (B1) 6 % non pasteurisé et (B2) 6% pasteurisé

Composé	IRL[a]	Descripteur olfactif	Fréquence de détection (/14)			
			A1	A2	B1	B2
α-pinène (AP)	1025	pin, résineux, herbacé	5	5	5	7
butanoate d'éthyle (EB)	1044	floral, herbacé	13	14	13	14
hexanal (H)	1085	agrumes, floral	4	5	9	6
β-myrcène (BM)	1173	gaz, plastique	6	8	5	9
limonène (L1)	1205	agrumes, fruité, anisé	12	12	14	14
hexanoate d'éthyle	1245	fruité, agrumes	14	14	14	14
α-terpinolène (AT)	1290	caoutchouteux, chimique	13	11	12	12
octanal (O1)	1297	agrumes	13	14	14	13
(E)-4,8-diméthyl-1,3,7-nonatriène (EDN)	1315	champignon	11	13	10	12
allo-ocimène (AO)	1379	chimique, gaz, fumée	6	7	9	10
nonanal (N)	1402	floral, agrumes	5	9	4	11
octanoate d'éthyle (EO)	1445	floral, agrumes, herbacé	8	9	7	12
acetate d'octyle (OA)	1485	agrumes, anisé, mentholé	9	8	10	10
α-copaène (AC)	1499	soufré, caoutchouteux	9	6	5	6
décanal (D)	1508	floral, agrumes	6	7	6	8
linalol (L2)	1560	floral, orange	12	11	14	11
octanol (O2)	1572	floral, fruité	11	7	10	10
p-menth-1-en-9-yl acétate (PMA)	1834	fruits exotiques	3	8	5	7

[a] Indice de Rétention Linéaire calculé sur la DB-Wax

La distribution des individus est présentée dans la Figure 54. Les deux paires de jus (A1) et (B1), et (A2) et (B2) se répartissent de manière opposé sur l'axe 1, et pour chaque paire, les jus ont pratiquement les même coordonnées sur l'axe 1. L'axe 1 révèle l'opposition entre les jus frais situés sur la partie négative de l'axe et les jus pasteurisés situés sur la partie positive de l'axe.

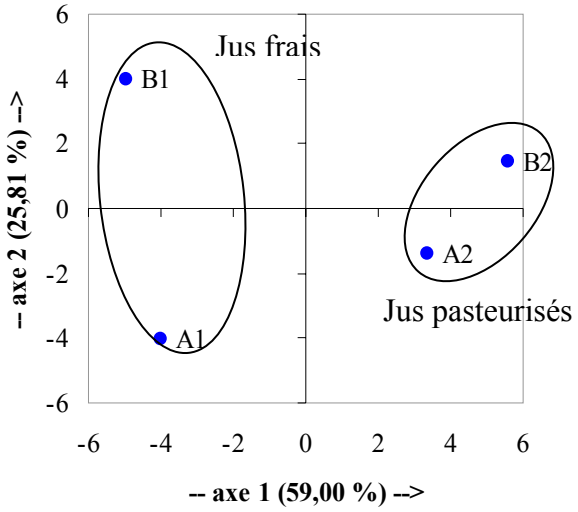


Figure 54. Représentation des individus, les jus (A1), (B1), (A2) et (B2) selon le premier plan factoriel de l'ACP1

En ce qui concerne l'axe 2, il oppose les jus à 12 % de pulpe (A1) et (A2) (partie négative) avec les jus à 6 % de pulpe (B1) et (B2) (côté positif). De plus, il peut être observé que la distance entre les jus (A2) et (B2) est plus petite que la distance entre les jus (A1) et (B1). Cette observation suggère que les différences sensorielles entre les jus sont moins marquées après pasteurisation.

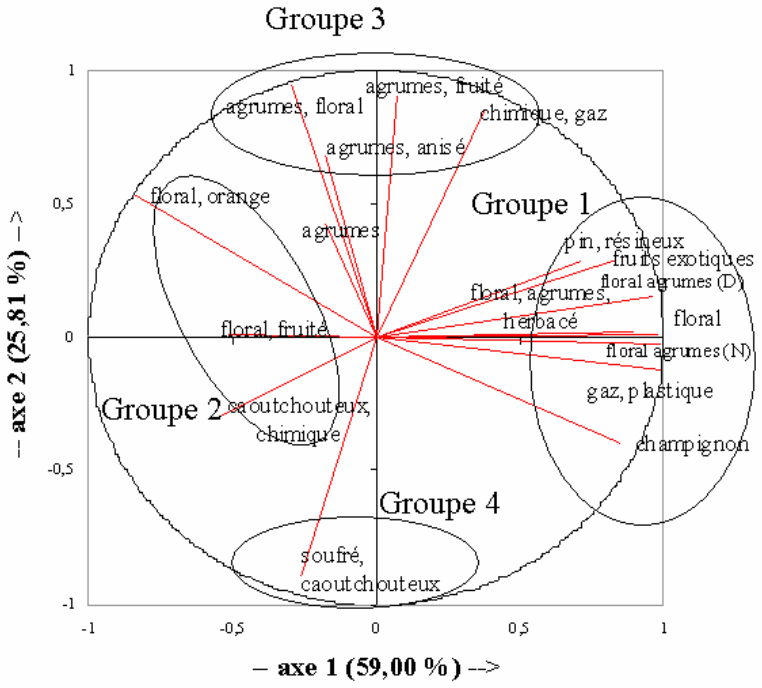


Figure 55. Distribution des variables selon le premier plan factoriel de l'ACP1

La distribution des variables (composés d'arôme odorants) est donnée dans la Figure 55. L'axe 1 est positivement corrélé avec le groupe 1 de variables. Ce groupe contient principalement des descripteurs floral et agrumes, mais aussi 2 descripteurs négatifs : gaz et champignon. Rega *et al*. (2003b) avaient mentionné ce dernier descripteur dans le jus d'orange. Tous les composés d'arôme de ce groupe ont des fréquences de détection plus élevées dans les jus pasteurisés (A2) et (B2) que dans les jus frais (A1) et (B1) (Tableau 40). Les quantités en espace de tête sont reportées dans le Tableau 41. Pour la majorité d'entre eux, plus l'aire du pic correspondant est élevée dans les jus pasteurises et plus la fréquence de détection est grande au niveau du port de flairage. Pour l'acétate de *p*-menth-1en-9-yle (fruits exotiques), l'aire dans l'espace de tête pour le jus (A1) n'était pas significativement différente de celle du jus (A2) (Tableau 41) mais la fréquence de détection dans (A1) est inférieure au seuil considéré (<5) (Tableau 40). Ce composé est le dernier élué de la colonne et donc à être senti par les juges, à la fin d'une séance de 30 min. Les juges étaient probablement moins efficaces et sensibles à la fin de la séance.

Sur l'axe 1, le groupe 1 est opposé au groupe 2 qui contient les descripteurs floral, fruité, orange et caoutchouteux. La fréquence de détection du linalol (floral et orange) diminue après pasteurisation, dans le jus (B2) comparé au jus (B1) tandis que l'aire de ce composé analysé par SPME augmente. Pour l'octanol (floral, fruité), l'évolution des fréquences de détection entre (A2) et (A1) est en accord avec l'évolution des aires SPME (Tableau 41).

La deuxième composante principale (axe 2) oppose quant à elle le groupe 3 qui comprend principalement le descripteur agrumes au groupe 4 qui contient le descripteur soufré, caoutchouteux. Dans le groupe 3, les fréquences de détection sont plus élevées pour (B1) que pour (A1) et pour (B2) que pour (A2). Elles sont donc supérieures dans le jus à 6 % de pulpe, aussi bien avant qu'après la pasteurisation. Pour le limonène, même si les teneurs dans l'espace de tête augmentent dans (B2) comparé à (B1), le maximum de fréquence de détection de 14 est déjà atteint dans (B1) et ne peut pas augmenter dans (B2). C'est une des limites de la méthode olfactométrique utilisant la fréquence de détection, la concentration en limonène est bien plus élevée que le seuil de détection de la molécule si bien que la fréquence de détection est maximale et ne peut pas donner une indication de l'intensité de l'odeur (Van Ruth et O Connor 2001, Priser *et al.,* 1997). La même observation peut être faite pour le butanoate d'éthyle et l'octanal (Tableau 40).

Dans le groupe 4, la fréquence de l'α-copaène (soufré, caoutchouteux), comme l'aire SPME est plus élevée dans le jus (A1).

4.3 Analyse par CPG-SM des extraits SPME

Dans les profils chromatographiques des extraits SPME, 38 composés d'arôme sont identifiés et les aires des pics sont intégrées (Tableau 41).

Tableau 41. Moyennes (n=3) des aires CPG des composés volatils identifiés dans les extraits SPME des jus (A1), (A2), (B1) et (B2)

		12 % de pulpe		6 % de pulpe	
		Frais	Pasteurisé	Frais	Pasteurisé
Composé	IRL*	A1	A2	B1	B2
α-pinène (AP)	1025	101 a	111 a	116 a	150 b
butanoate d'éthyle (EB)	1044	71 a	73 a	89 b	90 b
hexanal (H)	1085	9.2 a	14 b	40 c	15 b
β-pinène (BP)	1100	11 a	11 a	10 a	20 b
sabinène (S)	1125	70 a	n.d.	116 b	n.d
δ-3-carène (D3C)	1153	124 a	151 b	184 c	137 ab
β-myrcène (BM)	1173	1050 a	1270 a	1190 a	1660 b
limonène (L1)	1215	35860 a	41872 b	38354 a	54342 c
β-phellandrène (BP)	1223	170 ab	160 a	179 ab	184 b
hexanoate d'éthyle (EH)	1245	29 a	31 a	40 b	51 c
γ-terpinène (GT)	1254	112 a	178 b	80 c	316 d
(E)-β-ocimène (EBO)	1261	53 a	66 b	53 a	128 c
p-cymène (PC)	1277	43 a	48 a	34 b	53 a
α-terpinolène (AT)	1290	188 a	202 a	160 b	235 c
octanal (O1)	1297	349 a	547 b	522 b	694 c
(*E*)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriène (EDN)	1315	6.2 a	7.4 b	2.0 c	5.1 d
allo-ocimène (AO)	1380	4.4 ab	4.8 a	3.7 b	5.2 a
nonanal (N1)	1402	78 a	95 b	87 b	123 c
octanoate d'éthyle (EO)	1445	38 a	45 b	32 c	52 d
acetate d'octyle (OA)	1485	15 ab	17 a	13 b	30 c
α-copaène (AC)	1499	11 a	9.3 a	5.8 b	8.2 a
décanal (D1)	1508	372 a	423 b	364 a	563 c
linalol (L2)	1560	160 a	142 b	132 b	190 c
octanol (O2)	1572	124 a	29 b	15 c	26 b
β-caryophyllène (BC)	1606	15 a	15 a	11 a	22 b
terpinen-4-ol (T4O)	1616	151 a	152 a	108 b	225 c
β-terpinéol (BT)	1644	0.5 a	13 b	1.1 a	22 c
néral (N2)	1692	15 a	14 a	28 b	15 a
α-terpinéol (AT)	1711	28 a	65 b	24 a	96 c
dodécanal (D2)	1720	16 a	16 a	14 b	22 c
valencène (V)	1731	342 a	322 a	288 a	306 a
α-selinène (AS)	1736	28 a	27 a	33 a	30 a
géranial (G)	1744	16 a	13 a	33 b	14 a
carvone (C)	1748	13 a	13 a	16 b	13 a
perillaldéhyde (P)	1797	4.7 a	5.7 a	7.8 b	8.2 b
nérol (N3)	1815	3.2 a	3.3 a	4.5 a	3.5 a
p-menth-1-en-9-yl acétate (PMA)	1834	3.1 a	3.5 a	1.5 b	1.8 b

Indice de Rétention Linéaire calculé sur la DB-Wax. Les moyennes suivies de différentes lettres dans une même ligne sont significativement différentes ($p<0.05$, test de Tukey).

La Figure 56 représente la distribution des 4 jus selon une ACP2 réalisée avec l'analyse quantitative des 38 composés d'arôme.

Les deux premières composantes principales représentent 83 % de la variabilité totale (respectivement 54 et 29 % pour les axes 1 et 2), ce qui est très similaire à l' ACP1 menée sur les fréquences de détection. L'axe 1 oppose le jus frais (B1) sur la partie gauche avec le jus pasteurisé (B2) sur la partie droite tandis que les jus (A1) et (A2) restent proches. La pasteurisation semble avoir eu plus de répercussion sur la composition de l'espace de tête des jus à 6 % de pulpe que celle des jus à 12 % de pulpe. L'axe 2 oppose quant à lui les jus à 12 % de pulpe (A1) et (A2) dans la partie supérieure aux jus à 6 % de pulpe (B1) et (B2) dans la partie inférieure.

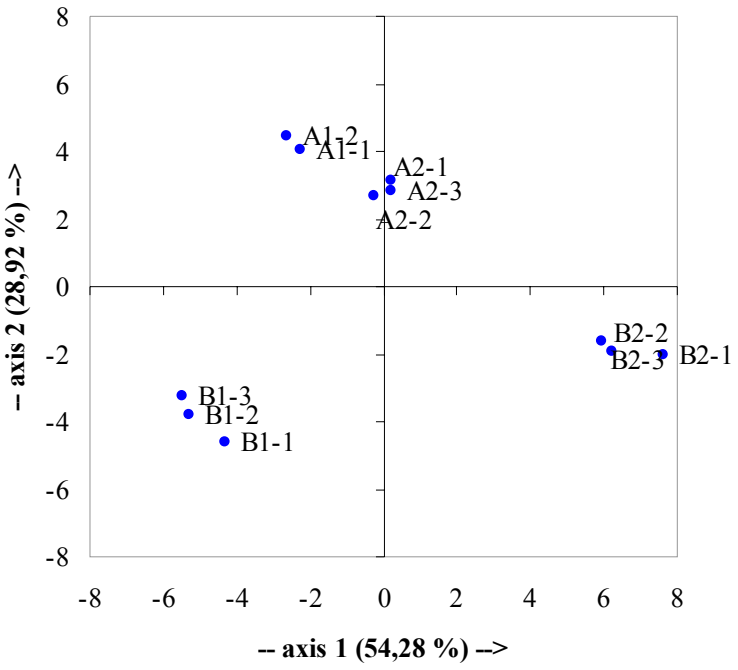


Figure 56. Distribution des jus suivant l'ACP réalisée avec les aires CPG des composés d'arôme présents dans les extraits SPME. Chaque analyse est répétée 3 fois (notée -1, -2 et -3) sauf pour le jus (A1) (2 répétitions, -1 et -2).

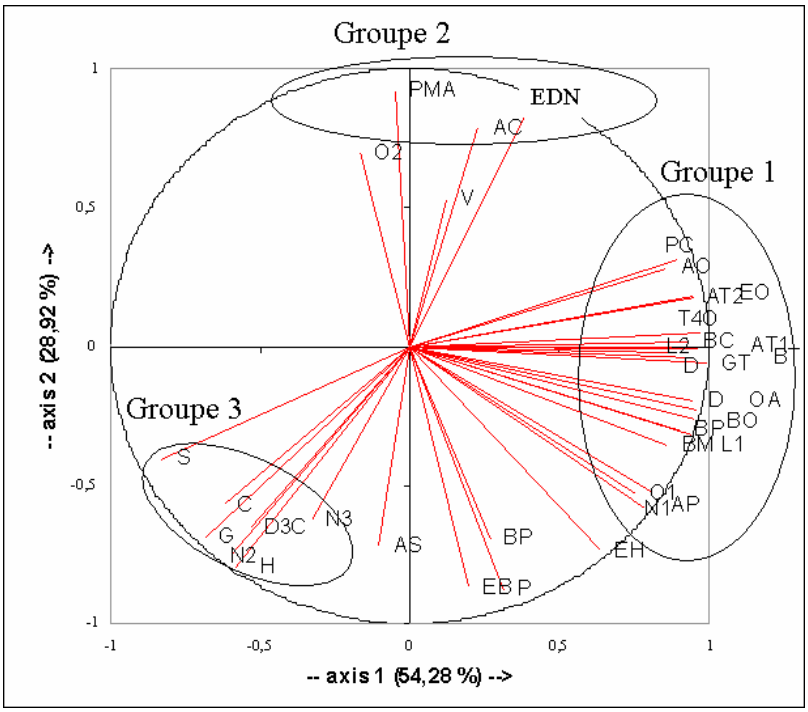


Figure 57. Distribution des composés d'arômes présents dans les extraits SPME des jus par ACP2

La distribution des variables (composés d'arôme) selon les axes 1 et 2 de l'ACP2 est donnée dans la Figure 57. Un nombre important de composés d'arôme est situé dans le groupe 1 sur la partie positive de l'axe 1. Ces composés d'arôme appartiennent à toutes les familles de composés et ils sont présents en plus grande quantité dans l'espace de tête du jus pasteurisé à 6 % de pulpe (B2) que dans celui des autres jus (Tableau 41). Parmi ces composés, le *γ*-terpinène, le *β*-ocimène, le *p*-cymène, l'*α* et le *β*-terpinéol ont des aires supérieures après pasteurisation. Cette augmentation est particulièrement marquée pour l'*α* et le *β*-terpinéol. Les plus fortes augmentations des aires sont obtenues avec le jus à 6 % de pulpe après pasteurisation, avec une aire multipliée par 4 pour l'*α*-terpinéol et une aire multipliée par 20 pour le *β*-terpinéol.

Sur l'axe 2, le groupe 2 contient contient l'acétate de *p*-menth-1en-9-yle (PMA) et le *E*-4,8-diméthyl-1,3,7-nonatriène (EDN) qui ont des aires supérieures dans le jus pasteurisé à 12 % de pulpe (A2). Ces composés sont odorants et étaient déjà caractéristiques des 2 jus pasteurisés dans l'ACP1. Concernant le groupe 3, il contient des composés d'arôme plus abondants dans le jus frais (B1) : l'hexanal (H), le néral (N2), le géranial (G) et le sabinène (S). Ces composés diminuent fortement dans le jus pasteurisé (B2). Le néral et le géranial sont connus pour être sensibles au traitement thermique (Clark and Chamblee, 1992). Rega *et*

al. (2003a) ont également montré que la quantité en espace de tête de l'hexanal diminuait dans un jus pasteurisé. Enfin, Jordan *et al.* (2003) a montré que tous les composés du groupe 3 sont sensibles au traitement thermique et disparaissent significativement du jus après pasteurisation.

Ainsi, l'ACP2 montre que le jus pasteurisé à 6 % de pulpe présente les plus importantes modifications des quantités des composés d'arôme présents dans l'espace de tête. Les composés sensibles à la pasteurisation sont en forte diminution (néral, géranial) et les composés générés par la pasteurisation sont en forte augmentation (α et β-terpinéol). Néanmoins, ces composés ne sont pas odorants, leurs concentrations restent inférieures à leur seuil de détection car ils n'ont pas modifié le profil sensoriel des séances d'olfactométrie (Tableau 40).

4.4 Analyse par CPG-SM des extraits liquide-liquide des composés d'arôme

Le traitement thermique s'accompagne d'une modification de la composition de l'espace de tête observée sur les différents jus. Ceci peut être le reflet d'une évolution des concentrations en composés d'arôme au sein du jus et (ou) le reflet d'une modification des interactions entre composés volatils et pulpe des ces jus. Des extractions liquide-liquide au pentane/éther des composés d'arôme des jus sont effectuées pour comparer la composition des jus frais à celle des jus pasteurisés. Les concentrations obtenues sont présentées dans le Tableau 42.

Pour 11 composés d'arôme sur les 24 étudiés, les évolutions des concentrations des différents échantillons sont cohérentes avec les évolutions observées dans l'espace de tête par SPME. Ces composés sont le sabinène, le δ-3-carène, le γ-terpinène, le β-ocimène, l'octanal, le décanal, le linalol, l'octanol, le terpinen-4-ol, le β-terpinéol et l'α-terpinéol (Figure 58). Par exemple, après pasteurisation, le sabinène disparaît totalement des extraits SPME et les concentrations diminuent de plus de 96 % dans les extraits liquide-liquide. Les quantités dans l'espace de tête de l'α et du β-terpinéol augmentent du même ratio que leurs concentrations dans le jus.

Tableau 42. Moyenne (n=3) des concentrations des composes d'arôme en ppm dans les extraits liquide-liquide des jus (A1), (A2), (B1) et (B2)

	12 % de pulpe		6 % de pulpe	
	Frais	Pasteurisé	Frais	Pasteurisé
Composé*	A1	A2	B1	B2
α-pinène	2,00 a	2,05 ab	2,18 b	1,92 a
butanoate d'éthyle	1,56 ab	1,36 a	1,64 b	1,12 c
hexanal	0,13 a	0,16 a	0,12 a	0,13 a
β-pinène	0,20 a	0,18 a	0,19 a	0,19 a
sabinène	0,78 a	0,02 b	1,64 c	0,07 b
δ-3-carène	15,79 a	15,75 a	16,33 a	14,42 a
β-myrcène	9,68 a	9,52 ab	9,75 ab	9,15 b
limonène + *β*-phellandrène	357 a	336 a	364 a	340 a
hexanoate d'éthyle	0,19 a	0,16 a	0,17 a	0,19 a
γ-terpinène	0,55 a	0,83 b	0,29 c	0,88 b
β-ocimène	0,22 a	0,22 a	0,21 a	0,36 b
p-cymène	0,20 a	0,10 a	0,20 a	0,10 a
α-terpinolène	0,70 a	0,68 a	0,64 a	0,65 a
octanal	1,39 a	1,85 b	1,52 c	1,82 b
(*E*)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriène	n.d.***	n.d.	n.d.	n.d.
allo-ocimène	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
nonanal	0,24 a	0,14 a	0,35 b	0,26 a
octanoate d'éthyle	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
acétate d'octyle	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
décanal + *α*-copaène	1,26 a	1,49 a	1,34 a	1,42 a
linalol	1,74 a	1,50 a	1,48 a	1,62 a
octanol	1,19 a	0,46 b	0,21 c	0,26 c
β-caryophyllène	0,88 a	0,64 b	0,26 c	0,40 c
terpinen-4-ol	2,37 a	2,47 a	1,57 b	3,13 c
β-terpinéol	0,05 a	0,21 b	0,04 a	0,33 c
néral	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
α-terpinéol	0,48 a	1,73 b	0,39 a	2,53 c
dodécanal	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
valencène	8,86 a	8,16 a	8,20 a	7,11 b
a-selinène	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
géranial	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
carvone	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
perillaldéhyde	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
nérol	0,09 a	n.d. b	0,11 a	0,08 a
p-menth-1-en-9-yl acetate	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

* en µg g^{-1}; ** Indice de Rétention Linéaire calculé sur la DB-Wax; *** n.d.= non détecté (seuil de détection 0.05 µg g^{-1}). Les moyennes suivies de lettres différentes dans une même ligne indiquent des différences significatives ($p<0.05$, test de Duncan).

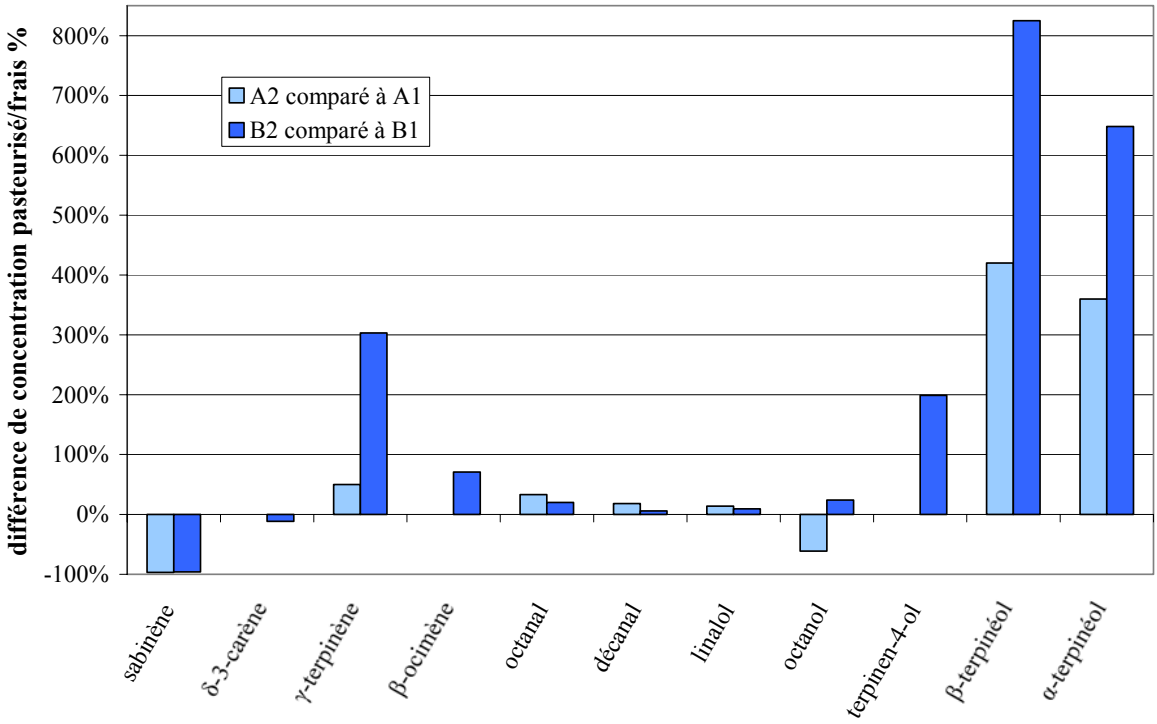


Figure 58. Evolution en pourcentage des concentrations de quelques composés d'arôme dans les extraits liquide-liquide après pasteurisation dans (A2) comparé à (A1) et dans (B2) comparé à (B1).

Exceptés pour ces 11 composés, les concentrations dans le jus des composés d'arôme demeurent relativement stables pendant le traitement thermique alors que les analyses en SPME montrent des évolutions importantes (Tableau 41). Par exemple, après pasteurisation, les concentrations en ppm du limonène dans la matrice des jus diminuent peu, (aux environs de 6 %) alors que sa quantité dans l'espace de tête augmente, respectivement de 17 et 42 % dans les jus (A2) et (B2) comparés aux jus (A1) et (B1) (Tableau 41). Pour le nonanal, les concentrations dans le jus restent stables dans (A2) comparé à (A1) et diminuent de 25 % dans (B2) comparé à (B1) alors que les quantités en espace de tête augmentent respectivement de 22 et 41 %.

Des interactions moléculaires entre les particules insolubles et les composés d'arôme du jus peuvent avoir été modifiées pendant le traitement thermique, ce qui modifierait le relargage des composés vers l'espace de tête et donc les quantités piégées sur la fibre SPME. Pour étudier ces possibles effets, la mesure des coefficients de partage des composés d'arôme entre

la phase liquide (jus) et la phase gazeuse (espace de tête) à l'équilibre est réalisée dans les 4 jus d'orange, par la méthode PRV.

4.5 Coefficients de partage gaz/liquide des composés d'arôme des jus

Les coefficients de partage gaz/liquide de plusieurs composés d'arôme dans les 4 jus sont mesurés pour étudier l'effet du traitement thermique et du taux de pulpe sur le relargage des composés d'arôme. K est défini comme le rapport, à l'équilibre, entre la concentration du composé d'arôme dans la phase gazeuse avec sa concentration dans la phase liquide (jus). La connaissance de l'évolution d'un coefficient de partage permet de savoir si un composé est plus retenu ou au contraire plus facilement relargué du milieu étudié. Par exemple, si K diminue, pour une même concentration dans le liquide, la concentration en phase gazeuse diminue : le composé est donc plus retenu dans la phase liquide.

La détermination des K par la méthode PRV est possible pour des composés suffisamment volatils et dont la concentration dans le milieu n'est pas trop faible La limite inférieure de K applicable à cette méthode est de 5,5 $10^{-3.}$ (Jouquand, 2003) Ainsi, parmi tous les composés d'arôme présents, 7 composés ont pu être étudiés (Figure 59).

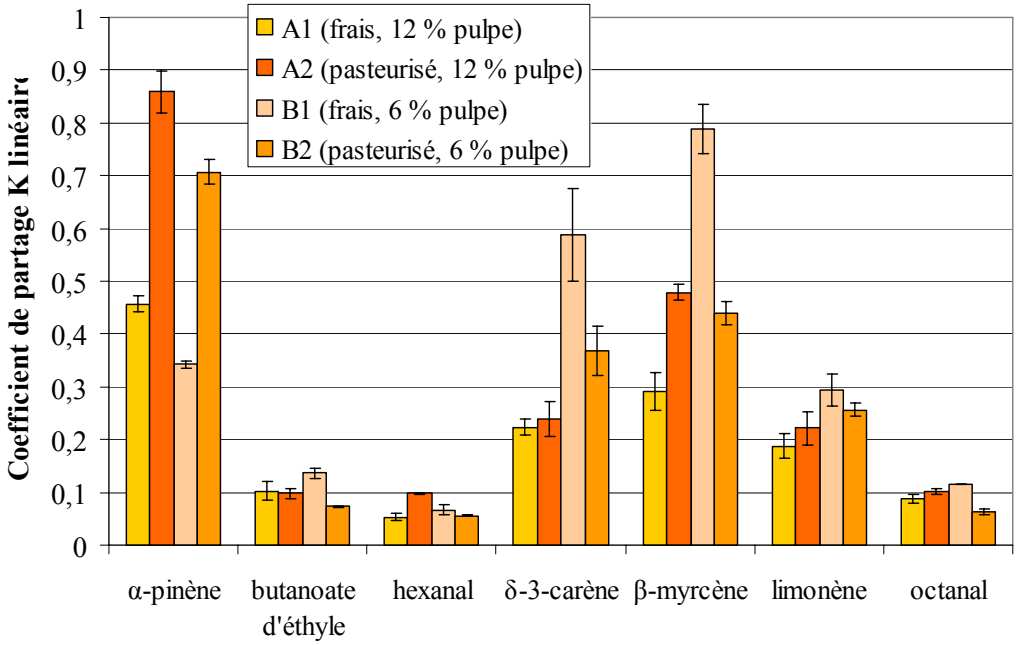


Figure 59. Coefficients de partage (K, mg.L^{-1}) de 7 composés d'arôme par la méthode PRV à 45°C, après 3h d'équilibre, avec un traitement linéaire des données pour les jus (A1), (A2), (B1) et (B2) (n=3)

Tableau 43. Coefficients de partage (K) +/- écart-type (n=3) de plusieurs composés d'arôme par le traitement linéaire mesurés à 45°C après 3h de mise à l'équilibre

Composé	A1 (frais, 12 % pulpe)	A2 (pasteurisé, 12 % pulpe)	B1 (frais, 6 % pulpe)	B2 (pasteurisé, 6 % pulpe)
α-pinène (+/-)	0,457 a (0,014)	0,859 b (0,039)	0,342 c (0,006)	0,706 d (0,023)
butanoate d'éthyle (+/-)	0,103 a (0,018)	0,098 a (0,008)	0,137 b (0,009)	0,073 c (0,002)
hexanal (+/-)	0,053 a 0,007	0,098 b 0,002	0,067 a 0,010	0,056 a 0,001
δ-3-carène +/-	0,223 a 0,015	0,239 a 0,034	0,587 b 0,087	0,368 c 0,046
β-myrcène +/-	0,292 a 0,035	0,479 b 0,014	0,788 c 0,047	0,439 d 0,021
limonène +/-	0,188 a 0,022	0,222 a 0,031	0,294 b 0,029	0,256 ab 0,012
octanal +/-	0,089 a 0,008	0,101 a 0,005	0,115 a 0,002	0,064 b 0,006

Dans les jus frais, la rétention de tous les composés d'arôme, excepté pour l'*α*-pinène, augmente avec le taux de pulpe ($K_{A1}<K_{B1}$). L'augmentation de la rétention observée est significative ($p<0.05$) pour les composés étudiés les plus hydrophobes : *δ*-3-carène, *β*-myrcène et limonène dont les Log *P* respectifs sont 4,38; 4,17 et 4,2. Au contraire, la rétention n'est pas significativement différente pour les composés les moins hydrophobes comme le butanoate d'éthyle, l'hexanal et l'octanal dont les Log *P* respectifs sont 1.7; 1.78 et 2.78. Ainsi, l'augmentation de rétention est plus marquée avec les hydrocarbures monoterpéniques, ce qui est en accord avec les travaux de Radford *et al*. (1974) montrant que les hydrocarbures monoterpéniques sont associés avec la pulpe ce qui a été confirmé par Brat *et al.* (2003) puisque 81 % des hydrocarbures monoterpéniques du jus étaient situés dans la pulpe.

L'effet de la pasteurisation sur les coefficients de partage varie en fonction du taux de pulpe du jus. Dans le jus à 12 % de pulpe, la pasteurisation entraîne peu de modifications sur la rétention des composés d'arôme. Au contraire, pour le jus à 6 % de pulpe, la rétention est plus importante après pasteurisation ($K_{B1}>K_{B2}$), sauf pour l'*α*-pinène. Ainsi, le jus pasteurisé à 6 % de pulpe est le jus qui présenterait le plus de modification des interactions entre arôme et macro constituants. L'existence d'interactions entre les composés d'arôme et les particules insolubles du jus pourrait expliquer cette augmentation de la rétention. Brat *et al*. (2003) ont

montré que 80 % des composés volatils d'un jus d'orange frais pressé à la main étaient situés dans les particules insolubles. Parmi ces 80 %, 90 % étaient dans la pulpe et 10 % dans le trouble. Klavons *et al.* (1991) ont montré que le trouble d'un jus d'orange commercial contenait en moyenne 52,4 % de protéines. Brat *et al*. (2003) ont d'ailleurs confirmé ce pourcentage dans le pur jus. Klavons *et al*. (1991) ont étudié la nature de ces protéines. Parmi la quantité totale de protéines du trouble, 30 % étaient complexées avec des constituants du trouble de faible masse moléculaire. Ces constituants pourraient être des composés d'arôme.
Yen et Song (1998) ont étudié le trouble d'une purée de goyave préparée à différentes températures. Environ 50 % des protéines de cette purée étaient situées dans le trouble, ce qui est proche de la proportion mise en évidence dans le trouble du jus d'orange. La quantité de trouble initiale était de 0,1 % et elle augmentait de façon significative avec l'augmentation des températures du traitement thermique (60 et 88ºC pendant 30s).

Carelli *et al*. (1991) ont étudié l'effet de la température sur le relargage des composés d'arôme dans un jus de pommes. L'augmentation de la température de 25 à 65ºC a provoqué une augmentation des interactions entre les composés d'arôme étudiés (acétate de pentyle, hexanal et hexanol) avec les macromolécules du jus (principalement des molécules de fructose). Par ailleurs, Mizrahi et Berk (1970) ont montré que le traitement thermique provoquait une augmentation de la stabilité du trouble du jus d'orange en augmentant le nombre de fines particules dans le jus. Cette augmentation de la stabilité du trouble peut ainsi provoquer une augmentation de la rétention des composés d'arôme associés aux particules insolubles du trouble. De plus, pendant le traitement thermique, l'effet hydrophobe qui peut contribuer aux interactions entre les composés d'arôme avec les macromolécules (Jouquand, 2003) est renforcé (Tanford, 1980) et entraînerait une plus forte rétention des composés au sein du jus pasteurisé.

Nous avons réalisé des mesures de granulométrie des différents jus étudiés à 12 % de pulpe (A1) et (A2) et à 6 % de pulpe (B1) et (B2) pour évaluer l'impact du traitement thermique sur la répartition des tailles de particule. Le Tableau 44 donne les résultats des pourcentages de particules inférieures à 10 µm et à 100 µm dans les 4 jus étudiés.

Tableau 44. Pourcentage de particules < 10 µm et 100 µm pour les jus à 12 % de pulpe avant (A1) et après (A2) pasteurisation, et dans les jus à 6 % de pulpe avant (B1) et après pasteurisation (B2)

	A1	A2	B1	B2
< 10 µm	2,5	5,8	3,1	24,9
< 100 µm	21,9	21,1	33,5	59

La répartition des tailles de particule de (B1) est fortement affectée par la pasteurisation avec des augmentations de 3 % à 25 % des particules inférieures à 10 µm et de 33 à 59 % des particules inférieures à 100 µm. Au contraire, la distribution de (A1) n'est pas affectée de manière importante et les pourcentages respectifs des particules inférieures à 10 et à 100 µm restent relativement stables. L'augmentation de la quantité de particules de pulpe inférieures à 10 µm dans (B2) pourrait faciliter les interactions entre les constituants de la pulpe et les composés d'arôme et expliquerait l'augmentation de la rétention. Cette observation rejoint celle de Mizrahi et Berk (1970) sur l'augmentation de la stabilité du trouble due à l'augmentation du nombre de fines particules.

Comparaison des quantités en espace de tête (extraits SPME) avec les coefficients de partage

Les quantités en espace de tête de l'*α*-pinène dans les extraits SPME sont similaires dans les jus (A1), (A2) et (B1) et la plus grande quantité est obtenue dans le jus (B2) (Tableau 41). Pour ce même composé, les coefficients de partage sont plus élevés après pasteurisation dans (A2) et dans (B2). L'augmentation de K lors du passage de (B1) à (B2) est donc cohérente avec l'augmentation de la quantité de l'extrait SPME. Par contre, l'augmentation de K de (A1) à (A2) n'est pas expliquée par l'évolution des quantités de l'espace de tête. Pour le *β*-myrcène et le limonène, les évolutions observées dans les extraits SPME sont cohérentes avec l'évolution de K pour le passage de (A1) à (A2) mais pas pour le passage de (B1) à (B2). Par conséquent, seulement quelques évolutions des quantités en espace de tête sont cohérentes avec les évolutions des coefficients de partage. Ces résultats montrent qu'au cours du piégeage l'affinité des composés d'arôme pour cette fibre va perturber la composition de l'espace gazeux et l'extrait obtenu ne représente pas la composition de l'espace gazeux en équilibre avec le jus. De plus certains auteurs ont décrits des effets de compétition entre molécule pour le piégeage sur la fibre, lié à l'intensité relative des composés d'arôme dans

l'espace gazeux (Roberts *et al*., 2000 ; Grote et Pawliszyl, 1997). Ces effets conduisent à l'obtention d'un profil aromatique différent de celui obtenu à l'équilibre pour la détermination des coefficients de partage.

Dans cette partie, nous avons pu constater par la mesure des coefficients de partage gaz/liquide (K) de plusieurs composés d'arôme une meilleure rétention dans le jus frais à 12 % de pulpe comparé au jus frais à 6 % de pulpe. Après la pasteurisation, la différence entre les valeurs de K est moins importante qu'entre les jus frais. Cette tendance est consolidée par les résultats de SPME-GC-Olfactométrie qui montrent moins de différences sensorielles entre les jus pasteurisés qu'entre les jus frais. Néanmoins, des interactions entre les protéines du trouble et les composés d'arôme pourraient être amplifiées par le traitement thermique et provoqueraient une légère augmentation de la rétention de la plupart des composés observés dans le jus à 6 % de pulpe. De plus, la comparaison des valeurs de K et des résultats de SPME montrent les limites de la SPME pour étudier le comportement des composés d'arôme dans la matrice à l'équilibre. Il serait intéressant d'approfondir le rôle joué par les macroconstituants de la pulpe et du trouble et de préciser les effets respectifs des protéines et des lipides sur la rétention.

Conclusion générale et Perspectives

Conclusion générale et perspectives

Le travail mené dans cette thèse s'inscrivait dans le cadre du projet CANAL-ARLE et avait pour objectif une approche globale de la qualité d'un aliment tenant compte de son emballage et de la matrice. L'objectif plus particulier de ce travail a été d'étudier les interactions arômes-matrice-emballage d'un jus d'orange conditionné dans une bouteille de PET dans le but d'améliorer sa qualité pendant le stockage. Plusieurs composants du jus, la vitamine C, les composés d'arôme et la couleur ont été suivis au cours de sa conservation à température ambiante pendant 9 mois. Ces composants ont été choisis car ils contribuent à la qualité nutritionnelle et organoleptique du jus. Les résultats et perspectives portent donc d'une part sur l'emballage, bouteille et bouchon, et d'autre part sur la matrice jus. Le procédé de fabrication a également été pris en compte.

Concernant l'emballage, les matériaux testés étaient un emballage verre fermé d'une capsule métallique et 3 types d'emballage PET noté PET1 (monocouche), PET2 et PET3. Les PET2 et PET3 sont des technologies d'emballage barrière à l'oxygène caractérisées par des perméabilités à l'oxygène dix fois plus faible que le PET1. L'étude de l'évolution de la teneur en vitamine C et de la couleur du jus d'orange du jus à base de concentré a montré que le verre permettait le meilleur maintien de la qualité pendant 9 mois de stockage à température ambiante. Dans les emballages PET, les pertes en vitamine C, la modification de couleur et l'apparition du brunissement sont d'autant plus importantes que la perméabilité à l'oxygène du matériau est élevée. Par conséquent, une voie d'amélioration du jus industriel conservé à température ambiante serait l'usage d'une technologie de PET barrière à l'oxygène pour diminuer les pertes en vitamine C.

Les composés d'arôme sorbés dans les bouteilles de PET1 et PET2 après 5 mois de stockage sont faibles, comprises entre 0,2 et 0,3 % des quantités initiales de limonène et de β-myrcène présentes dans le jus. Aucune sorption n'est constatée avec le PET3. Le PET au contact de la matrice jus d'orange est donc un matériau assez inerte pendant toute la durée de conservation du produit (6 mois). L'étude de la perméation des composés d'arôme au travers de l'emballage global, incluant le bouchon a pû être réalisée grâce à un dispositif (PTI-CPG-SM) permettant de détecter de faibles quantités, grâce à une calibration externe du système. La

perméation se faisait essentiellement au travers du bouchon pendant 2 mois de stockage. Plusieurs bouchons ont pu ainsi être testés, notamment ceux en cours de développement pour l'amélioration de leurs propriétés barrières à l'oxygène. Quantitativement, le bouchon PEHD avec joint et absorbeur d'oxygène et dépôt plasma sur la surface externe permet de limiter de manière très efficace la perméation de l'ensemble des composés d'arôme étudiés par rapport au bouchon PEHD simple (d'un facteur 3 à 10) pendant 4 mois. Néanmoins, le bilan de pertes par sorption et peméation par rapport aux quantités de composés présents dans le jus a montré que les transferts de composés d'arôme avec l'emballage étaient négligeables.
Pour établir un bilan complet des transferts avec l'emballage, la migration des substances présentes dans les bouteilles de PET vers le jus d'orange reste à étudier. En effet, ce transfert peut engendrer une altération des propriétés organoleptiques de l'aliment voire un problème toxicologique. Dans le cadre de la future réglementation qui doit être adoptée en 2006, le « Super-règlement » prévoit d'exiger de la part des conditionneurs la traçabilité de leurs emballages et en particulier des données sur les substances et quantités migrantes dans l'aliment. Les conditionneurs pourraient faire appel aux laboratoires de recherche pour identifier et quantifier ces substances, notamment lors d'améliorations du procédé. En effet, l'inertie de ces améliorations au regard de la réglementation des emballages devra être vérifiée.

Concernant la matrice jus, le suivi du profil aromatique a montré que l'évolution des composés d'arôme était fortement corrélée avec la durée de stockage. En effet, quelque soit l'emballage utilisé, à un temps donné, une diminution de la concentration des aldéhydes, cétones, esters, alcools aliphatiques, alcools monoterpéniques et sesquiterpéniques,était observée avec parallèlement une augmentation de certains composés dits « off-flavors » comme le furfural et le 4-vinylgaïacol. Ainsi, les pertes de composés d'arôme au cours du stockage sont principalement dues à leurs réactivités en condition de pH acide (inférieur à 4). L'évolution de l'arôme est indépendante de la perméabilité à l'oxygène de l'emballage PET. Cependant, l'impact olfactif négatif des composés d'arôme formés par catalyse acide reste à confirmer. Une analyse par SPME-Olfactométrie pourrait être optimisée dans ce sens.
Dans le but de stabiliser le couple jus/arômes au cours du stockage, un travail en amont sur la composition aromatique du jus (reformulation aromatique des fractions ajoutées) a permis d'atteindre une durée de conservation de trois à quatre mois du profil aromatique tout en augmentant significativement la fraîcheur du jus à l'instant de consommation.

La rétention des composés d'arôme dans la matrice jus a été évaluée par la mesure des coefficients de partage gaz/liquide selon la méthode PRV. Dans le jus d'orange, les interactions entre les particules insolubles de la pulpe et du trouble influe sur la rétention des composés d'arôme. La rétention des composés d'arôme est faible dans le sérum et elle augmente lors d'un ajout de pulpe et de trouble. Le pouvoir rétenteur du trouble est plus élevé et pourrait été relié à sa plus forte teneur en lipides. Les interactions entre les protéines ou les lipides avec les composés d'arôme ainsi que la caractérisation physicochimique de ces lipides et protéines ont été peu étudiées dans le jus d'orange. Ces macroconstituants du jus semblent avoir un impact sur la qualité sensorielle, et pourraient aussi s'opposer aux transferts des composés les plus hydrophobes vers l'emballage. Une optimisation de la matrice jus, tenant compte de ces macroconstituants, permettrait d'améliorer la rétention des composés d'arôme et d'éviter ainsi leur transfert vers l'espace de tête de l'emballage et ensuite vers le bouchon.

Concernant le procédé, la production de jus d'orange à des pH d'environ 4, potentiellement réalisable par la désacidification, permettrait de limiter les réactions de catalyse acide mais impose des contraintes en conditions industrielles.

Les travaux réalisés ont mis en évidence certaines étapes clés intervenant dans le maintien de la qualité du jus. Ainsi, le dégazage du jus et de l'espace de tête permet de limiter la voie de dégradation aérobie de la vitamine C. Par contre, le dégazage sous vide entraîne des pertes de composés d'arôme. Il serait intéressant de réaliser une aromatisation post-dégazage chez l'industriel pour protéger la fraction aromatique du jus.

La pasteurisation des jus peut introduire une modification de leur qualité sensorielle que nous avons mis en évidence par une approche sensorielle par SPME couplé à l'Olfactométrie. En effet cette étude a révélé moins de différences sensorielles entre les jus pasteurisés qu'entre les jus frais. Ceci peut s'expliquer d'un point de vue physicochimique, en effet, après la pasteurisation, la différence de rétention des composés d'arôme est moins importante qu'entre les jus frais. L'influence du taux de pulpe sur la rétention des composés d'arôme dans le jus a été montrée sur les jus frais. Quant à la pasteurisation, elle provoquerait une légère augmentation de la rétention de la plupart des composés observés dans le jus au plus faible taux de pulpe. Ceci pourrait s'expliquer par l'amplification des interactions entre les protéines du trouble et les composés d'arôme. Le traitement thermique a également modifié la répartition de taille des particules de ce jus. Ainsi, après pasteurisation, le nombre de particules de petites tailles inférieures à 100 µm a significativement augmenté. Cette

modification pourrait également être à l'origine de l'augmentation de la rétention des composés d'arôme et nécessiterait d'être confirmée et approfondie.
Enfin, l'influence de l'étape de décontamination des matériaux avec une solution d'acide péracétique pourrait être intéressante à étudier du point de vue des modifications physiques et chimiques (apparitions de composés néo-formés) du matériau qu'elle entraîne. L'utilisation de traitements physiques de décontamination des emballages comme la lumière pulsée pourrait aussi contribuer à limiter la consommation importante de produits chimiques et d'eau, utilisée pour les lavages des bouteilles chez l'industriel.

Ainsi, les travaux de thèse ont montré que l'utilisation d'une technologie de PET barrière à l'oxygène permettait une meilleure préservation des teneurs en vitamine C et de la couleur du jus d'orange. Par contre, l'emballage ne permet pas de ralentir ou d'éviter la dégradation organoleptique du produit contrôlée par le pH du milieu. Les deux composantes majeures influant sur la qualité aromatique sont la matrice et le procédé associé. Le travail sur ces deux composantes doit passer par la compréhension des phénomènes physico-chimiques mis en jeu entre les constituants insolubles et les composés d'arôme du jus d'orange.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Acree T.E., Barnard J. (1994). Gas chromatography-olfactometry using CharmAnalysis. In Trends in flavour research. Proceeding of the 7th Weurman Flavour Research Symposium, Amsterdam, Elsevier. 211-220.

Ahmed E.M., Dennison R.A., Shaw P.E. (1978). Effect of selected oil and essence volatile components on flavour quality of pumpount orange juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 26 (2), 368-372.

AIJN, Association of the Industry of Juices and Nectars from fruits and vegetables of the European Union (2005). In Code of practice, 6.1 Reference guide orange, Absolute quality requirements, revised June 2003.

Anandaraman S., Reineccius G.A. (1986). Stability of encapsulated orange peel oil. Food Technology, 40 (11), 88-93.

AOAC Officials Methods of Analysis. (1984). Vitamin C (ascorbic acid) in vitamin preparations and juices : 2,6 dichloroindophenol titrimetric method final action. 43.064 and 43.065.

Arctander S. (1969). Perfume and Flavor Chemicals, Vols. I and II. Arctander S., Ed. Montclair, N.J.

Ayhan Z., Zhang Q.H., Min D.B. (2002). Effects of pulsed electric field processing and storage on the quality and stability of single-strength orange juice. Journal of Food Protection, 65 (10), 1623-1627.

Baiano A., Marchitelli V., Tamagnone P., Del Nobile M.A. (2004). Use of active packaging for increasing ascorbic acid retention in food beverages. Journal of Food Science, 69 (9), E502-E508.

Baker R.A. (1979). Clarifying properties of pectin fractions separated by ester content. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 27 (6), 1387-1389.

Baron A. (2002). Jus de fruits. In Technologies de transformation des fruits. XX Eds Paris: Tec & Doc.

Bazemore R., Goodner K., Rouseff R. (1999). Volatiles from unpasteurized and excessively heated orange juice analyzed with Solid Phase Microextraction and GC-Olfactometry. Journal of Food Science, 64 (5), 800-803.

Bazemore R., Rouseff R., Naim M. (2003). Linalool in orange juice: Origin and thermal stability. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (1), 196-199.

Blocher J.C., Busta F.F. (1983). Bacterial spore resistance to acid. Food Technology, 37 (11), 87-99.

Boersma A., Cangialosi D., Picken S.J. (2003). Mobility and solubility of antioxidants and oxygen in glassy polymers. III. Influence of deformation and orientation on oxygen permeability. Polymer, 44 (8), 2463-2471.

Boutroy N., Pernel Y., Rius J.M., Auger F., von Bardeleben H.J., Cantin J., Abel F., Zeinert A., Casiraghi C., Ferrari A.C., Robertson J. (2006). Hydrogenated amorphous carbon film coating of PET bottles for gas diffusion barriers. Diamond and Related Materials, in press.

Braddock R.J. (1999). Juice processing operations. In Handbook of citrus by-products and processing technology. New York: Wiley. 35-51.

Brat P., Brillouet J.M., Reynes M. (2000). Free volatile components of passion fruit puree obtained by flash vacuum-expansion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48 (12), 6210-6214.

Brat P., Rega B., Alter P., Reynes M., Brillouet J.M. (2003). Distribution of volatile compounds in the pulp, cloud, and serum of freshly squeezed orange juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (11), 3442-3447.

Buckholz L.L. Jr., Daun H. (1978). Instrumental and sensory characteristics of orange oil oxidation. Journal of Food Science, 43 (2), 535-539, 543.

Buettner A., Schieberle P. (2001). Evaluation of aroma differences between hand-squeezed juices from Valencia Late and Navel oranges by quantitation of key odorants and flavor reconstitution experiments. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49 (5), 2387-2394.

Cameron R.G., Niedz R.P., Grohmann K. (1994) Variable heat stability for multiple forms of pectin methylesterase from citrus tissue culture cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42, 903-908.

Carelli A.A., Crapiste G.H., Lozano J.E. (1991). Activity coefficients of aroma compounds in model solutions simulating apple juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39 (9), 1636-1640.

Casimir D.J, Whitfield F.B. (1978). Flavour impact values: a new concept for assigning numerical values for the potency of individual flavour components and their contribution to the overall flavour profile. Report, International Federation of Fruit Juice Producers, Scientific Technical Commission. No. 15, 325-347, 13.

Cayot N., Taisant C., Arvisenet G. (2000). Flavouring ratios and partition coefficients for isoamyl acetate in various starch-based food matrices Sciences des Aliments, 20 (6), 561-574.

Chaintreau A., Grade A., Munoz-Box R. (1995). Determination of partition coefficients and quantitation of headspace volatile compounds. Analytical Chemistry, 67 (18), 3300-3304.

Chandler L. A., Schwartz S. J. (1988). Isomerization and losses of trans-β-carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 36 (1), 129-133.

Charara Z.N., Williams J.W., Schmidt R.H., Marshall M.R. (1992). Orange flavour absorption into various polymeric packaging materials. Journal of Food Science, 57 (4), 963-966.

Chen C.S., Shaw P.E., Parish M.E. (1993). Orange and tangerine juices. In Fruit Juice Processing Technology, Nagy S., Chen C.S., Shaw P.Z., Eds. Aubumdale, Florida, USA: Agscience Inc. 119-124.

Cheng S.Z.D., Wunderlich B. (1988). Thermal analysis of thermoplastic polymers. Thermochimica Acta, 134, 161-166.

Choi M.H., Kim G.H., Lee H.S. (2002). Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (Citrus sinensis) juice during refrigerated storage. Food Research International, 35 (8), 753-759.

Cinar I. (2004). Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage conditions. Lebensmittel Wissenschaft und Technology 37 (3), 363-367.

Clark B.C. Jr., Chamblee T.S. (1992). Acid-catalyzed reactions of citrus oils and other terpene-containing flavors. Off-flavors in Food and Beverages, Charalambous G., Ed. Amsterdam: Elsevier, 229-284.

Clegg K. (1966) Citric acid and the browning of solutions containing ascorbic acid. Journal of the Science of Food and Agriculture, 17, 546-549.

Coghe S., Benoot K., Delvaux F., Vanderhaegen B., Delvaux F.R. (2004). Ferulic acid and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation : indications for feruloyl esterase activity in Sccharomyces cerevisiae, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 602-608.

Conrad K.R., Davidson V.J., Mulholland D.L., Britt I.J., Yada S. (2005). Influence of PET/PEN blend packaging on ascorbic acid and color in juices exposed to fluorescent and UV light. Jouranl of Food Science, 70 (1), E19-E25.

Davies F.S., Albrigo L.G. (1994). Fruit quality, harvesting and postharvest technology. In Citrus. Atherton J., Rees, A., Eds. Crop Production Science in Horticulture. CAB International.

Diaz S., Espinosa S., Brignole E.A. (2005). Citrus peel oil deterpenation with supercritical fluids - Optimal process and solvent cycle design. Journal of Supercritical Fluids, 35 (1), 49-61.

Ducruet V., Fournier N., Saillard P., Feigenbaum A., Guichard E. (2001). Influence of packaging on the aroma stability of strawberry syrup during shelf life. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49 (5), 2290-2297.

Dürr P., Scrobinger U., Waldvogel R. (1981). Aroma quality of orange juice after filling and storage in soft packages and glass bottles. Alimenta, 20, 91-93.

Durning C.J., Russel W.B. (1985). A mathematical model for diffusion with induced crystallization (2). Polymer, 26, 131-140.

Edris A., Bergnstahl B. (2001). Encapsulation of orange oil in a spray dried double emulsion. Nahrung-Food, 45 (2), 133-137.

Elston A., Jianming L., Rouseff R. (2005). Determination of the role of valencene in orange oil as a direct contributor to aroma quality. Flavour and Fragrance Journal, 20 (4), 381-386.

Esteve M.J., Frigola A., Rodrigo C., Rodrigo D. (2005). Effect of storage period under variable conditions on the chemical and physical composition and colour of Spanish refrigerated orange juices. Food and Chemical Toxicology, 43 (9), 1413-1422.

Ettre L.S., Kolb B. (1991). Headspace- gas chromatography: the influence of sample volume on analytical results. Chromatographia, 32 (1/2), 5-12.

Ettre L.S., Welter C. Kolb B. (1993). Determination of gas-liquid partition coefficients by automatic equilibrium headspace-gas chromatography utilizing the phase ratio variation method. Chromatographia, 35(1/2), 73-84.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Unions. (2003). Agrumes, statistiques : agrumes frais et transformés.

Farnworth E.R., Lagacé M., Couture R., Yaylayan V., Stewart B. (2001). Thermal processing, storage conditions, and the composition and physical properties of orange juice. Food Research International, 34 (1), 25-30.

Feigenbaum A., Lebossé R., Ducruet V. (1998). Polypropylene as active packaging material for aroma sorption from model orange juice. In Food Flavors : Formation, Analysis and Packaging Influences. Contis, E.T., Ho C.T., Mussinan C.J., Parliment T.H., Shahidi F., Spanier A.M., Eds. Pays-Bas: Elsevier, 743-751.

Fellers, P.J., Buslig, B.S., Carter, R.D. (1975). Relation of processing, variety and maturity to flavour quality and particle size distribution in Florida orange juices. In Proceedings of the Florida State Horticultural Society, 88, 350-357.

Fellers P.J. (1985). Citrus : sensory quality as related to rootstock, cultivar, maturity and season. In Evaluation of quality of fruits and vegetables. Pattee, HE, Ed. AVI Publishing, Co, 83-128.

Fenaroli G. (1995). Fenaroli's handbook of flavor ingredients, 3rd edn. Boca Raton, Florida: CRC Press.

Fox K. (2000). New technology in citrus processing-reprint of 1991. Fruit Processing, 10, 94-101.

Gancel A.L. (2004). Etude de l'hérédité des composés d'arôme chez des hybrides somatiques d'agrumes. Thèse Chimie organique et analytique : Université de Corse. 193 p.

Gardner P.T., Tamsin A.C., McPhail D.B., Duthie G.G. (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. Food Chemistry, 68, 471-474.

Gil-Izquierdo A., Gil M.I., Ferreres F. (2002). Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (18), 5107-5114.

Gocmen D., Elston A., Williams T. (2005). Identification of medicinal off-flavours generated by Alicyclobacillus species in orange juice using GC-olfactometry and GC-MS. Letters in Applied Microbiology, 40 (3), 172-177.

Grote C., Pawliszyn J. (1997). Solid-phase microextraction for the analysis of human breath, Analytical chemistry, 69 (4), 587-596.

Haleva-Toledo E., Naim M., Zehavi U., Roussef R.L. (1999). Formation of α-terpineol in citrus juices, model and buffer solutions. Food chemistry and toxicology, 64 (5), 838-841.

Hernandez-Munoz P., Catala R., Gavara R. (1999). Effect of sorbed oil on food aroma loss through packaging materials. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (10), 4370-4374.

Hinterholzer A., Schieberle P. (1998). Identification of the most odour-active volatiles in fresh, hand-extracted juice of Valencia late oranges by odour dilution techniques. Flavour and Fragrance Journal, 13 (1), 49-55.

Hodge J.E. (1953). Chemistry of browning reactions in model systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1, 928-943.

Hotchkiss J.H. (1997). Food packaging interactions influencing quality and safety. Food Additives and contaminants, 14 (6/7), 601-607.

Hrebicek S. (2003) Les vitamines dans les boissons aux fruits. In Les vitamines dans les industries agroalimentaires/dir. Claude Bourgeois, Collection Sciences et techniques agroalimentaires, Paris : Tec & Doc. 361-386.

Huelin F.E., Coggiola I.M., Sidhu G.S., Kennett B.H. (1971). The anaerobic decomposition of ascorbic acid in the pH range of foods and in more acid solutions. Journal of the Science of Food and Agriculture, 22 (10), 540-542.

Huet R. (1991) Les huiles essentielles d'agrumes. D-Technologie d'extraction. Fruits, 46, 551-564.

Hutchings J.B. (1994). Food colours and appearance, Blackie Academic and Professional, Chapman et Hall, 259-260.

Imai T., Harte B.R., Giaicin J.R. (1990). Partition distribution of aroma volatiles from orange juice into selected polymeric sealant films. Journal of Food Science, 55 (1), 158-161.

Jennings W., Shibamoto T. (1980). Compounds and their retention indices. Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography. Jennings W., Shibamoto T., Eds. New York: Academic Press. 29-57.

Jia M., Zhang Q.H., Min D.B. (1998). Optimization of solid-phase microextraction analysis for headspace flavor compounds of orange juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (7), 2744-2747.

Jordan M.J., Tillman T.N., Mucci B., Laencina J. (2001). Using HS-SPME to determine the effects of reducing insoluble solids on aromatic composition of orange juice. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 34 (4), 244-250.

Jordan M.J., Goodner K.L., Laencina J. (2003). Deaeration and pasteurization effects on the orange juice aromatic fraction. Food Science and Technology, 36 (4), 391-396.

Jordan M.J., Goodner K.L., Castillo M. (2005). Comparison of two headspace solid phase microextraction fibres for the detection of volatile chemical concentration changes due to industrial processing of orange juice. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85 (6), 1065-1071.

Jouquand C. (2003). Etude des interactions entre composés d'arôme et matrices amylacées à de fortes teneurs en eau. Thèse Sciences Alimentaires : ENSIA, Massy.

Jouquand C., Ducruet V., Giampaoli P. (2004). Partition coefficients of aroma compounds in polysaccharide solutions by the phase ratio variation method. Food Chemistry, 85 (3), 467-474.

Kaanane A., Kane D., Labuza T.P. (1988). Time and temperature effect on stability of Moroccan processed orange juice during storage. Journal of Food Science, 53 (5), 1470-1473.

Kacem B., Cornell J.A., Marshall M.R., Shireman R.B., Matthews R.F. (1987). Nonenzymatic browning in aseptically packaged orange drinks: effect of ascorbic acid, amino acids and oxygen. Journal of Food Science, 52 (6), 1668-1672.

Karel M., Nickerson T.R. (1964). Effects of relative humidity, air and vacuum on browning of dehydrated orange juice. Food Technology, 1964, 1214-1218.

Karmakar B., Vohra R.M., Nandanwar H. (2000). Rapid degradation of ferulic acid via 4-vinylguaiacol and vanillin by a newly isolated strain of Bacillus coagulans. Journal of Biotechnology, 80 (3), 195-202.

Kennedy J.F., Rivera Z.S., Lloyd L.L., Warner F.P., Jumel K. (1990). Studies on non-enzymatic browning in orange juice using a model system based on freshly squeezed orange juice. Journal of the Science of Food and Agriculture, 52 (1), 85-95.

Kennedy J.F., Rivera Z.S., Lloyd L.L., Warner F.P., Jumel K.L. (1992). Ascorbic acid stability in aseptically processed orange juice in TetraBrik cartons and the effect of oxygen. Food Chemistry, 45 (5), 327-331.

Khan M.M., Martell A.E. (1967). Metal ion and metal chelate catalyzed oxidation of ascorbic acid by molecular oxygen. Journal of the American Chemical Society, 89, 4176-4185.

Kimball D.A. Citrus processing quality control and technology; New York: Van Nostrand Reinhold, 73-101.

Kimball D.A. (1999). Citrus processing, a complete guide, second edition. Kimball D.A., Ed. Gaithersburg : An Aspen publication.

Klim M., Nagy S. (1988). An improved method to determine nonenzymatic browning in citrus juices. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 36 (6), 1271-1274.

Klavons J.A., Bennett R.D., Vannier S.H. (1991). Nature of the protein constituent of commercial orange juice cloud. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39 (9), 1545-1548.

Klavons J.A., Bennet R.D., Vannier S.H. (1994). Physical, chemical nature of pectin associated with commercial orange juice cloud. Journal of Food Science, 59 (2), 399-401.

Kondjoyan N., Berdagué J.L. (1996). A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds, Laboratoire Flaveur (Saint Genès Champanelle: INRA Theix), Ed.

Kroh L.W. (1994). Caramelisation in food and beverages. Food Chemistry, 51 (4), 373-379.

Kutty V., Braddock R.J., Sadler G.D. (1994). Oxidation of d-limonene in presence of low density polyethylene. Journal of Food Science, 59 (2), 402-405.

Landois-Garza J., Hotchkiss J.H. (1987). Plastic packaging can cause aroma sorption. Food Engineering, 59 (4), 39-42.

Landy P., Nicklaus S., Sémon E., Mielle P., Guichard E. (2004). Representativeness of extracts of offset paper packaging and analysis of the main odor-active compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (8), 2326-2334.

Lange J, Wyser Y. (2003). Recent innovations in barrier technologies for plastic packaging - a review. Packaging Technology and Science, 16 (4), 149-158.

Lebossé R., Ducruet V., Feigenbaum A. (1997). Interactions between reactive aroma compounds from model citrus juice with polypropylene packaging film. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45 (8), 2836-2842.

Lecanu L., Ducruet V., Jouquand C, Gratadoux J-J., Feigenbaum A. (2002). Optimization of headspace solid-phase microextraction (SPME) for the odor analysis of surface-ripened cheese. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (13), 3810-3817.

Lee H.S., Chen C.S. (1998). Rates of vitamin C loss and discoloration in clear orange juice concentrate during storage at temperatures of 4-24ºC. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (11), 4723-4727.

Lee H.S., Nagy S. (1988). Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. Food Technology, 42 (11), 91-97.

Lee H.S., Nagy, S. (1990). Formation of 4-vinylguaiacol in adversely stored orange juice as measured by an improved HPLC method. Journal of Food Science, 55 (1), 162-166.

Lee J.Y., Lin Y.S., Chang H.M, Chen W., Wu M.C. (2003). Temperature-time relationships for thermal inactivation of pectinesterases in orange juice. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83 (7), 681-684.

Leffingwell. (2005). Odor & Flavor Detection Thresholds in Water (In Parts per Billion) [http://www.leffingwell.com/odorthre.htm].

Leizerson S., Shimoni E. (2005) Stability and sensory shelf life of orange juice pasteurized by continuous ohmic heating. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (10), 4012-4018.

Leufven A., Johansson F., Hermasson C. (1994). The effect of interactions with food on the sorption of aroma compounds into food contact polymers. In Trends in flavour research. Maarse H., Von der Heij D.G., Eds., Amsterdam : Elsevier Science BV, 431-434.

Li Z., Alli I, Kermasha S. (1989). Use of acidification, low temperature, and sorbates for storage of orange juice. Journal of Food Science, 54 (3), 674-678.

Linssen J.P.H, Janssens J.L.G.M., Roozen J.P., Posthumus M.A. (1993). Combined gas-chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in laminated packages. Food Chemistry, 46 (4), 367-371.

Manso M.C., Oliveira F.A.R., Oliveira J.C., Frías J.M. (2001). Modelling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. International Journal of Food Science and Technology, 36 (3), 303-312.

Mannheim C.H., Miltz J., Letzter A. (1987). Interaction between polyethylene laminated cartons and aseptically packed citrus juices. Journal of Food Science, 52, 737-740.

Marcotte M., Stewart B., Fustier P. (1998). Abused thermal treatment impact on degradation products of chilled pasteurized orange juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (5), 1991-1996.

MacDaniel M.R., Miranda-Lopez B.T., Watson B.T., Libbey L.M. (1990). “Pinot noir aroma : a sensory/gas chromatographic approach.” Developments in Food Science, 28, 23-36.

Meydav S., Saguy I., Kopelman I.J. (1977). Browning determination in citrus products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 25 (3), 602-604.

Michaels A.S., Brixter H. (1961). Solubility of gases in polyethylene. Journal of Polymer Science, 50, 393-412.

Min S., Jin Z.T., Min S.K., Yeom H., Zhang Q.H. (2003). Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. Journal of Food Science, 68 (4), 1265-1271.

Mitiku S.B., Sawamura M., Itoh T., Ukeda H. (2000). Volatile components of peel cold-pressed oils of two cultivars of sweet orange (Citrus Sinensis (L.) Osbeck) from Ethiopia. Flavour and Fragrance Journal, 15 (4), 240-244.

Mizrahi S., Berk Z. (1970). Physico-chemical characteristics of orange juice cloud. Journal of the Science of Food and Agriculture, 21 (5), 251-53.

Moshonas M.G., Shaw P.E. (1989). Changes in composition of volatile components in aseptically packaged orange juice during storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 37 (1), 157-161.

Moshonas M.G., Shaw P.E. (1994). Quantitative determination of 46 volatile constituents in fresh, unpasteurized orange juices using Dynamic Headspace Gas Chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42 (7), 1525-1528.

Moshonas M.G., Shaw P.E. (1997). Flavor and chemical comparison of pasteurized and fresh Valencia orange juices. Journal of Food Quality, 20 (1), 31-40.

Moshonas M.G., Shaw P.E. (2000). Changes in volatile flavor constituents in pasteurized orange juice during storage. Journal of Food Quality, 23 (1), 61-71.

Mottar J. (1989). The usefulness of polypropylene for the aseptic packaging of orange juices. Zeitschrift fuer Lebensmittel -Untersuchung und -Forschung, 189 (2), 119-122.

Mouly P.P., Gaydou E.M., Lapierre L., Corsetti J. (1999). Differenciation of several geographical origins in single-strenght valencia orange juices using quantitative comparison of carotenoid profiles. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (10), 4038-4045.

Murukami M., Tedzuka H., Yamazaki K. (1998). Thermal resistance of Alicyclobacillus acidoterrestris spores in different buffers and pH. Food Microbiology, 15, 577-582.

Nagy S., Dinsmore H.L. (1974). Relationship of furfural to temperature abuse of flavor changes in commercially canned single-strength orange juice. Journal of Food Science, 39 (6), 1116-1119.

Nagy S. (1980). Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28 (1), 8-18.

Nagy S., Rouseff R.L., Lee H.S. (1989). Thermally degraded flavors in citrus juice products. In Thermal generation of aromas. ACS Symposium. Series 409. 0097-6156 ACS Symposium Series. 409, 331-345.

Nahon D.F., Harrison M., Roozen J.P. (2000). Modeling flavor release from aqueous sucrose solutions, using mass transfer and partition coefficients. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48 (4), 1278-1284.

Naim M., Striem B.J., Kanner J., Peleg H. (1988). Potential of ferulic acid as a precursor to off-flavors in stored orange juice. Journal of Food Science. 53 (2), 500-503.

Naim M., Schutz O., Zehavi U., Rouseff R.L., Haleva-Toledo E. (1997). Effects of orange juice fortification with thiols on p-vinylguaiacol formation, ascorbic-acid degradation, browning, and acceptance during pasteurization and storage under moderate conditions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45 (5), 1861-1867.

Naylor T. (1989). Permeation properties in comprehensive polymer science, Allen G., Bevington J.C., Eds. Oxford : Pergamon, 2, 643-668.

Nielsen T.J., Jägerstad I.M., Öste R.E., Wesslén B.O. (1992). Comparative absorption of low molecular aroma compounds into commonly used food packaging polymer films. Journal of Food Science, 57 (2), 491-492.

Nisperos-Carriedo M.O., Shaw P.E., Baldwin E.A. (1990). Changes in volatile flavor components of pineapple orange juice as influenced by the application of lipid and composite films. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38 (6), 1382-1387.

Palmieri L., Cacace D. (2005). High intensity pulsed light technology. In Emerging technologies for food processing. Sun D.W, Ed. Food science and technology international series. Oxford: Elsevier. 279-306.

Parish M.E. (1998). Orange juice quality after treatment by thermal pasteurization or isostatic high pressure. Journal of Food Science and Technology, Lebensmittel Wissenchaft und Technologie, 31 (5), 439-442.

Park G.L., Byers J.L., Pritz C.M., Nelson D.B., Navarro J.L., Smolensky D.C., Vandercook C.E. (1983). Characteristics of California navel orange juice and pulpwash. Journal of Food Science, 48 (2), 627-632, 651.

Peleg H., Naim M., Zehavi U., Roussef R.L., Nagy S. (1992). Pathways of 4-vinylguaiacol formation from ferulic acid in model solutions of orange juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40 (5), 764-767.

Pettipher G.L., Osmundson M.E., Murphy J.M. (1997). Methods for the detection and enumeration of Alicyclobacillus acidoterrestris and investigation of growth and production of taint in fruit juice and fruit-juice containing drinks. Letters in Applied Microbiology, 24, 185-189.

Pieper G., Borgudd L., Ackermann P., Fellers P. (1992). Absorption of aroma volatiles of orange juice into laminated carton packages did not affect sensory quality. Journal of Food Science, 57, 1408-1411.

Plotto A., Margaria C.A., Goodner K.L., Goodrich R., Baldwin E.A. (2004). Odour and flavour thresholds for key aroma components in an orange juice matrix: terpenes and aldehydes. Flavour and Fragrance Journal, 19 (6), 491-498.

Pollien P., Ott A., Montigon F., Baumgartner M., Munoz-Box R., Chaintreau A. (1997). Hyphenated headspace-gas chromatography-sniffing technique: screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45 (11), 2630-2637.

Polydera AC, Stoforos NG, Taoukis PS. (2003). Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice, Journal of Food Engineering, 60 (1), 21-29.

Priser C., Etievant P.X., Nicklaus S., Brun O. (1997). Representative champagne wine extracts for gas chromatography olfactometry analysis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45 (9), 3511-3514.

Radford T., Kawashima K., Friedel P.K., Pope L.E., Gianturco M.A. (1974). Distribution of volatile compounds between the pulp and the serum of some fruit juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 22 (6), 1066-1070.

Rassis D., Saguy I.S. (1995). Kinetics of aseptic concentrated orange juice quality changes during commercial processing and storage. International Journal of Food Science and Technology, 30 (2), 191-198.

Rega B., Fournier N., Brat P., Guichard E. (2003a). Sensory evaluation of headspace extracts by direct GC-Olfactometry: application to fresh orange juice. In Flavour Research at the Dawn of the Twenty-first Century. Le Quéré J.L, Etievant P.X., Eds. Paris : Lavoisier. 706-709.

Rega B., Fournier N., Guichard E. (2003b). Solid-phase microextraction (SPME) of orange juice flavor: odor representativeness by direct gas chromatography (D-GC-O). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (24), 7092-7099.

Rega B., Fournier N., Guichard E. (2004a) Suspended solids influence flavor profile in processed orange juice. In State of the art in flavour chemistry and biology - the 7th Wartburg Symposium (21-22 avril, Eisenach, Germany). Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie. 412-415.

Rega B., Fournier N., Nicklaus S., Guichard E. (2004b). Role of pulp in flavor release and sensory perception in orange juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (13), 4204-4212.

Rice R.G., Keller G.J., Beavens E.A. (1952). Flavor fortification of California frozen orange concentrate. Food Technology, 6, 35-39.

Richard H. (1992). Les arômes alimentaires. Coodonnateurs Richard H., Multon J.L. Paris: Tec & Doc.

Roberts D.D., Pollien P., Milo C. (2000). Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. Journal of Agricultural and Food chemistry, 48 (6), 2430-2437.

Rodriguez M., Sadler G.D., Sims C.A., Braddock R.J. (1991). Chemical changes during storage of an alcoholic orange juice beverage. Journal of Food Science, 56 (2), 475-479, 493.

Roig M.G., Bello J.F., Rivera Z.S., Kennedy J.F. (1999). Studies on the occurrence of non-enzymatic brownig during storage of citrus juice. Food Research International, 32 (9), 609-619.

Rouseff R., Naim M. (2000). Citrus Flavor Stability. In Flavor chemistry: industrial and academic research. Risch S.J., Ho C.T., Eds. Washington, USA : American Chemical Society, 101-121.

Sadafian A., Crouzet J. (1987). Infinite dilution activity coefficient and relative volatilities of some aroma compounds. Flavour and Fragrance Journal, 2, 103-107.

Sadler G.D., Braddock R.J. (1990). Oxygen permeability of low density polyethylene as a function of limonene absorption: an approach to modelling flavor scalping. Journal of Food Science, 55 (2), 587-588.

Sadler G., Parish M., van Clief D., Davis J. (1997). The effect of volatile absorption by packaging polymers on flavour, microorganisms and ascorbic acid in reconstituted orange juice. Lebensmittel –Wissenchaft und-technologie-Food Science and Technology, 30, 686-690.

Sanchez-Moreno C., Plaza L., de Ancos B., Cano P. (2003). Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83 (5), 430-439.

Saporta G. (1990). Probabilités, analyse des données et statistique, Paris : Editions Technip, 493 pages.

Sattar A., Durrani M.J., Khan R.N., Hussain B.H. (1989). Effect of packaging materials and fluorescent light on HTST-pasteurized orange drink. Zeitschrift fuer Lebensmittel - Untersuchung und -Forschung, 188 (5), 430-433.

Saunt J. (1990). Citrus varieties of the world : an illustrated guide. Saunt J., Ed. Sinclair International.

Shaw P.E. (1991). Fruits II. In Volatile compounds in foods and beverages. Maarse H., Ed. New York : Marcel Dekker Inc. 305-327.

Shaw P.E., Nagy S. (1993). Orange and tangerine juices. In Fruit juice processing and technology. Nagy S., Chen C.S., Shaw P.E., Eds. Agscience. 155-156.

Shimoda M., Nitanda T., Kadota N., Otha H., Suetsuna K., Osajima Y. (1984). Adsorption of Satsuma mandarin juice aroma on plastic films. Nipon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 31 (11), 697-703.

Shinoda Y., Murata M., Homma S., Komura H. (2004). Browning and model products of model orange juice. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 68 (3), 529-536.

Shinoda Y., Komura H., Homma S., Murata M. (2005). Browning of model orange juice solution: factors affecting the formation of decomposition products. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 69(11), 2129-2137.

Siegmund B, Derler K, Pfannhauser W. (2004). Chemical and sensory effects of glass and laminated carton packages on fruit juice products - Still a controversial topic Lebensmittel – Wissenchaft und-technologie-Food Science and Technology, 37 (4), 481-488.

Silva F.M., Gibbs P., Vieira M.C. (1999). Thermal inactivation of Alicyclobacillus acidoterrestris spores under different temperature, soluble solids and pH conditions for the design of fruit processes International Journal of Food Microbiology, 51 (2-3), 95-103.

Sizer C.E., Waugh P.L., Edstam S., Ackermann P. (1988). Maintaining flavor quality of aseptic orange juice. Food Technology, 42 (6), 152-159.

Snir R., Koehler P.E., Sims K.A., Wicker L. (1996). Total and thermostable pectinesterases in citrus juices, Journal of Food Science, 61 (2), 379-382.

Soares, N.F.F., Hotchkiss J.H. (1999). Comparative effects of de-aeration and package permeability on ascorbic acid loss in refrigerated orange juice. Packaging Technology and Science, 12 (3), 111-118.

Solomon O., Svanberg U., Sahlström A. (1995) Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8°C. Food Chemistry, 53 (4), 363-368.

Steffen A., Pawliszyn J. (1996). Analysis of flavour volatiles using headspace solid-phase microextraction. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44 (8), 2187-2193.

Sutherland J.B., Tanner L., Moore J.D., Freeman J.P., Deck J., Williams A.J. (1995). Conversion of ferulic acid to 4-vinylguaiacol by yeasts isolated from frozen concentrated orange juice. Journal of Food Protection, 58 (11), 1260-1262.

Tanford, C. (1980). The hydrophobic effect (second edition). New York: Wiley.

Tatum J.H., Nagy S., Berry R.E. (1975). Degradation products formed in canned single-strength orange juice during storage. Journal of Food Science, 40 (4), 707-709.

Tawfik M.S., Huyghebaert A. (1998). Effect of storage temperature, time, dissolved oxygen and packaging materials on the quality of aseptically filled orange juice. Acta Alimentaria, 27, 231-244.

Tigani M.A., Paik J.S. (1993). Use of dielectric constants in the prediction of 'flavour scalping'. Packaging Technology and Science, 6, 203-209.

Tonder D., Petersen A., Poll L., Olsen C. (1998). Discrimination between freshly-made and stored reconstituted orange juice using GC odour profiling and aroma values. Food Chemistry, 61, 223-229.

Topuz A., Topakci M., Canakci M. (2005). Physical and nutritional properties of four orange varieties. Journal of Food Engineering, 66 (4), 519-523.

Trystram G., Duquenoy A., Bimbenet JJ. (2002) Génie des procédés alimentaires : des bases aux applications, Dunod, Collection Hors Collection, 576 pages.

Ulrich F., Grosch W. (1987). Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autooxidation of linoleic acid. Zeischrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung, 184, 277-282.

Van Lune F.S., Nijssen L.M., Linssen P.H. (1997). Absorption of methanol and toluene by polyester-based bottles. Packaging Technology and Science, 10, 221-227.

Van Ruth S.M., O'Connor, C.H. (2001). Evaluation of three gas chromatography-olfactometry methods: comparison of odour intensity-concentration relationships of eight volatile compounds with sensory headspace data. Food Chemistry, 74 (3), 341-347.

Van Ruth S.M., Roozen J.P. (2004). Gas chromatography-olfactometry analysis and its importance in food quality control - Influence of assessors' training and sampling methods on gas chromatography-olfactometry data. Advances in Experimental medicine and biology, 542, 155-165.

Van Willige R.W.G., Linssen J.P.H., Voragen A.G.J. (2000a). Influence of food matrix on absorption of flavour compounds by linear low-density polyethylene: proteins and carbohydrates. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80 (12), 1779-1789.

Van Willige R.W.G., Linssen J.P.H., Voragen A.G.J. (2000b). Influence of food matrix on absorption of flavour compounds by linear low-density polyethylene: oil and real food products. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80 (12), 1790-1797.

Van Willige R.W.G., Schoolmeester D., Van Ooij A., Linssen J.P.H., Voragen A.G.J. (2001). Influence of storage and temperature on absorption of favor compounds from solutions by plastic packaging materials. Journal of Food Science, 67, 2023-2031.

Van Willige R.W.G., Linssen J.P.H., Meinders M.B.J., Van der Stege H.J., Voragen, A.G.J. (2002). Influence of flavour absorption on oxygen permeation through LDPE, PP, PC and PET plastics food packaging. Food additives and contaminants, 19 (3), 303-313.

Van Willige R.W.G., Linssen J.P.H., Legger-Huisman A., Voragen, A.G.J. (2003) Influence of flavour absorption by food-packaging materials (low-density polyethylene, polycarbonate and polyethylene terephtalate) on taste perception of a model solution and orange juice. Food additives and contaminants, 20 (1), 84-91.

Vera E., Ruales J., Dornier M., Sandeaux J., Persin F., Pourcelly G., Vaillant F., Reynes M. (2003). Comparison of different methods for deacidification of clarified passion fruit juice, Journal of Food Engineering, 59 (4), 361-367.

Yen G.C., Song T.Y. (1998). Characteristics of clouding substances in guava puree. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (9), 3435-3439.

Yuan J.P., Chen F. (1998). Degradation of ascorbic acid in aqueous solution. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (12), 5078-5082.

Zerdin K., Rooney M.L., Vermue J. (2003). The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. Food Chemistry, 82 (3), 387-395.

Zierler B., Siegmund B., Pfannhauser W. (2004). Determination of off-flavour compounds in apple juice caused by microorganisms using headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. Analytica Chimica Acta, 520 (1-2), 3-11.

Annexe 1

Annexe 2

Composition légale d'un jus d'orange selon la Norme française V76-005 de 1995

famille	composé	limite
sucres	glucose	20 à 50 $g.l^{-1}$
	fructose	20 à 50 $g.l^{-1}$
	saccharose	10 à 50 $g.l^{-1}$
alcools	éthanol	< à 3 $g.l^{-1}$
acides	acide citrique	6,3 à 17 $g.l^{-1}$
	acide L-malique	0,8 à 3,0 $g.l^{-1}$
	acide lactique	< à 0,5 $g.l^{-1}$
	acide acétique	< à 0,4 $g.l^{-1}$
	acide L-ascorbique	> à 0,2 $g.l^{-1}$
	acide d-isocritique	0,065 à 0,2 $g.l^{-1}$
sels minéraux	potassium	1300 à 2500 $mg.l^{-1}$
	phosphore	115 à 210 $mg.l^{-1}$
	magnésium	70 à 160 $mg.l^{-1}$
	calcium	60 à 150 $mg.l^{-1}$
	sodium	< à 30 $mg.l^{-1}$
	sulfate	< à 150 $mg.l^{-1}$
	nitrate	< à 10 $mg.l^{-1}$
oligo-éléments	cuivre	< à 5,0 $mg.l^{-1}$
	zinc	< à 5,0 $mg.l^{-1}$
	fer	< à 5,0 $mg.l^{-1}$
	étain	< à 1,0 $mg.l^{-1}$
	plomb	< à 0,2 $mg.l^{-1}$
	arsenic	< à 0,1 $mg.l^{-1}$
	cadnium	< à 0,02 $mg.l^{-1}$
	mercure	< à 0,01 $mg.l^{-1}$
pectines	pectines totales	< à 700 $mg.l^{-1}$
	pectines solubles dans l'eau	< à 500 $mg.l^{-1}$
acides aminés		1,8 à 5,7 $g.l^{-1}$
pigments	hespéridine	250 à 700 $mg.l^{-1}$
	caroténoïdes	215 $mg.l^{-1}$
composés aromatiques	d-limonène	< à 0,3 $ml.l^{-1}$
	5-hydroxyméthylfurfural	< à 20 $mg.l^{-1}$
divers	ethanolamine	< à 37 $mg.l^{-1}$
	ammoniaque	< à 25 $mg.l^{-1}$
	dioxyde de soufre	< à 10 $mg.l^{-1}$