



# Application du procédé de flash-détente(P) sous vide aux fruits tropicaux et méditerranéens pour la préparation de purées et huiles essentielles

Pierre Brat

## ► To cite this version:

Pierre Brat. Application du procédé de flash-détente(P) sous vide aux fruits tropicaux et méditerranéens pour la préparation de purées et huiles essentielles. Planète et Univers [physics]. Université de la Réunion, 2001. Français. NNT : . tel-00490684

**HAL Id: tel-00490684**

**<https://theses.hal.science/tel-00490684>**

Submitted on 9 Jun 2010

**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.

Uniel  
TH  
145

**UNIVERSITE DE LA REUNION**  
**Faculté de Sciences et de Technologies**

**THESE**

présentée devant l'Université de la Réunion  
pour obtenir le diplôme de DOCTORAT

Ecole Doctorale Interdisciplinaire  
Spécialité : Sciences Alimentaires

**APPLICATION DU PROCEDE DE FLASH-DETENTE® SOUS VIDE**  
**AUX FRUITS TROPICAUX ET MEDITERRANEENS POUR LA**  
**PREPARATION DE PUREES ET HUILES ESSENTIELLES**

par

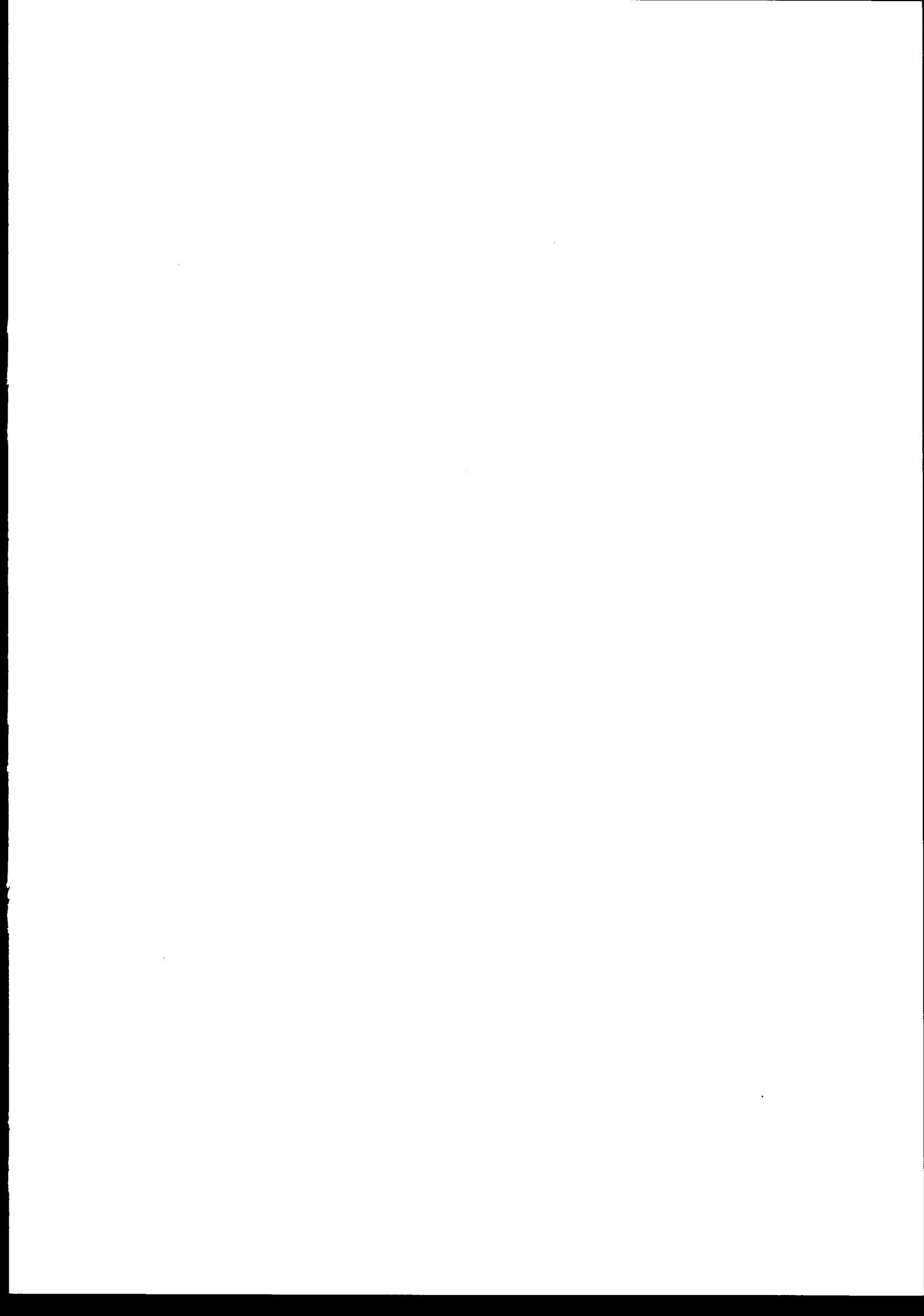
**Pierre BRAT**

soutenue le 4 Décembre 2001, devant le jury composé de :

LINDEN G.  
MARION C.  
MOUTOUNET M.  
BRILLOUET J.-M.  
PIERIBATTESTI J.C.  
REYNES M.

Professeur Université Nancy I  
Professeur Université Paris VI  
Directeur de Recherche INRA  
Directeur de Recherche INRA  
Professeur Université Ile de la Réunion  
Chargé de Mission CIRAD

Président du jury  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Examineur



*A Laurence pour m'avoir soutenu, encouragé et entouré pendant cette période inoubliable,  
alors un grand merci,*

*A Marie-France et Hugues, pour m'avoir soutenu et motivé depuis toujours,*

*A Alain, on a mis longtemps à se comprendre mais je crois qu'on est sur la bonne voie,*

*A Françoise et Marc, dites moi, si on pérennisait les week-ends qui finissent le lundi,*

*A Didier, cette thèse et ces trois années de bonheur, je te les dois et tu le sais, alors merci  
c'est même pas assez,*

*A Jean-Marc, j'ai non seulement trouvé en toi un encadrant de haut niveau mais j'ai aussi  
gagné un ami,*

*A Max, l'Aveyronnais au grand cœur,*

*A Anne-Laure et Pascaline, j'ai un seul regret, deux amies comme ça, je pourrai plus en  
trouver,*

*A l'équipe nationale de La Cigale, Nancy, Marie, Ronchon (dé La Paz), Nico, Lolo,  
Guivarch, Fabienne, Virginie, Hervé, Momo, Jean-Claude, Vévé, Richie, Mimi qui nous  
manque ...et son entraîneur Jean-Yves,*

*A mes clermontois préférés, Sandrine, Olivier, Fanny, David, Florence, Christophe,  
Séverine, Isabelle, Elodie, Seb, Yoyo... et tous leur rejetons, un seul grief, vous êtes juste  
un peu trop loin,*

*A ma douce retraite, le pays beaujolais, son vin, son esprit, Bello, Coco, Marine, Anne-  
Sophie, Yoyo, Valérie, Thierry, Marie, Greg...nos retrouvailles me laissent à chaque fois  
un goût de revient, alors comptez sur moi.*

*Aux Anneciens et à leur fondue, Anne-Marie, Magalie et Pascal.*



## Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Biochimie-Technologie du Département des Productions Fruitières et Horticoles (FLHOR) au Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD).

J'adresse tous mes remerciements à Monsieur le Président de l'Université de la Réunion d'avoir accepté de délocaliser à Montpellier la soutenance de cette thèse.

J'adresse conjointement tous mes remerciements au Conseil Régional de la Région Réunion et au CIRAD d'avoir accepté de co-financer ce travail de thèse (Convention n° 21700). Je tiens aussi à remercier les partenaires financiers de la Société Aurore Développement (Ile de la Réunion), Messieurs CHAN NAM et COGAT, pour leur soutien financier et leurs conseils scientifiques avisés.

Je remercie Messieurs PIERIBATTESTI, Professeur à l'Université de la Réunion, et REYNES, Directeur du Laboratoire de Biochimie-Technologie et Chargé de Mission Agro-Alimentaire au Département FLHOR du CIRAD, d'avoir initialement œuvré pour le démarrage de ce travail de thèse. Je les remercie aussi, pour Monsieur PIERIBATTESTI d'avoir accepté de co-diriger cette thèse et pour sa participation au jury, et pour Monsieur REYNES de m'avoir accueilli, conseillé et encouragé. Je le remercie aussi d'avoir accepté de participer à ce jury en tant qu'examinateur.

Je remercie Monsieur BRILLOUET, Directeur de Recherche INRA mis à disposition au Département FLHOR du CIRAD, de m'avoir encadré pendant ces trois années de travail en tant que Directeur de thèse, pour ses conseils, sa disponibilité et son esprit d'ouverture.

J'adresse tous mes remerciements à Messieurs GAILLARD, Directeur du Département FLHOR, GANRY, Directeur Scientifique, et GOGUEY, Chef du Programme Arboriculture Fruitière de m'avoir accepté au sein de leur équipe.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur RICHARD, Professeur Emérite à l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires (Massy), en acceptant de présider ce jury, d'avoir fait en sorte que cette thèse puisse être soutenue à la date initialement prévue.

Je remercie Monsieur MOUTOUNET, Directeur de Recherches INRA-Montpellier, d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail de thèse.

Je remercie Monsieur MARION, Professeur à l'Université de Paris VI, Chargé à l'IRD des relations avec les établissements d'enseignement supérieur et de recherche, d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail de thèse.

Je remercie également Monsieur MIGNONAC pour son investissement personnel dans la valorisation du procédé de Flash-Détente®.

J'adresse également mes sincères remerciements à Messieurs DIDIER, BALLARD et LOEILLET, du Département FLHOR du CIRAD, pour leurs compétences et leur totale disponibilité.

Toute ma gratitude s'adresse aux chercheurs et aux techniciens du Laboratoire de Biochimie-Technologie au CIRAD-FLHOR. Je tiens à exprimer tout particulièrement ma reconnaissance à Madame ALTER, Technicienne au Département FLHOR du CIRAD, pour son aide efficace lors de mes multiples expériences.

Je remercie Messieurs PRUVOT et DUMAS du Département AMIS du CIRAD pour leur diverses interventions à différents moments décisifs de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur DAVRIEUX, chercheur au Département CP du CIRAD-Montpellier, pour son aide et ses précieux conseils dans l'étude des composés volatils.

Je remercie Madame MICHAUX-FERRIERE, Responsable du Laboratoire d'Histologie Biotrop du CIRAD-Montpellier, et Monsieur ESCOUTE, pour leur accueil et les moyens techniques qu'ils ont mis à ma disposition pour l'étude microscopique des coupes de fruit de la passion.

---

## Publications

**«Preparation of passion fruit puree by flash vacuum-expansion»** 2001. P. Brat, D. Ollé, M. Reynes, P.O. Cogat et J.-M. Brillouet. *Journal of Food Science*, 66, 542-547.

**«Free volatile components of passion fruit puree obtained by flash vacuum-expansion»** 2000. P. Brat, J.-M. Brillouet, M. Reynes, P.O. Cogat et D. Ollé. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6210-6214.

**«Preparation of tropical fruit purees by flash vacuum-expansion»** 2001. P. Brat, D. Ollé, M. Reynes, P. Alter, P.O. Cogat et J.-M. Brillouet. *Acta Horticulturae*, sous presse.

**«Essential oils obtained by flash vacuum-expansion of peels from lemon, sweet orange, mandarin and grapefruit»** 2001. P. Brat, D. Ollé, A.L. Gancel, M. Reynes, P.O. Cogat et J.-M. Brillouet. *Fruits*, sous presse.

## Brevet

**«Produit alimentaire : obtention par le traitement d'agrumes par le procédé de Flash-Détente, application à la fabrication de jus pectiques, de purées pectiques et de boissons. Procédé pour l'obtention du produit, des jus, purées, boissons»** 2001. P. Brat, D. Ollé, M. Reynes, P. Alter, P.O. Cogat et J.-M. Brillouet. En cours de dépôt à l'Institut National de la Protection Industrielle.

## Chapitres d'ouvrage

**«Produits à base de fruits tropicaux et subtropicaux pour réutilisation industrielle»** 2001. D. Ollé, P. Brat, M. Reynes et J.-M. Brillouet. Dans : *Technologies de Transformation des Fruits*. J. Albagnac, F. Varoquaux et J.-C. Montigaud (Eds.). A paraître chez Lavoisier Edition, France.

**«The colouring matter (anthocyanins and carotenoids) of tropical fruits and their products»**. P. Brat, D. Ollé, M. Reynes et J.-M. Brillouet. T. Nakano (Ed.). En cours de rédaction.

## Communications orales

«**Preparation of tropical fruit purees by flash vacuum-expansion**» P. Brat, D. Ollé, M. Reynes, P. Alter, P.O. Cogat et J.-M. Brillouet. Communication orale au Symposium International sur les Fruits Tropicaux et Subtropicaux, Décembre 2000, Cairns, Australie.

«**Le procédé de flash-détente® : un nouveau procédé de transformation et d'extraction**» P. Brat. Communication orale à la Journée Professionnelle du CIRAD-FLHOR, Septembre 2001, Montpellier, France.

«**Application du procédé de flash-détente® aux fruits tropicaux**» P. Brat. Communication orale aux X<sup>ème</sup> Entretiens d'Agropolis, Novembre 2001, Montpellier, France.

## Divers

«**Extraction d'huiles essentielles d'agrumes par le procédé de flash-détente®**» 2001. P. Brat. Poster présenté aux Doctoriales de l'Université de la Réunion.

«**Le procédé de Flash-Détente®**» 2000. P. Brat. Plaquette destinée aux industriels présentant le principe du procédé de flash-détente®.

«**Broyage et extraction par Flash-Détente**» 2001. Participation à la rédaction et correction de l'article de Process Magazine, n°1175 Octobre.

Participation à l'atelier sur la **Spectrométrie Proche Infra-Rouge (S.P.I.R.)**. Etude de l'applicabilité de cette technique aux mesures physico-chimiques dans les produits à base de fruit.

---

# SOMMAIRE

	Page
<b>INTRODUCTION</b>	1
<b>TRAVAUX ANTERIEURS</b>	
<b>I. LES PROCEDES TECHNOLOGIQUES DE TRANSFORMATION DES FRUITS</b>	3
I.1. LEGISLATION ET PRINCIPAUX PRODUITS A BASE DE FRUITS	3
I.1.1. <u>La législation des jus de fruits</u>	3
I.1.2. <u>Les principaux produits</u>	4
I.2. LES PROCEDES D'EXTRACTION DES JUS D'AGRUMES	4
I.3. LES PROCEDES D'EXTRACTION DU JUS DE FRUIT DE LA PASSION	5
I.3.1. <u>Le fruit de la passion (<i>Passiflora edulis</i> Sims)</u>	5
I.3.2. <u>Les procédés d'extraction du jus</u>	6
I.4. LES PROCEDES D'ELABORATION DES PUREES DE FRUIT	7
I.4.1. <u>Préparation des fruits</u>	7
I.4.2. <u>Blanchiment des fruits</u>	7
I.4.3. <u>Epulpage-raffinage</u>	8
I.5. LES PROCEDES DE TRANSFORMATION INNOVANTS	8
I.5.1. <u>Le procédé de flash-détente®</u>	8
I.5.2. <u>Les champs pulsés</u>	10
I.5.3. <u>Les hautes pressions</u>	11
I.6. LES PROCEDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES	11
I.6.1. <u>Les procédés manuels</u>	11
I.6.2. <u>Les procédés semi-industriels</u>	11
I.6.3. <u>Les procédés industriels</u>	12
<b>II. RHEOLOGIE DES JUS ET DES PUREES DE FRUITS</b>	13
II.1. LA CONSISTANCE	13
II.2. LA TEXTURE	14
II.3. LA VISCOSITE	16
II.4. CONSTITUANTS ET FACTEURS TECHNOLOGIQUES AFFECTANT LA RHEOLOGIE DES JUS ET PUREES	17
II.4.1. <u>Teneur en pulpe et en pectines solubles</u>	17

II.4.2. <u>Influence des traitements thermiques et mécaniques sur les caractéristiques rhéologiques des produits</u>	18
III. LES PHENOMENES DE BRUNISSEMENT DANS LES JUS ET PUREES	19
III.1. LE BRUNISSEMENT ENZYMATIQUE	19
III.2. LE BRUNISSEMENT NON ENZYMATIQUE	19
IV. LA MATIERE COLORANTE DES FRUITS	20
IV.1. LES ANTHOCYANES	20
IV.1.1. <u>Les anthocyanidols</u>	21
IV.1.2. <u>La partie glucidique</u>	21
IV.1.3. <u>Les différentes formes d'anthocyanes</u>	21
IV.1.4. <u>Les anthocyanes du fruit de la passion</u>	22
IV.1.5. <u>Extraction des anthocyanes</u>	22
IV.2. LES CAROTENOÏDES	23
IV.2.1. <u>Structure des caroténoïdes</u>	24
IV.2.2. <u>La couleur des caroténoïdes</u>	25
IV.2.3. <u>Extraction et identification des caroténoïdes</u>	25
V. LES COMPOSES AMERS CHEZ LES AGRUMES	26
V.1. LES LIMONOÏDES	26
V.1.1. <u>Extraction de la limonine</u>	27
V.2. LES FLAVONOÏDES	28
V.2.1. <u>Structure des flavonoïdes</u>	28
V.2.2. <u>Extraction des flavonoïdes</u>	29
V.3. DESAMERISATION DES JUS D'AGRUMES	30
VI. LES COMPOSES D'AROME DES FRUITS	30
VI.1. LES DIFFERENTES CLASSES DE COMPOSES VOLATILS	30
VI.1.1. <u>Les hydrocarbures</u>	31
VI.1.2. <u>Les alcools</u>	31
VI.1.3. <u>Les aldéhydes et les cétones</u>	32
VI.1.4. <u>Les esters et les lactones</u>	32
VI.1.5. <u>Les hétérocycles</u>	33
VI.2. LES COMPOSES D'ARÔME DU FRUIT DE LA PASSION	33
VI.2.1. <u>L'arôme du fruit de la passion</u>	33
VI.2.2. <u>Les précurseurs glycosylés des composés volatils</u>	35

VI.2.3. <u>Les méthodes d'extraction des composés volatils dans les jus de fruit de la passion</u>	35
VI.3. LES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES	36
VI.3.1. <u>Définition et localisation histologique</u>	36
VI.3.2. <u>Caractéristiques des huiles essentielles</u>	37
VI.3.3. <u>Les huiles essentielles de citron</u>	37
VI.3.4. <u>Les huiles essentielles d'orange douce</u>	39
VI.3.5. <u>Les huiles essentielles de pomelo</u>	40
VI.3.6. <u>Les huiles essentielles de mandarine</u>	41
VII. STRUCTURE ET ORGANISATION DE LA PAROI CELLULAIRE	42
VII.1. LA CELLULOSE	43
VII.2. LES HEMICELLULOSES	43
VII.2.1. <u>Les <math>\beta</math>-glucanes non cellulosiques</u>	43
VII.2.2. <u>Les xyloglucanes</u>	44
VII.2.3. <u>Les xylanes</u>	44
VII.2.4. <u>Les mannanes</u>	44
VII.3. LES SUBSTANCES PECTIQUES	44
VII.3.1. <u>Les homogalacturonanes (zones «lisses»)</u>	45
VII.3.2. <u>Les rhamnogalacturonanes de type I (zones «hérissées»)</u>	45
VII.3.3. <u>Les arabinanes</u>	46
VII.3.4. <u>Les galactanes et les arabinogalactanes de types I et II</u>	46
VII.3.5. <u>Le rhamnogalacturonane de type II (RG-II)</u>	46

## MATERIELS ET METHODES

I. MATERIELS	47
I.1. PILOTES DE FLASH-DETENTE® ET APPAREILS ANNEXES	47
I.1.1. <u>Pilote expérimental</u>	47
I.1.2. <u>Pilote semi-industriel</u>	47
I.1.3. <u>Raffineuse</u>	48
I.1.4. <u>Extracteur à jus</u>	48
I.1.5. <u>Presse-agrume</u>	48
I.2. MATERIEL VEGETAL	48
I.3. MOLECULES DE REFERENCE ET SOLVANTS	48
II. MISE EN OEUVRE DU PROCEDE DE FLASH-DETENTE®	49

II.1. PREPARATION DES PRODUITS	49
II.1.1. <u>Préparation des purées de fruit de la passion</u>	49
II.1.2. <u>Préparation des purées de mangue</u>	50
II.1.3. <u>Préparation des purées pectiques de citron</u>	50
II.1.4. <u>Extraction d'huiles essentielles d'écorces d'agrumes</u>	51
III. METHODES ET TECHNIQUES	51
III.1. pH	51
III.2. <u>Acidité titrable</u>	51
III.3. <u>Mesure de l'extrait sec soluble (degré Brix)</u>	52
III.4. <u>Détermination de la matière sèche</u>	52
III.5. <u>Dosage des sucres libres par chromatographie ionique</u>	52
III.6. <u>Dosage des acides organiques par chromatographie ionique</u>	52
III.7. <u>Dosage des protéines</u>	53
III.8. <u>Extraction et dosage des anthocyanes</u>	53
III.9. <u>Extraction et dosage des caroténoïdes</u>	54
III.10. <u>Extraction et dosage des flavonoïdes</u>	55
III.11. <u>Extraction et dosage de la limonine</u>	56
III.12. <u>Préparation des matériels insolubles dans l'alcool (M.I.A.)</u>	56
III.13. <u>Désamidonnage enzymatique du matériel insoluble dans l'alcool (M.I.A.)</u>	57
III.14. <u>Extraction des pectines en conditions non-dénaturantes</u>	57
III.15. <u>Extraction des pectines en milieu acide à chaud</u>	58
III.16. <u>Dosage des acides uroniques</u>	58
III.17. <u>Dosage des polysaccharides neutres</u>	59
III.18. <u>Dosage des esters méthyliques</u>	60
III.19. <u>Détermination de la viscosité intrinsèque des pectines</u>	61
III.20. <u>Détermination de la masse moléculaire viscosimétrique moyenne des pectines par viscosimétrie</u>	62
III.21. <u>Détermination de la masse moléculaire moyenne en poids des substances pectiques par calibration universelle</u>	62
III.22. <u>Mesure de la consistance et de la viscosité des jus et des purées</u>	63
III.23. <u>Mesure de la couleur par chromamétrie</u>	64
III.24. <u>Hydrodistillation sur appareil de type Clevenger</u>	64
III.25. <u>Extraction de l'espace de tête sous vide</u>	65
III.26. <u>Distillation / extraction simultanée selon Likens et Nickerson (1964)</u>	65
III.27. <u>Extraction directe par un azéotrope</u>	65
III.28. <u>Séparation-identification des composés d'arôme</u>	66
III.29. <u>Microscopie photonique</u>	67



# RESULTATS ET DISCUSSION

I. LES PUREES DU FRUIT DE LA PASSION POURPRE ( <i>Passiflora edulis</i> Sims)	69
I.1. PREPARATION DES JUS ET PUREES	69
I.2. RENDEMENTS ET BILANS	70
I.2.1. Rendements	70
I.2.2. Bilan matière et bilan thermodynamique	71
I.3. CARACTERISTIQUES DES PRODUITS	73
I.3.1. <u>Caractéristiques physico-chimiques</u>	73
I.3.2. <u>Les constituants polysaccharidiques des produits</u>	74
I.3.3. <u>Caractéristiques rhéologiques des produits</u>	77
I.3.4. <u>La couleur des produits</u>	80
I.3.5. <u>Les composés volatils des produits</u>	86
I.3.6. <u>Approche sensorielle</u>	90
I.4. ETUDE HISTOLOGIQUE DES PRODUITS	90
I.4.1. <u>Fruit de la passion natif</u>	90
I.4.2. <u>Fruit de la passion après étuvage</u>	91
I.4.3. <u>Fruit de la passion après flash-détente®</u>	91
II. LES PUREES DE MANGUE ( <i>Mangifera indica</i> L., var. Amélie)	92
II.1. PREPARATION DES PUREES	92
II.1.1. Rendements	92
II.2. CARACTERISTIQUES DES PRODUITS	93
II.2.1. <u>Caractéristiques physico-chimiques</u>	93
II.2.2. <u>Les constituants polysaccharidiques des produits</u>	93
II.2.3. <u>Caractéristiques rhéologiques des produits</u>	94
II.2.4. <u>La couleur des purées</u>	95
III. LES PUREES PECTIQUES DE CITRON [ <i>Citrus limon</i> (L.) Burm., var. Vernas]	96
III.1. PREPARATION DES JUS ET PUREES	96
III.2. RENDEMENTS	97
III.3. CARACTERISTIQUES DES PRODUITS	97
III.3.1. <u>Caractéristiques physico-chimiques des produits</u>	97
III.3.2. <u>La couleur des produits</u>	98

III.3.3. <u>Les constituants polysaccharidiques des produits</u>	98
III.3.4. <u>Caractéristiques rhéologiques des produits</u>	100
III.3.5. <u>Les composés amers des produits (flavonoïdes, limonoïdes)</u>	101
III.3.6. <u>Les composés volatils des produits</u>	102
III.3.7. <u>Approche sensorielle</u>	105
<b>IV. LES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES</b>	105
IV.1. TENEUR EN HUILES ESSENTIELLES DES ECORCES D'AGRUMES	105
IV.2. EXTRACTION DES HUILES PAR LE PROCÉDE DE FLASH-DETENTE®	106
IV.3. COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES	107
IV.3.1. <u>Influence de l'étape d'étuvage</u>	107
IV.3.2. <u>Comparaison préliminaire des huiles essentielles d'agrumes</u>	107
IV.3.3. <u>Huiles essentielles de citron [<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. var. Primafiori]</u>	108
IV.3.4. <u>Huiles essentielles d'orange douce [<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osb. var. Naveline]</u>	108
IV.3.5. <u>Huiles essentielles de mandarine [<i>Citrus reticulata</i> Blanco, var. Villalate]</u>	109
IV.3.6. <u>Huiles essentielles de pomelos rosés [<i>Citrus paradisi</i> Macfayden, var. Ruby Red]</u>	109
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	111
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	114
<b>ANNEXES</b>	
ANNEXE I. LISTES DES ILLUSTRATIONS	130
<u>Liste des tableaux</u>	130
<u>Liste des figures</u>	132
<u>Liste des photos</u>	135
ANNEXE II. REACTIFS UTILISES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE	136
<u>Préparation du fixateur</u>	136
<u>Préparation de la résine d'inclusion</u>	136
<u>Préparation des réactifs de coloration</u>	136

ANNEXE III. PUBLICATIONS	137
<u>Preparation of passion fruit puree by flash vacuum-expansion</u>	137
<u>Free volatile components of passion fruit puree obtained by flash vacuum-expansion</u>	138
<u>Preparation of tropical fruit purees by flash vacuum-expansion</u>	139
<u>Essential oils obtained by flash vacuum-expansion of peels from lemon, sweet orange, mandarin and grapefruit</u>	140
ANNEXE IV. POSTER	141
<u>Extraction d'huiles essentielles d'agrumes par le procédé de flash-détente®</u>	

# ***Introduction***

Le procédé de Flash-Détente<sup>®</sup> sous vide est un procédé innovant de transformation des matières organiques fondé sur la capacité de l'eau de ces matières à s'évaporer dans des conditions particulières de température et de pression. Dans ce procédé, le matériel végétal (fruits, légumes) est tout d'abord étuvé à pression atmosphérique puis brutalement introduit dans une chambre sous vide poussé. L'évaporation instantanée d'une fraction de l'eau de constitution à l'instant de l'expansion sous vide entraîne une déstructuration des tissus par formation de micro-canaux intercellulaires (Cogat, 1989). Ce procédé, vu comme une alternative aux procédés traditionnels de blanchiment-broyage de fruits, est utilisé depuis deux décennies dans le secteur vinicole comme prétraitement des raisins avant mise en fermentation (Escudier *et al.*, 1998) ; les vins issus de raisins «flashés» présentent des teneurs en extrait sec et en matière colorante supérieures à des vins traditionnels. Le procédé peut donc être considéré comme :

- un moyen de diminuer la cohésion des tissus végétaux et donc de modifier les caractéristiques rhéologiques des produits,
- un procédé de concentration légère des produits (évaporation d'une fraction de l'eau),
- un procédé d'extraction, de facilitation de la diffusion de molécules d'intérêts alimentaire ou autres (caroténoïdes, anthocyanes, tanins, ...).

De plus la désintégration des tissus se faisant après un traitement thermique et en quasi-absence d'oxygène, on peut prévoir une amélioration de la qualité et de la stabilité de la couleur des produits par limitation du brunissement enzymatique.

Il était donc opportun d'analyser l'applicabilité de ce procédé à d'autres matières végétales et, dans notre cas particulier, aux productions fruitières d'origines tropicale et méditerranéenne afin de promouvoir de nouveaux produits (purées «pectiques» par exemple) mais aussi de valoriser les écarts de triage, les énormes pertes post-récolte souvent constatées chez les pays producteurs (Medlicott *et al.*, 1986), et les sous-produits des industries de transformation des fruits.

Parmi les fruits, certains [baies (raisin, cassis) et hesperidiées (agrumes)] fournissent des jus alors que d'autres [drupes (abricot, pêche)] donnent après transformation (sans utilisation d'enzymes liquéfiantes ou macérantes) des purées semi-pâteuses. Il était donc intéressant de pouvoir juger des potentialités du procédé sur une gamme variée de fruits. Certains, comme le fruit de la passion (baie) ou le citron (hespéridiée), fournissent des jus

de grande qualité aromatique et, cependant, leur utilisation reste limitée de par leur très forte acidité : les jus rentrent dans des formulations mixtes en mélange avec d'autres jus moins acides. Nous avons donc appliqué le procédé de flash détente® à ces fruits entiers en espérant étendre la gamme d'utilisation de leurs produits semi-finis. Un autre fruit tropical, la mangue (drupe), 5<sup>ème</sup> production mondiale avec 20 millions de tonnes/an, est un cas différent des deux autres puisque le produit semi-fini est une purée constituée de la totalité de la chair comestible (peau et noyau exclus). De même, nous avons donc appliqué le procédé de flash détente® à des mangues entières.

Plusieurs objectifs ont été assignés à ce travail de recherche :

- \* analyser les conditions de fonctionnement d'un pilote de flash détente® :
  - **bilans massique et thermodynamique** du procédé : transferts de masse et d'énergie,
- \* caractériser les différents produits obtenus en comparaison avec des produits traditionnels, soit :
  - **caractérisation physico-chimique** des produits : pH, acidité titrable, extrait sec soluble, sucres, acides organiques,
  - **rhéologie** des produits : consistance, viscosité apparente, seuil d'écoulement,
  - **polysaccharides pariétaux** des produits en relation avec la rhéologie : composition, solubilité, viscosité intrinsèque, masse moléculaire,
  - **étude histologique** des produits par microscopie photonique,
  - **couleur et amertume** des produits : anthocyanes, glycosides de flavanones,
  - **composés d'arôme** des produits.

Enfin, le procédé de flash-détente® a été mis en œuvre pour l'**extraction d'huiles essentielles** d'écorces d'agrumes (citron, orange douce, mandarine, pomelo).

---

## ***Travaux Antérieurs***

Notre travail de thèse ayant porté sur l'application du procédé de flash-détente<sup>®</sup> à :

- la transformation de fruits tropicaux et méditerranéens (fruit de la passion, mangue et citron) en purées en comparaison avec des jus «traditionnels»,
- l'extraction d'huiles essentielles à partir d'écorces d'agrumes (citron, orange douce, mandarine et pomelo),

nous serons amenés dans ce chapitre à rappeler l'état des connaissances :

- en matière de procédés de transformation des fruits (jus, nectars, purées, huiles essentielles) et les procédés innovants,
- en matière de caractérisation des matières premières et leurs produits de transformation pour ce qui concerne la rhéologie des fluides, la matière colorante (anthocyanes, caroténoïdes), l'amertume (limonoïdes, flavonoïdes), l'arôme (composés volatils) et les polysaccharides de la paroi cellulaire des végétaux.

## **I. LES PROCEDES TECHNOLOGIQUES DE TRANSFORMATION DES FRUITS**

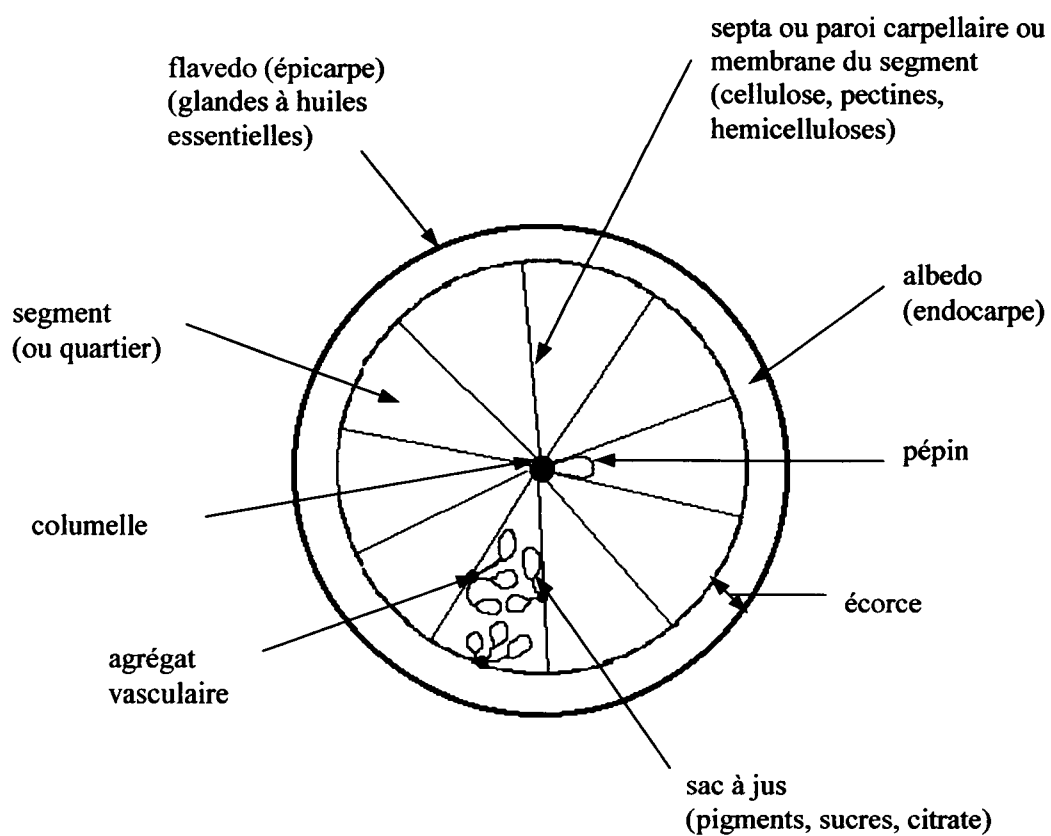
### **I.1. LEGISLATION ET PRINCIPAUX PRODUITS A BASE DE FRUITS**

#### **I.1.1. La législation des jus de fruits**

Selon la norme française (Législation des jus, 2001) et la directive européenne de 1993, la dénomination «jus de fruits» recouvre 6 catégories de produits :

- les «purs jus de fruits, 100% purs jus», obtenus à partir de fruits frais sans addition de colorant et de conservateur et pour lesquels seule une adjonction de 15 g de sucre par litre est autorisée,
- les «jus de fruit frais» n'ayant subi aucun traitement thermique après leur extraction,
- les «jus de fruit à base de concentré» dont l'eau est éliminée par déshydratation sur le lieu de production afin de réduire les coûts de transport et auxquels on rajoute la quantité d'eau nécessaire pour les reconstituer,
- les «jus concentrés surgelés» dont on a retiré une partie seulement de l'eau d'origine (concentrés au  $\frac{1}{4}$ ) qu'il faut décongeler et auxquels on ajoute  $\frac{3}{4}$  de volume d'eau pour les reconstituer,
- les concentrés au  $\frac{1}{8}$  par évaporation sous vide à basse température, qui servent notamment pour les jus à base de concentrés,





**Figure 1. Coupe équatoriale schématique d'un agrume (d'après Praloran, 1971 et Baldwin, 1993).**

- les nectars obtenus par addition d'eau et de sucre au jus de fruit, à la purée de fruit ou au jus de fruit concentré.

Notons cependant que la réglementation française protège aussi la dénomination «pur jus de fruit frais» qui comprend exclusivement les jus qui n'ont pas fait l'objet de traitements après extraction et qui ne sont pas issus de concentrés.

### **I.1.2. Les principaux produits**

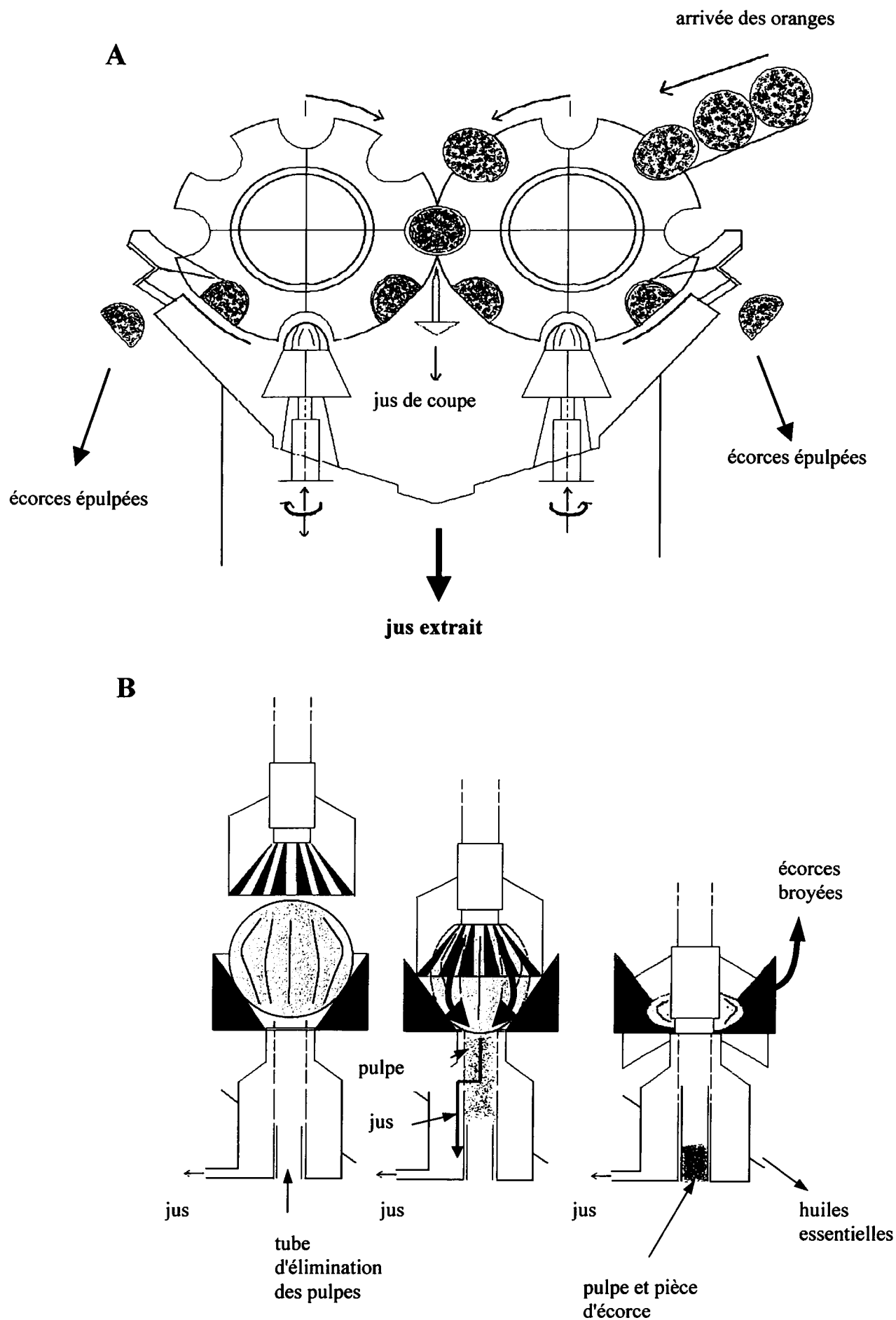
D'un point de vue agro-industriel, les produits obtenus à base de fruits peuvent être classés en deux grandes catégories : les produits semi-finis (jus et purées) et les produits alimentaires intermédiaires (P.A.I.) qui proviennent de la séparation de molécules ayant des propriétés physico-chimiques particulières comme les pectines et les huiles essentielles.

Les jus pulpeux qui sont des produits semi-finis obtenus à base de fruits peuvent par sédimentation ou par centrifugation (Dupaigne, 1967) être scindés en deux phases distinctes : une phase liquide supérieure (sérum) contenant principalement des sucres, des acides organiques, des pectines et des protéines solubles et une phase inférieure (pulpe) riche en matériel pariétal. Dans le cas plus particulier d'une purée, la viscosité et la consistance du produit sont telles que la détermination classique de la teneur en pulpe par centrifugation est impossible et seul dans ce cas une purification des polysaccharides pariétaux à l'éthanol bouillant (Matériel Insoluble dans l'Alcool) permet d'évaluer la teneur en matériel pariétal.

## **I.2. LES PROCÉDES D'EXTRACTION DES JUS D'AGRUMES**

Selon la directive européenne (1993), les jus d'agrumes doivent provenir exclusivement de l'endocarpe (Figure 1) formé de parois carpellaires sur lesquels sont fixés des poils pluricellulaires. Ces poils forment à maturité des sacs à jus gorgés d'eau, de sucres, d'acides organiques et de composés d'arôme ; ils occupent l'essentiel du volume du quartier. Si l'incorporation d'une partie de l'albedo (mésocarpe) de l'agrumes semble intéressante pour la baisse d'acidité du produit final (Brat *et al.*, 2001), le jus après dilution devra néanmoins porter l'appellation «boisson à base de fruit».

Les deux procédés les plus couramment utilisés pour la production de jus d'agrumes sont le procédé F.M.C. (Food Machinery Corporation) (Nagy et Shaw, 1993a) et



**Figure 2. Schéma de l'extracteur de Brown (A) (d'après Brown Corporation, USA) et de l'extracteur F.M.C. (B) (d'après Food Machinery Corporation, USA).**

l'extracteur Brown (Automatic Machinery & Electronics Co) (Nagy et Shaw, 1993b). Ces deux procédés répondent à un triple impératif :

- la pression exercée sur le flavedo doit être modérée puisque seule une très faible quantité d'huiles essentielles contenues dans le flavedo doit être incorporée au produit sous peine d'apporter une sensation désagréable de «chaleur en bouche»,
- une partie de la pulpe jouant un rôle de «matrice» des composés d'arôme du fruit doit être introduite afin de préserver au maximum l'identité aromatique du produit final,
- ces procédés s'adaptent avec un minimum d'interventions techniques aux trois agrumes les plus consommés : l'orange, le pomelo et le citron.

Les deux systèmes diffèrent fondamentalement dans leur mode de fonctionnement puisque l'extracteur Brown effectue un «fraisage» de chaque partie du fruit préalablement coupé en deux (Figure 2, A) alors que le principe du procédé F.M.C. (Figure 2, B) repose sur l'introduction d'une canule munie en son centre d'un cylindre finisseur dans le fruit entier puis d'un pressage pour forcer le jus pulpeux à passer au travers d'une grille perforée de trous de différents diamètres (Ollé *et al.*, 2001). Notons que seul le procédé F.M.C. permet outre l'extraction du jus, la récupération des huiles essentielles contenues dans les glandes du flavedo. En effet, un système d'aspersion d'eau lors du pressage du fruit entier permet de récupérer une émulsion eau/huile et d'obtenir ainsi après centrifugation une partie des huiles essentielles contenues dans le flavedo.

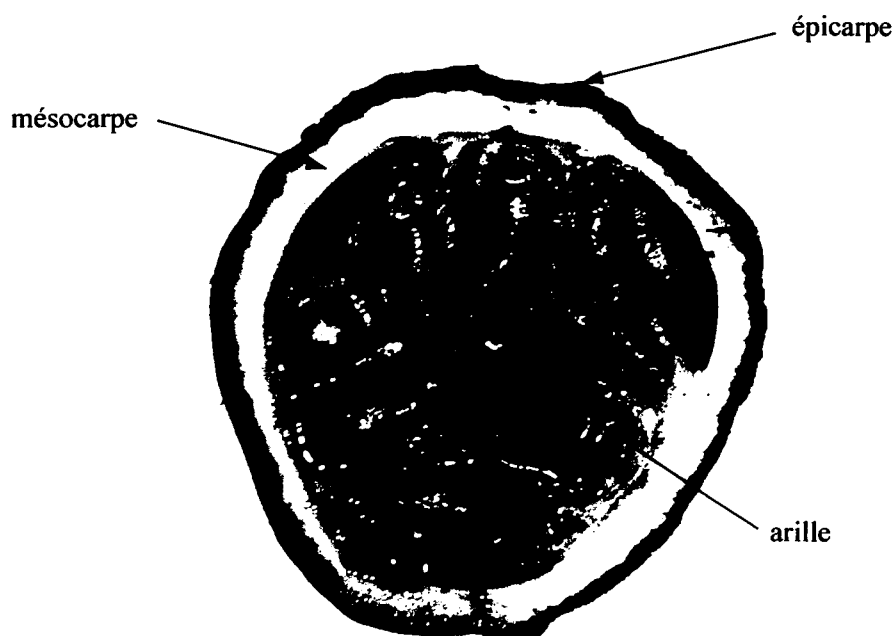
### **I.3. LES PROCÉDES D'EXTRACTION DU JUS DE FRUIT DE LA PASSION**

#### **I.3.1. Le fruit de la passion (*Passiflora edulis* Sims)**

Le fruit de la passion est une baie native du sud du Brésil qui a été largement répandue au cours du 19<sup>ème</sup> siècle dans les autres pays d'Amérique du Sud et des Caraïbes (Martin et Nakasone, 1970). Le fruit de la passion appartient à la famille des *Passifloraceae* représentant 14 genres, le genre *Passiflora* étant le représentant principal d'une famille de près de 580 espèces. Notons que le terme «fruit de la passion» représente exclusivement l'espèce *Passiflora edulis* Sims qui est présente sous deux formes : le fruit de la passion pourpre (*Passiflora edulis* Sims) et le fruit de la passion jaune (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener) (Bora et Narain, 1997).

**Tableau 1. Principales caractéristiques des 2 formes du fruit de la passion : pourpre, *Passiflora edulis* Sims.) et jaune (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener).**

caractéristiques	<i>Passiflora edulis</i> Sims.	<i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener
altitude maximale de croissance	650-1300 mètres	600 mètres
vigne	peu vigoureuse	vigoureuse
feuilles	petites, formes similaires	grande taille
fleurs	petites	larges avec un fort parfum
fruit	pourpre et petit	gros et jaune
nombre de chromosomes	2n = 18	2n = 18
auto-pollinisation	oui	non



**Photo 1. Coupe transversale d'un fruit de la passion pourpre (*Passiflora edulis* Sims.).**

Le fruit de la passion pourpre est relativement petit (4 à 9 centimètres de long, 3,5 à 7 cm de diamètre) comparé à la variété jaune (Tableau 1). D'une masse moyenne de 36 grammes à pleine maturité, il présente une anatomie particulière (Photo 1) :

- l'épicarpe a, suivant la maturité du fruit, des teintes pourpre à marron,
- le mésocarpe assez épais est pourpre sur sa face externe et blanc sur sa face interne,
- l'endocarpe est une fine pellicule blanche,
- l'ensemble du péricarpe a une épaisseur de 3 à 6 millimètres.

On dénombre plus de 120 pépins par fruit, chacun entouré d'un sac à jus, l'ensemble étant maintenu par une membrane souple (arille).

### I.3.2. Les procédés d'extraction du jus

Divers procédés d'extraction des jus de fruit de la passion sont actuellement utilisés :

- *extraction manuelle* : elle est encore utilisée dans certains pays en voie de développement qui bénéficient d'une main d'œuvre bon marché. La pulpe est récupérée à la cuillère après section du fruit en deux ou directement pompée du fruit entier par une canule d'aspiration (Hubbard, 1973). Ce procédé permet d'obtenir un rendement de 42 % de la masse totale du fruit,

- *extracteur centrifuge* : cette technologie (Kinch, 1959) repose sur le tranchage du fruit puis la séparation par centrifugation (175 g) dans un centrifugeuse à bol percé des rondelles de peau (éjectées du bol). Les graines sont ensuite séparées du jus par passage forcé du jus par les trous du bol,

- *extracteur à cônes convergents* (Photo 2) (Casimir *et al.*, 1981) : ce système communément utilisé en Australie est basé sur un principe totalement différent. Les fruits sont pressés au travers de deux cônes rotatifs ayant respectivement un revêtement lisse et rugueux. Les deux cônes sont montés de telle manière que le fruit entraîné explose sous la pression appliquée tandis que le jus et les graines ruissellent le long des cônes. Les vitesses de rotation des 2 cônes et la rugosité doivent être optimisées suivant la taille des fruits traités,

- *extracteur Passypress* : ce procédé italien plus particulièrement développé pour la variété jaune du fruit de la passion ressemble dans son principe à un extracteur de jus d'agrumes. Les fruits sont compressés entre deux rouleaux dont un est muni de dents en acier afin d'ouvrir l'écorce du fruit. Le rouleau denté presse ensuite les fruits désagregés contre une grille de manière à séparer l'écorce et la pulpe. Ce système a un débit allant jusqu'à 4 tonnes à l'heure.

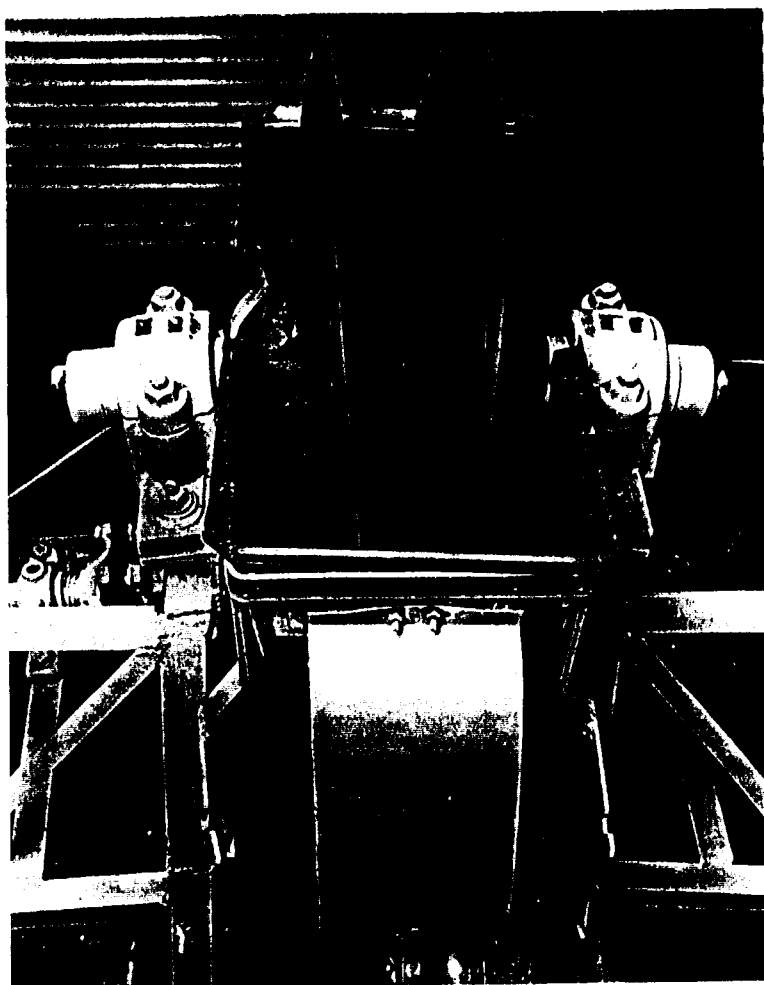


Photo 2. Extracteur à cônes convergents (d'après Casimir *et al.*, 1981).

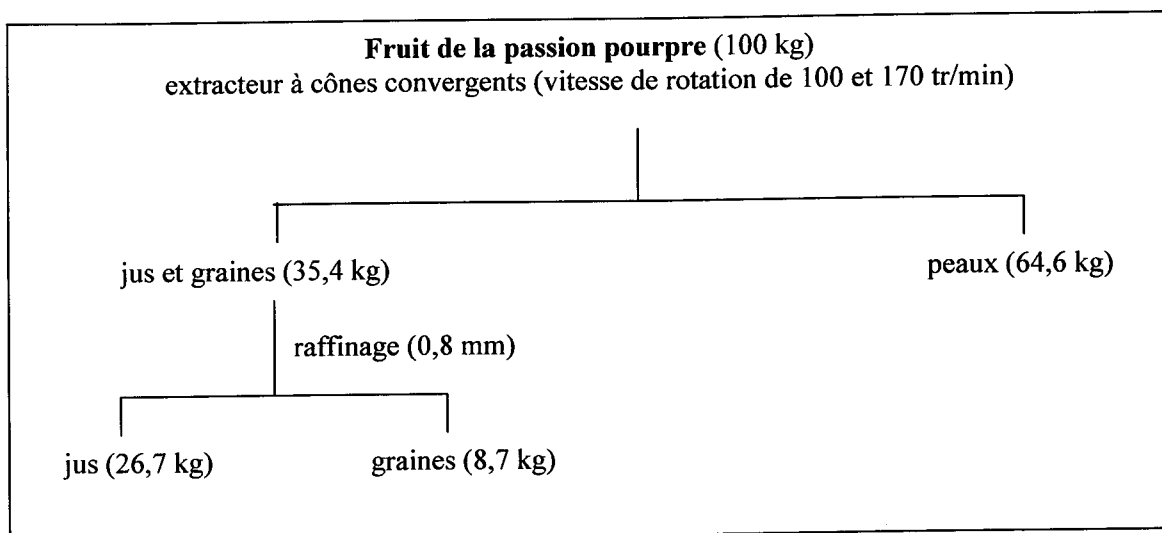
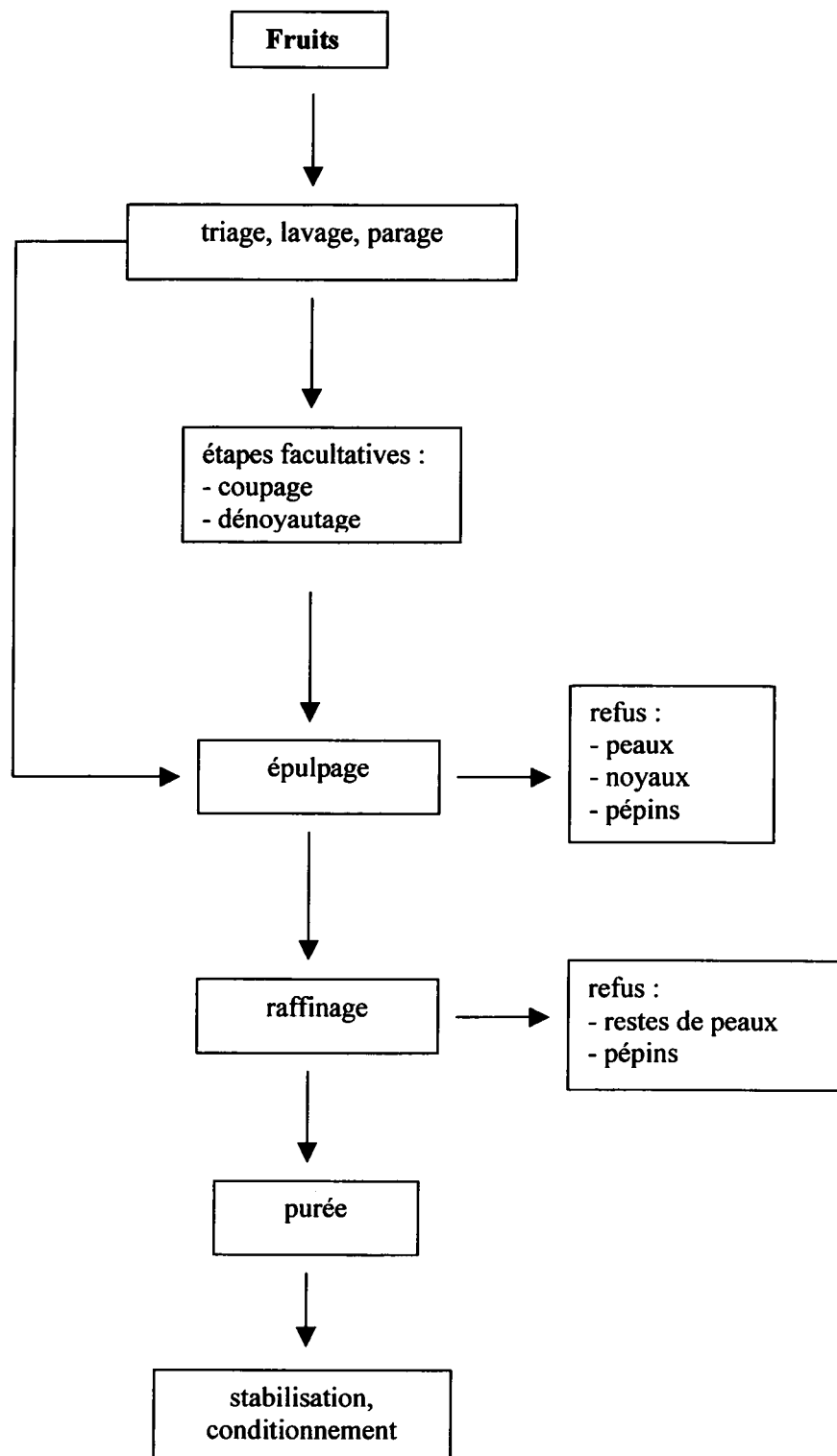


Figure 3. Bilan matière d'un procédé d'extraction de jus (d'après Casimir, 1974).



**Figure 4. Schéma traditionnel d'obtention d'une purée (d'après Ollé *et al.*, 2001).**



Lors d'une extraction mécanique, une partie du jus est absorbée par le mésocarpe et une autre reste collée à la peau ; les rendements sont donc toujours inférieurs aux rendements obtenus par extraction manuelle. Un raffineuse munie d'une grille de 0,8 mm de diamètre est nécessaire pour obtenir un jus dépourvu de graines. L'utilisation d'enzymes ayant des activités pectinolitiques peut être envisagée au préalable afin de faciliter la séparation des graines et du jus (Lipitoa et Robertson, 1977).

Les rendements obtenus lors des différentes étapes (Figure 3) sont cependant extrêmement variables selon la variété et surtout l'état de maturité. En effet, lors du mûrissement, le rapport de masse de la peau du fruit sur celui du jus et des graines diminue sensiblement, la teneur en sucre du jus augmente régulièrement tandis que la peau se dessèche et se flétrit au cours de la maturation augmentant d'autant la teneur en jus

#### **I.4. LES PROCEDES D'ELABORATION DES PUREES DE FRUIT**

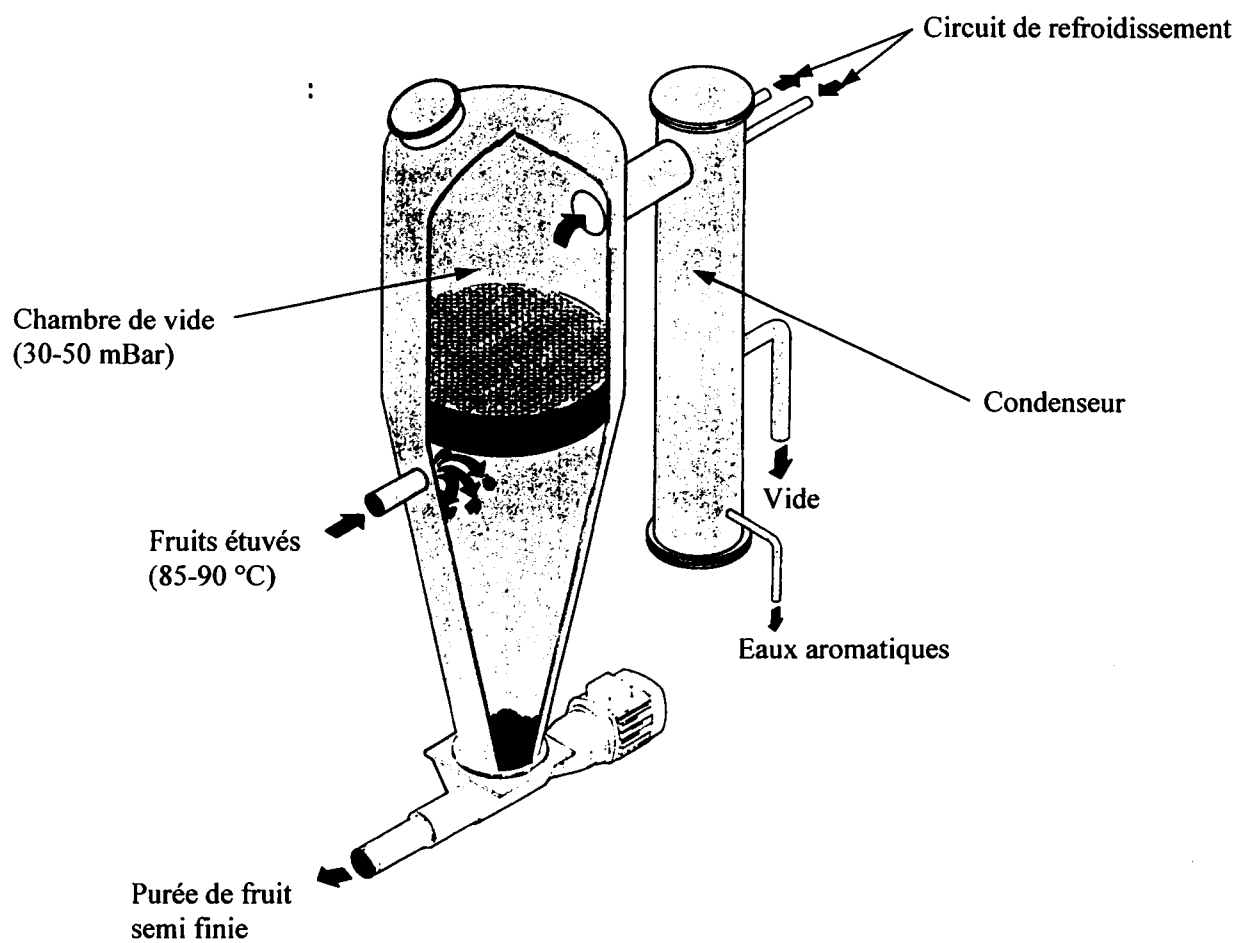
Trois étapes principales (Figure 4) doivent être respectées afin d'obtenir des purées répondant aux normes agro-alimentaires actuellement en cours.

##### **I.4.1. Préparation des fruits**

Les fruits utilisés pour l'obtention des purées doivent être sains, c'est-à-dire que les parties abîmées ne doivent pas représenter plus de 10 % de la masse totale du fruit sous peine de nuire gravement à la qualité finale du produit. Les fruits subissent ensuite une première étape de parage où les feuilles et les pédoncules sont retirés, puis sont lavés afin d'éliminer les différents produits sanitaires utilisés pour conduire la culture (Ollé *et al.*, 2001).

##### **I.4.2. Blanchiment des fruits**

Le blanchiment des fruits est une opération consistant à élever la température des fruits pendant une durée et à une température données. Ce couple (temps/température) doit être adapté à la morphologie de chaque fruit et à la thermorésistance des enzymes présentes dans le milieu. Le blanchiment permet en effet d'inhiber certaines activités enzymatiques qui, mises en contact avec leurs substrats en présence d'oxygène lors de l'étape suivante de raffinage, peuvent dégrader la couleur du produit (brunissement enzymatique) (cf. § III.2., p. 19).



**Figure 5. Schéma du pilote semi-industriel de flash-détente.**

### **I.4.3. Epulpage-raffinage**

Cette étape consiste dans le cas des drupes à séparer le noyau et la peau de la chair et dans le cas des baies à séparer le jus des pépins et de la peau. Le raffinage horizontal sur raffineuse de type Auriol (Marmande, France) consiste à introduire les fruits dans un cylindre rotatif muni d'une grille à perforations de diamètres variables suivant la nature du produit traité. Les pales internes de l'épulpeur entraînées à haute vitesse projettent le fruit contre la grille de tamisage (cf. § I.1.3., p. 48).

## **I.5. LES PROCEDES DE TRANSFORMATION INNOVANTS**

### **I.5.1. Le procédé de flash-détente®**

Le procédé de traitement par Flash-Détente® consiste à chauffer un matériel végétal puis à l'introduire subitement dans une chambre sous vide poussé (Figure 5). Alors la matière végétale «explose» et une fraction de l'eau et des composés d'arôme s'évapore instantanément et est récupérée dans un condenseur. Il fut tout d'abord appliqué par Pieribattesti et Hunez (1984a, 1984b) à l'extraction des jus et des arômes à partir de substrats végétaux puis par Cogat *et al.* (1988) tout en envisageant d'autres applications comme la cuisson ou la distillation. Les jus et les condensats d'évaporation encore appelés eaux aromatiques peuvent être récupérés séparément pour être valorisés indépendamment. Ce procédé nécessitant l'utilisation de vapeur permet donc de récupérer après traitement d'une part un matériel végétal, d'autre part des condensats dus à l'évaporation (cf. § II, p. 49).

Un deuxième brevet dès 1989 (Cogat, 1989) compléta cette première utilisation en révélant les effets dus au vide. Le procédé est alors présenté comme un système fonctionnant en continu permettant de chauffer, de désaérer et de refroidir sous vide l'ensemble des matières organiques solides (fruits, légumes, viandes...). Cet appareillage permet donc d'appliquer un barème thermique strict nécessaire au post-conditionnement des matières organiques, par refroidissement instantané suite à la mise sous vide. Plusieurs effets bénéfiques sont alors révélés comme la limitation du brunissement enzymatique et des pertes vitaminiques mais aussi la récupération possible de condensats aromatiques hautement valorisables.

La vaporisation sous vide puis la récupération d'éléments volatils ou non a fait l'objet d'un troisième brevet (Cogat, 1992). L'invention permet de réaliser par cycle sur un même

matériel l'extraction des fractions aromatiques légères mais aussi des plus lourdes par entraînement à la vapeur d'eau. La possibilité d'une extraction par diffusion en milieu hydroalcoolique de composés spécifiques non volatils suivie d'une désolvatation a également été envisagée dans ce brevet.

Notons qu'un brevet européen (Cogat, 1993a) concernant l'extraction, la concentration et la classification de composés biochimiques par le procédé Flash-Détente® a été déposé dès 1993. Ce brevet, regroupant principalement les revendications antérieures, stipule notamment que cette invention permet grâce à un matériel unique d'effectuer toutes les extractions aussi bien à la vapeur que par des solvants. De même la déstructuration du matériel végétal liée à l'introduction sous vide améliore la diffusion des solvants et permet ainsi d'accroître les cinétiques et les rendements d'extraction. Cette technique nécessite cependant l'utilisation de vapeur exogène généralement proscrite notamment dans l'industrie vinicole ou pour l'obtention de jus de fruits «pur jus».

Un brevet décrivant un dispositif additionnel comprenant une chambre de chauffe par vapeur condensante et une enceinte de vaporisation reliée à un condenseur a été déposé aux niveaux national puis européen en 1993 et en 1994 (Cogat, 1993b ; 1994). Cette technique additionnelle permet d'éviter la dilution du matériel traité par de l'eau exogène mais aussi d'assurer la préconcentration des matières traitées jusqu'à la fin du procédé. En effet, le procédé utilise de la vapeur «biologique» dans lequel les jus d'égouttage ainsi qu'éventuellement les condensats aromatiques sont récupérés, chauffés, vaporisés puis injectés dans la chambre de chauffe.

Deux brevets, national (Cogat, 1995) et international (Cogat, 1996) ont traité de l'imprégnation par ce procédé de matières organiques fibreuses hydratées. L'invention consiste donc à chauffer le matériel végétal hydraté (fruits, bois, légumes, céréales), à le placer sous vide de manière à créer un réseau de micro-canaux, puis à mettre la matière ainsi traitée en contact avec un liquide d'imprégnation et enfin à augmenter rapidement la pression de manière à faire pénétrer le liquide dans les micro-canaux formés.

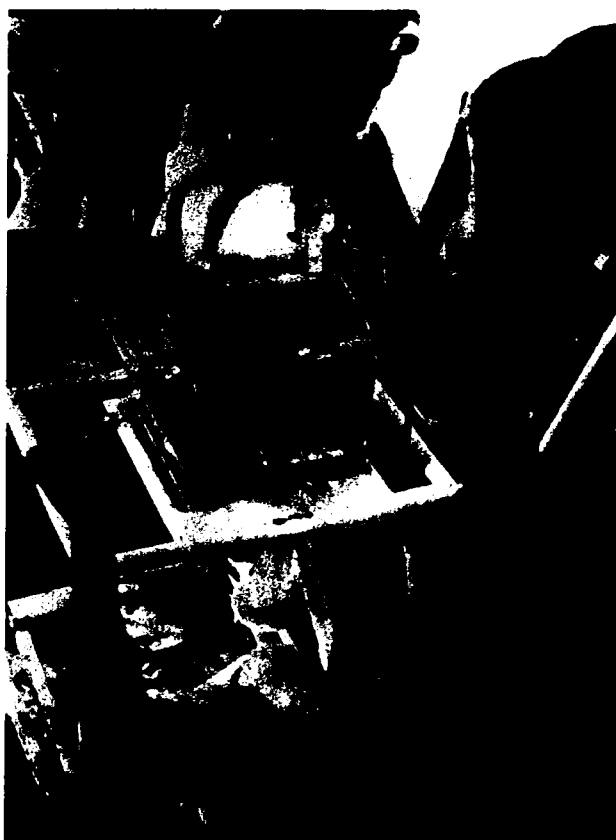
Parallèlement, le procédé de Flash-Détente® a été étudié et appliqué au prétraitement des raisins avant fermentation (Escudier *et al.*, 1993, 1998 ; Ageron *et al.*, 1995). La mise sous vide provoque dans ce cas une désorganisation des tissus pelliculaires de la baie favorisant la libération des composés phénoliques et permettant d'optimiser l'étape suivante de vinification. Les vins obtenus ont alors une teinte beaucoup plus intense et une typicité plus marquée (Moutounet et Escudier, 2000).

Le procédé de Flash-Détente® a été appliqué au stade industriel à d'autres matières végétales. Une unité de production de 40000 tonnes par an de concentré de tomate construite par la société F.M.C. (Food Machinery Corporation, USA) fonctionne en Italie (Anonyme 3, Agridoro, R.I.A.). La couleur du concentré obtenu est plus intense que celle de concentrés traditionnels et présente une viscosité supérieure. Le refroidissement quasi-immédiat autorise de plus un meilleur contrôle de la durée de maintien du produit à la température de consigne de la stérilisation, indépendamment du débit d'alimentation du procédé.

### **I.5.2. Les champs pulsés**

Cette technologie consiste à appliquer au matériel végétal un champ électrique de haute intensité (100 kV/cm) pendant un laps de temps très court (ex. 15 impulsions de 1  $\mu$ s). Ce procédé *non thermique* engendre différents bouleversements au niveau (Anonyme 4, 2001) :

- de la membrane plasmique des cellules,
  - de la flore bactérienne,
  - des activités enzymatiques endogènes.
- électroporation de la membrane plasmique : les chocs électriques successifs appliqués aux fruits ou aux légumes entiers perforent la membrane cytoplasmique cellulaire par dégradation de la double couche phospholipidique. Les fruits ou les légumes prennent alors une apparence spongieuse due à la rupture des cloisons cellulaires et à la perte de cohésion engendrée.
- Ces champs électriques améliorant l'extraction cellulaire du contenu vacuolaire peuvent donc accroître sensiblement l'extractabilité potentielle du jus. Cette technique précédemment testée sur la betterave sucrière, la pomme ou la carotte fournit des résultats très prometteurs : les rendements d'extraction en jus sont très nettement améliorés.
- action sur la flore bactérienne : l'application de 15 impulsions électriques d'une durée de 1  $\mu$ s et d'une intensité de 15 kV/cm permet l'éradication de plus de 99 % des bactéries présentes dans le milieu. Cette action antibactérienne pourrait être directement appliquée à la conservation des jus et purées de fruits en conditionnement aseptique.
  - action sur l'activité enzymatique : les champs pulsés inhiberaient certaines enzymes. Cette inhibition pourrait être due à la modification des structures tertiaire et quaternaire des enzymes ou bien à la modification des cofacteurs rendant alors celles-ci inactives.



**Photo 3. L'extracteur ROZE-SCHOWB (d'après Huet, 1991b).**

### **I.5.3. Les hautes pressions**

Il s'agit d'un traitement *non thermique* consistant à appliquer à un produit (jus, purée,...) pendant un temps très court une pression d'environ 6000 bars. Cette très haute pression provoque la destruction de la quasi-totalité de la flore microbienne endogène et autorise ainsi des temps de conservation élevés. Il s'agit donc d'une alternative à la pasteurisation, procédé thermique engendrant des pertes d'arômes conséquentes.

## **I.6. LES PROCEDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES**

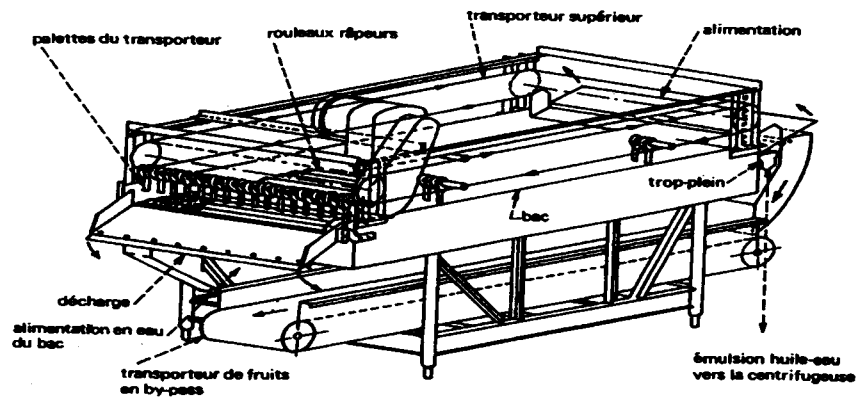
Seuls les procédés les plus couramment utilisés seront mentionnés. La qualité des huiles obtenues ainsi que les rendements diffèrent selon les nombreux procédés d'extraction utilisés (pression, grattage, centrifugation, distillation...). Paradoxalement, la dénomination «huiles par pressage à froid» («cold-pressed oil») se réfère aux huiles obtenues par l'ensemble de ces procédés alors qu'il s'agit en fait d'expression à froid sans passer spécifiquement par un pressage du matériel végétal.

### **I.6.1. Les procédés manuels**

Ces procédés ne nécessitent que très peu d'investissements et sont donc utilisés en majorité dans les pays en voie de développement. Le *procédé à la cuillère* (Huet, 1991b) consiste simplement à utiliser une cuillère affûtée pour recueillir des fragments de flavedo duquel seront séparées les huiles par décantation dans des récipients à l'abri de la lumière. Ce procédé utilisé jusque dans les années 1960 autorise des rendements de 4,5 l par tonne de citrons. Le *procédé à l'éponge* utilisé principalement pour recueillir les huiles essentielles de citron consiste à presser le fruit manuellement puis à récupérer les huiles qui s'écoulent à l'aide d'une éponge. Les fruits auront été immergés dans l'eau éventuellement chauffée afin d'augmenter la pression de turgescence à l'intérieur des glandes à huile.

### **I.6.2. Les procédés semi-industriels**

Le *procédé ROZE-SCHWOB* est une amélioration de la *machine à aiguille* consistant à faire tourner l'agrumes et à appliquer une aiguille blessant régulièrement le flavedo. Les huiles essentielles mêlées de sérum s'échappent dans un brouillard et sont récupérées dans le cas du procédé Roze-Schwob par un condenseur placé au bout de l'aiguille (Huet, 1991b). Ces procédés comportent néanmoins des inconvénients majeurs comme



**Figure 6. Schéma de l'extracteur BROWN (d'après Huet, 1991b).**



l'impossibilité d'automatiser le procédé du fait des difficultés de centrage du fruit (Photo 3) mais aussi du grattage de l'albedo qui absorbe les huiles et réduit de manière considérable le rendement d'extraction.

Citons aussi la *machine CALABRESE* qui consiste à placer le fruit entier sur une coupelle fixe hérissée de piquants et à tourner les fruits au moyen d'une coupelle supérieure éventuellement animée par un moteur électrique.

### **1.6.3. Les procédés industriels**

Seuls quelques uns de ces procédés seront ici présentés :

- les *machines pelatrices* comme l'*extracteur BROWN* (Figure 6), la *pelatrice SPECIALE* ou le *Polycitrus INDELICATO* fonctionnent sur des principes similaires. Les fruits sont convoyés par des rouleaux perpendiculaires ou parallèles au trajet du fruit. Simultanément, la surface abrasive de ces rouleaux permet de râper le flavedo provoquant ainsi un éclatement des glandes et la libération des huiles essentielles (Shaw et Nagy, 1993b). Les huiles sous forme d'émulsion sont filtrées puis récupérées par décantation et centrifugation. Notons que les fruits sont immergés dans le cas d'un *extracteur BROWN* alors qu'ils sont simplement aspergés d'eau dans les autres procédés impliquant des coûts de fonctionnement nettement inférieurs.

- le fonctionnement des *machines sfumatrices* repose sur le principe de l'extraction à l'éponge. Dans le cas de la *sfumatrice BROWN*, les demi-écorces sont convoyées sur un tapis cannelé et pliées par pression contre une grille perforée placée très près du tapis. Pour la *sfumatrice INDELICATO*, les fruits entiers sont convoyés le long d'un tapis vibrant recouverts de petites pointes («lits de fakir») et aspergés d'eau.

- l'*extracteur F.M.C.*, même si son but premier est l'extraction de jus d'agrumes (cf. § I.2., p. 4), permet de récupérer les huiles essentielles d'agrumes. En effet, une aspersion d'eau simultanée lors de l'étape de pressage permet de récupérer avec des rendements importants une émulsion eau/huile. Des rendements de l'ordre de 0,6 l par tonne de pomelos peuvent être obtenus avec ce procédé, un des plus couramment employés pour l'extraction des huiles essentielles d'orange, de citron ou de pomelo.

#### ***- l'entraînement à la vapeur et la purification***

Ce procédé appelé à tort «distillation» consiste à entraîner les composés volatils à la vapeur d'eau. Elle permet de séparer à 100°C et donc à pression atmosphérique des

composés dont le point d'ébullition varie entre 160 (composés oxygénés) et 300°C (sesquiterpènes). La plupart de ces composés sont thermosensibles et se décomposeraient avant d'atteindre leur température d'ébullition (distillation classique). L'entraînement à la vapeur induit, contrairement à l'expression à froid, certaines dégradations notamment au niveau des aldéhydes (citrал, decanal...) et des esters, composés primordiaux dans la définition du profil aromatique du produit (Azzouz et Reineccius, 1976)

Les hydrocarbures terpéniques représentent plus de 90 % des huiles essentielles d'agrumes mais ne participent que faiblement au profil aromatique du produit et sont de plus insolubles dans l'eau. Ces huiles sont donc fréquemment soumises à une déterpénation par différentes méthodes comme la rectification (basée sur la différence de température d'ébullition des différentes familles de composés aromatiques) ou la chromatographie liquide-solide (basée sur la différence de polarités des composés à séparer).

## **II. RHEOLOGIE DES JUS ET DES PUREES DE FRUITS**

La rhéologie est une science appartenant au domaine de la physique et traitant des relations temporelles entre les forces et les déformations qu'elles engendrent. Si l'influence des traitements thermiques et mécaniques sur le comportement rhéologiques de différents matériels végétaux a été régulièrement mise en avant (Ilker et Szczesniak, 1990), les déformations et les mouvements de flux caractéristiques à chaque matière solide ou liquide doivent être modélisés afin de connaître les propriétés rhéologiques des jus et des purées. Ces paramètres revêtent une importance primordiale dans l'évaluation de la qualité d'une boisson et ont donc une influence directe sur les caractéristiques sensorielles et sur les applications technologiques et industrielles.

### **II.1. LA CONSISTANCE**

La consistance est une notion s'appliquant uniquement aux fluides visqueux et ne peut en aucun cas s'appliquer à des boissons liquides (jus, nectars,...). Elle est traditionnellement déterminée par le biais d'un consistomètre de Bostwick (cf. § III.22 , p. 63) permettant de mesurer la distance parcourue par un fluide visqueux à une température de 20 °C sous l'effet de son propre poids et ce pendant un temps donné (30 secondes)

(Askar et Treptow, 1993b). Le système parfaitement horizontal muni d'une porte à guillotine permet l'écoulement instantané du fluide visqueux qui est directement proportionnel à la consistance du produit. Suivant ce principe, l'amplitude d'écoulement diminue exponentiellement avec la teneur en pulpe, celle-ci étant limitée à environ 15 % des solides totaux contenus dans le fluide (Marsh *et al.*, 1977). Malgré cette limite, le consistomètre de Bostwick a montré être parfaitement adapté au contrôle de la qualité de purées de fruits et de légumes.

Notons cependant, l'existence de nombreux autres instruments permettant d'évaluer la consistance comme le consistomètre Adams, le viscosimètre Stormer, le viscosimètre à tube d'écoulement ou le test de Blotter (Davis et Dewesse, 1954 ; Rao et Bourne, 1977). Si la mesure de la consistance par un appareil de type consistomètre paraît au premier abord assez empirique, elle reste une mesure fiable et significative puisque Takada et Nelson (1983) ont réussi à corrélérer étroitement la consistance mesurée avec un consistomètre avec le poids de culot obtenu après centrifugation d'une purée de tomate à 12880 g pendant 30 minutes à 4 °C.

## II.2. LA TEXTURE

La texture représente l'ensemble des propriétés rhéologiques et de structure (géométriques et de surface) perçues par les mécanorécepteurs, les récepteurs tactiles et éventuellement auditifs et visuels. Elle regroupe donc l'ensemble des propriétés physiques comme la déformation, la souplesse, la rugosité, l'aspect fibreux ou spongieux principalement appréhendées par les yeux, les doigts mais aussi par les muscles de la cavité buccale (Matz, 1962). Même si cette définition paraît au premier abord simpliste, elle prend en compte des notions essentielles comme la forme, la taille, la température et la force de friction permettant de qualifier objectivement une purée.

La texture est directement corrélée aux proportions relatives des différents tissus constitutifs du fruit. Les tissus parenchymateux participent majoritairement à la texture d'un jus ou d'une purée dans lequel la taille et la forme des cellules, le volume du cytoplasme, l'épaisseur des parois mais aussi l'espace intercellulaire des cellules du parenchyme (Loh *et al.*, 1982) entraîneront des caractéristiques rhéologiques spécifiques. Les rigidités relatives de la paroi primaire et de la lamelle moyenne entraînent enfin des comportements radicalement différents lors de la mastication. Dans le cas d'une pomme de bonne qualité où la lamelle moyenne est plus solide que la paroi primaire, la mastication

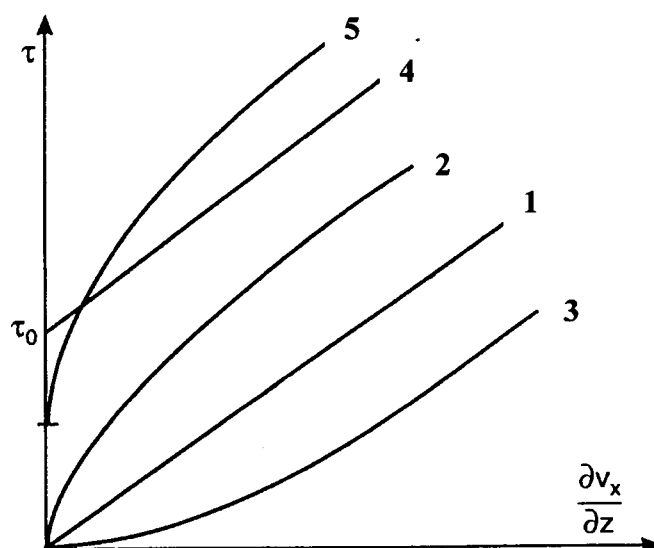
entraînera l'écoulement de l'eau contenue dans le cytoplasme et la perception sensorielle sera celle d'un jus.

Même si la définition de la texture semble ambiguë, les différents modèles proposés restent proches et sont directement corrélés au couple force/sensation. Kramer (1951; 1959) et Ball *et al.* (1957), puis de nombreux auteurs plus récemment, ont essayé de lever l'ambiguïté quant à la définition de la texture. Dans tous les cas, cette *définition* ainsi que les adjectifs utilisés doivent correspondre à 4 principaux critères :

- (1) la *définition* doit décrire une caractéristique qui ne soit pas comprise dans les propriétés physiques classiquement utilisées pour un jus ou une purée comme la fragilité et la nature juteuse de la boisson,
- (2) la *définition* doit être en strict accord avec la définition du dictionnaire (une texture moelleuse correspond à un produit agréable au toucher mais aussi élastique),
- (3) la caractéristique doit apporter un élément descriptif important et incontournable qui justifie pleinement son utilisation,
- (4) les différentes caractéristiques utilisées pour la *définition* de la texture doivent être impérativement corrélées entre elles ainsi qu'à la définition.

Les propositions concernant la classification des différentes textures sont nombreuses dans la littérature mais dans le cas des jus et des purées, il semble plus opportun d'utiliser une classification en accord avec les perceptions sensorielles. En effet, même si la dimension d'évaluation de la texture est beaucoup plus restreinte que celle du goût ou de l'odeur (les descripteurs sont relativement peu nombreux), il est possible comme dans la purée de poire ou de goyave de combiner les notions structurelles (dureté des cellules paires donnant une sensation rugueuse) et sensorielles (élasticité). Il devient dans ce cas plus aisé d'établir une classification qui sera utilisée tout au long de ce chapitre :

- (1) liquide : viscosité (la viscosité étant la principale caractéristique de ce liquide,
- (2) gels : élasticité,
- (3) fibreux : fibres macroscopiques nettement perceptibles,
- (4) agglomérats de cellules dans lesquels les cellules exercent les propriétés physiques majoritaires,
- (5) onctueux : substances grasses,
- (6) structure friable : brisée en particules irrégulières dès le début de la mastication,
- (7) aliments glacés : durs,
- (8) agglomérats de vésicules vaporeuses et spongieuses,



**Figure 7. Evolution de la tension de cisaillement ( $\tau$ ) en fonction de la vitesse de cisaillement ( $dV_x/dz$ ) dans les différents modèles rhéologiques (d'après Bimbenet et Loncin, 1995).**

- Légende :**
- 1 - comportement newtonien
  - 2 - comportement rhéofluidifiant
  - 3 - comportement rhéoépaississant
  - 4 - seuil d'écoulement
  - 5 - pseudoplastique

(9) combinaisons des structures précédentes : pas de nette dominante.

Les études de texture sont donc directement corrélées aux mesures rhéologiques et en particulier à l'évaluation des propriétés mécaniques d'un aliment.

### II.3. LA VISCOSITE

Si les deux premières notions présentées ci-dessus restent relativement ambiguë quant à leur définition, la viscosité est parfaitement définie puisqu'elle représente la résistance frictionnelle qu'un fluide oppose à une tension de cisaillement (Bimbenet et Loncin, 1995). Le dispositif instrumental le plus courant consiste en deux cylindres coaxiaux entre lesquels on place le corps à étudier. En faisant tourner un cylindre, on mesure le couple qui permet de calculer la contrainte de cisaillement ( $\tau$ ) ; d'autre part la vitesse de rotation ( $d\gamma/dt$ ) permet de calculer la valeur moyenne du module de la composante du gradient de la vitesse.

Les jus clairs de pomme ou de raisin ainsi que le sérum de jus d'orange (jus sans pulpe) ont des comportements newtoniens (courbe 1, Figure 7), c'est-à-dire qu'ils répondent à l'équation linéaire de Newton :

$$\tau = \eta \times (d\gamma/dt)$$

- $\tau$  : tension de cisaillement (Pa)
- $\eta$  : viscosité apparente (Pa.s)
- ( $d\gamma/dt$ ) : vitesse de cisaillement ( $\text{rad. s}^{-1}$ )

L'étude de ces corps présente une importance considérable pour l'industrie alimentaire du fait, entre autres raisons, de la relation entre les caractéristiques rhéologiques des produits et leur perception sensorielle par les consommateurs.

On distingue quatre autres types de comportement rhéologique décrivant l'évolution de la tension de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement (Bimbenet et Loncin, 1995) (Figure 7) :

\*comportement *rhéofluidifiant* (courbe 2 ; ex. alginate de sodium à 3 %) : la viscosité apparente  $\eta$  obtenue par le rapport  $\tau/(d\gamma/dt)$  est de l'ordre de 1 Pa.s aux basses vitesses et tend vers 0.1 Pa.s aux vitesses élevées. La plupart des solutions aqueuses de biopolymères rencontrées dans l'industrie alimentaire ont un comportement rhéofluidifiant.

\*comportement **rhéoépaississant** (courbe 3 ; cas de l'amidon dans l'eau mais rarement retrouvé dans l'alimentaire) : il s'agit du comportement inverse du comportement rhéofluidifiant.

Ces 2 comportements peuvent souvent être approximatés par le modèle d'Ostwald-de-Waele :

$$\tau = b \times (d\gamma/dt)^s$$

avec des valeurs de l'exposant  $s$  différentes pour chaque produit :

- purée de bananes : 0,28 à 0,46
- pulpe et sauce de pomme : 0,084 à 0,47
- purée de tomate : 0,25 à 0,55
- mayonnaise : 0.54 à 0.59
- miel liquide : 1,00

\*il arrive également que l'écoulement ne se produise qu'à partir du moment où la contrainte dépasse un seuil  $\tau_0$  appelé seuil d'écoulement (courbe 4). Dans ce cas les corps sont dits **viscoplastiques** et le modèle le plus simple est appelé **plastique de Bingham** correspondant à un comportement newtonien au-delà du seuil d'écoulement.

\*la plupart des suspensions à très faibles teneurs en pectines solubles rencontrées dans l'industrie alimentaire présentent un seuil mais ne sont pas de véritables plastiques de Bingham (Lozano et Ibarz, 1994). Ce sont des **pseudoplastiques** (courbe 5) et leur comportement peut souvent être décrit de façon satisfaisante par les modèles de Casson ou de Herschel-Bulkley (Bimbenet et Loncin, 1995). Notons certaines valeurs de  $\tau_0$  obtenues en utilisant ce modèle (Midoux, 1993) :

- jus d'orange concentré : 5 Pa
- pâte de chocolat : 15 Pa
- pâte de tomates : 30 Pa

Ces modèles se heurtent toutefois souvent à des problèmes d'anisotropie des matières végétales (orientation des fibres) et d'hétérogénéité qu'il est difficile de prendre en compte lors des calculs.

## II.4. CONSTITUANTS ET FACTEURS TECHNOLOGIQUES AFFECTANT LA RHEOLOGIE DES JUS ET PUREES

### II.4.1. Teneur en pulpe et en pectines solubles

La pulpe en suspension dans les fluides contenant des matières insolubles (jus, nectars, purée) est indispensable car elle joue un rôle de premier plan au niveau organoleptique. La

filtration de boissons comme le jus de tomate, d'abricot, d'ananas, les nectars de poire ou de pêche, fournit des liquides limpides ayant perdu la plus grande partie de leur saveur, de leur couleur, et de leur arôme et ne répondent plus à ce qu'en attend le consommateur. En effet la pulpe, principalement constituée de parois cellulaires (voir de cellules entières dans les agrumes), mais aussi, suivant la nature du fruit, de fibres, de débris de peaux et de matières colloïdales partiellement précipitées (pectines liées au parois cellulaires, protéines) constitue un réseau rétenteur de composés d'arôme.

Il est donc essentiel de pouvoir déterminer avec exactitude la teneur en pulpe dans une boisson. Dupaigne en 1967 a fixé une norme couramment employée de nos jours consistant à centrifuger le jus pendant 10 minutes à 360 g. Le jus trouble et la pulpe sont alors aisément séparés. Le trouble principalement constitué de pectines et de protéines peut à son tour être récupéré par centrifugation à 27000 g pendant 15 minutes (Yen et Lin, 1998).

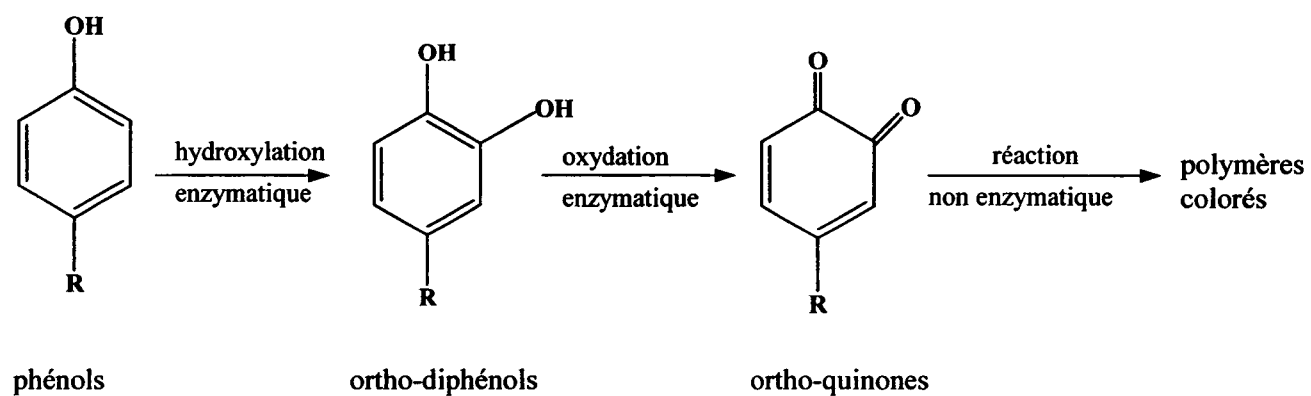
Au contraire, dans les purées, il n'existe pas de norme clairement définie. Takada et Nelson (1983) ont montré qu'il était théoriquement toujours possible de corréler la masse de pulpe et le volume occupé par celle-ci. Ainsi les vitesses et les temps de centrifugation varient sensiblement pour obtenir une séparation nette entre le culot (la pulpe) et le surnageant (jus trouble) (10 min à 13400 g pour de la compote de pomme, 45 min à 11700 g pour le concentré de tomate).

La contrainte de cisaillement («shear rate») et le seuil d'écoulement («yield stress») de ces purées rhéofluifiantes sont directement liés au rapport masse de pulpe/masse totale de l'échantillon (Qiu et Rao, 1988) mais aussi à la taille moyenne des particules dans l'échantillon. De même, Tanglertpaibul et Rao (1987a,b) ont réussi à corréler les caractéristiques rhéologiques d'un concentré de tomate avec la teneur en pectines solubles dans le sérum. Brat *et al.* (2001) ont réussi à corréler la viscosité d'une purée de fruit de la passion avec sa teneur en matériel insoluble dans l'alcool (M.I.A.). La viscosité de la purée est dans ce cas directement proportionnelle à la teneur en polysaccharides solubles et pariétaux ainsi qu'à la teneur en amidon dans le produit.

#### **II.4.2. Influence des traitements thermiques et mécaniques sur les caractéristiques rhéologiques des produits**

La texture et la viscosité d'un milieu sont intimement liées à la rigidité, à l'épaisseur et à la constitution des parois cellulaires et de la lamelle moyenne des cellules végétales. Ainsi, tout traitement thermique d'un matériel végétal (chauffage, décongélation, séchage par air





**Figure 8. Schéma d'oxydation des composés phénoliques  
(d'après Mathew et Parpia, 1971).**

chaud) impliquera une perte de rigidité des parois cellulaires, une solubilisation accrue des pectines et donc un ramollissement du fruit (Reeve, 1970). Huang et Bourne (1983) ont attribué ce ramollissement à deux effets conjoints : (1) les polysaccharides pectiques constitutifs de la paroi et surtout de la lamelle moyenne participent à plus de 90 % à la rigidité et ceux-ci sont en partie solubilisés lors du chauffage ; (2) d'autres mécanismes non encore identifiés interviennent et sont responsables de la fermeté du produit après un chauffage prolongé. Les contraintes mécaniques appliquées pendant le raffinage des fruits ont de même une influence directe sur la texture et la viscosité finale du produit (Rao *et al.*, 1986). Suivant la finesse du raffinage et le type de fruit, la purée aura une texture fine, rugueuse, ou pâteuse.

### **III. LES PHENOMENES DE BRUNISSEMENT DANS LES JUS ET PUREES**

#### **III.1. LE BRUNISSEMENT ENZYMATIQUE**

L'étape d'épulpage-raffinage, comme vu précédemment, entraîne :

- une mise en contact des enzymes (polyphénoloxydases, peroxydases) avec leurs substrats du fait de la décompartimentation cellulaire engendrée par le procédé,
- une mise en contact des tissus avec l'oxygène de l'air qui intervient aussi dans les réactions enzymatiques.

Ces phénomènes d'oxydation (Figure 8) influant sur la couleur finale du produit s'observent principalement chez les végétaux riches en composés phénoliques et donnent lieu à la formation de polymères colorés. Notons cependant que d'autres types de brunissement enzymatique impliquent l'action de lipoxygénases sur les acides gras polyinsaturés et donnent lieu à la formation d'aldéhydes et d'alcools à longues chaînes pouvant donner au produit final des notes vertes et herbeuses parfois désagréables.

#### **III.2. LE BRUNISSEMENT NON ENZYMATIQUE**

Ces phénomènes encore appelés réaction de Maillard (Hodge, 1953) apparaissent lors du chauffage ou de la conservation du produit et sont le résultat de réactions entre un groupement carbonyle, issu principalement des sucres réducteurs, et une fonction amine d'acides aminés qui jouent le rôle de catalyseur. Ces réactions revêtent une importance

considérable dans l'industrie agro-alimentaire puisqu'elles s'accompagnent de la formation de composés bruns (Friedman, 1996) et de la modification de la flaveur des aliments (Danehi, 1986). Ces réactions peuvent d'autre part avoir un effet négatif du point de vue nutritionnel du fait de la dégradation d'acides aminés, mais aussi entraîner une modification du pH ou même l'apparition d'un pouvoir oxydo-réducteur dans le produit.

Les conséquences de la réaction de Maillard sont donc multiples et conduisent non seulement à la formation d'hétérocycles oxygénés de type furfural mais aussi de pyrazines (Amrami-Hemaimi *et al.*, 1995) ou de dérivés pyrrole.

Les facteurs influençant la réaction de Maillard sont divers. Citons pour exemple que :

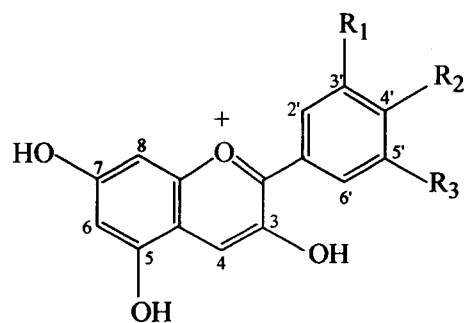
- les acides aminés les plus basiques (ex. lysine) réagissent plus rapidement,
- les pentoses réagissent plus rapidement que les hexoses et entraînent un brunissement plus important, de même que les oses simples vis-à-vis des diosides,
- concernant les facteurs externes (Renn et Sathe, 1997), un pH basique, une température élevée pendant un temps court ou inversement entraîneront aussi un brunissement du produit.

Notons enfin que la diminution de la teneur en oxygène par un traitement sous vide semble ralentir la cinétique d'oxydation du produit et par là-même permettre une plus grande stabilité de la couleur dans le temps.

## IV. LA MATIERE COLORANTE DES FRUITS

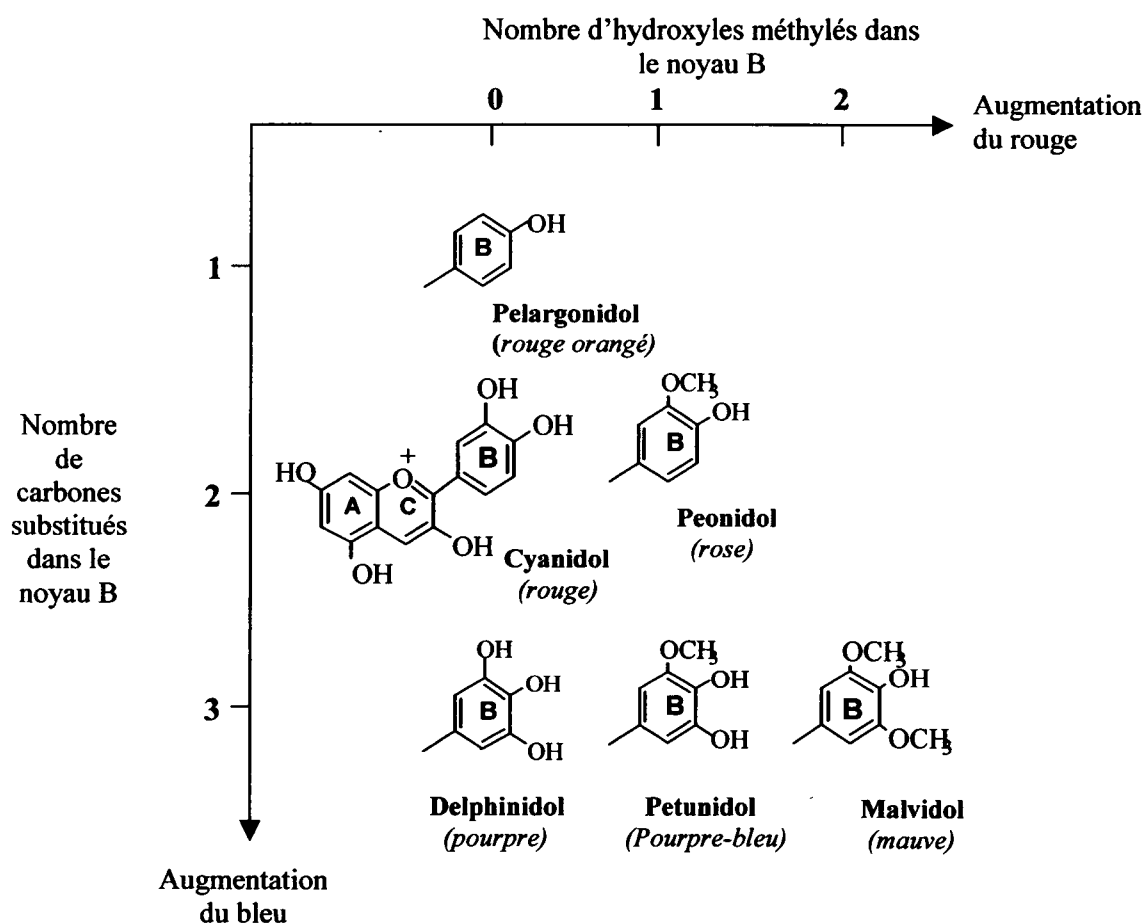
### IV.1. LES ANTHOCYANES

Les anthocyanes ou anthocyanosides sont des pigments responsables de la couleur rouge, bleue ou violette de nombreux fruits et légumes (raisin, cerise, choux rouge...). Ces molécules, majoritairement présentes dans la vacuole des cellules de l'épicarpe et du mésocarpe des fruits (Brouillard, 1983; Davies et Mazza, 1993) sont constituées d'un aglycone de type flavonoïde, l'*anthocyanidol*, et d'une partie glucidique. Plus de 300 structures différentes ont été répertoriées dans la littérature.



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
pélargonidol	H	OH	H
cyanidol	OH	OH	H
delphinidol	OH	OH	OH
péonidol	OCH <sub>3</sub>	OH	H
pétunidol	OCH <sub>3</sub>	OH	OH
malvidol	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>

**Figure 9. Structures chimiques des principaux anthocyanidols (C6-C3-C6)**  
(d'après Timberlake et Bridle, 1975).



**Figure 10. Relation entre la couleur du cation flavylium des anthocyanidols et les degrés d'hydroxylation et de méthylation dans le noyau B.**

#### IV.1.1. Les anthocyanidols

Les anthocyanidols sont des composés phénoliques caractérisés par la présence de l'enchaînement structural C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Parmi les plus fréquents, citons le pélagonidol, le cyanidol, le péonidol, le delphinidol, le pétunidol et le malvidol. Ces composés diffèrent suivant le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxyle (Figure 9) sur les carbones 3', 4' et/ou 5' (Timberlake et Bridle; 1975). Ces substitutions ont suivant leur position un effet bathochrome ou hypsochrome (augmentation ou diminution de la longueur d'onde du maximum d'absorption) entraînant des variations sensibles de couleur allant du rosé au pourpre intense (Figure 10).

Les positions 5, 6 et 7 peuvent cependant aussi être méthoxylées ou hydroxylées et fournir des molécules comme le pulchellidol (méthoxylation en C<sub>5</sub>) ou l'aurantinidol (hydroxylation en C<sub>6</sub>) (Strack et Way, 1994). Les anthocyanidols sont caractérisés par leur grande instabilité en solution (Piffaut *et al*, 1994) et seule la glycosilation et les possibilités d'acylation de ces glucosides permettent de stabiliser le cation flavylum (Timberlake, 1981).

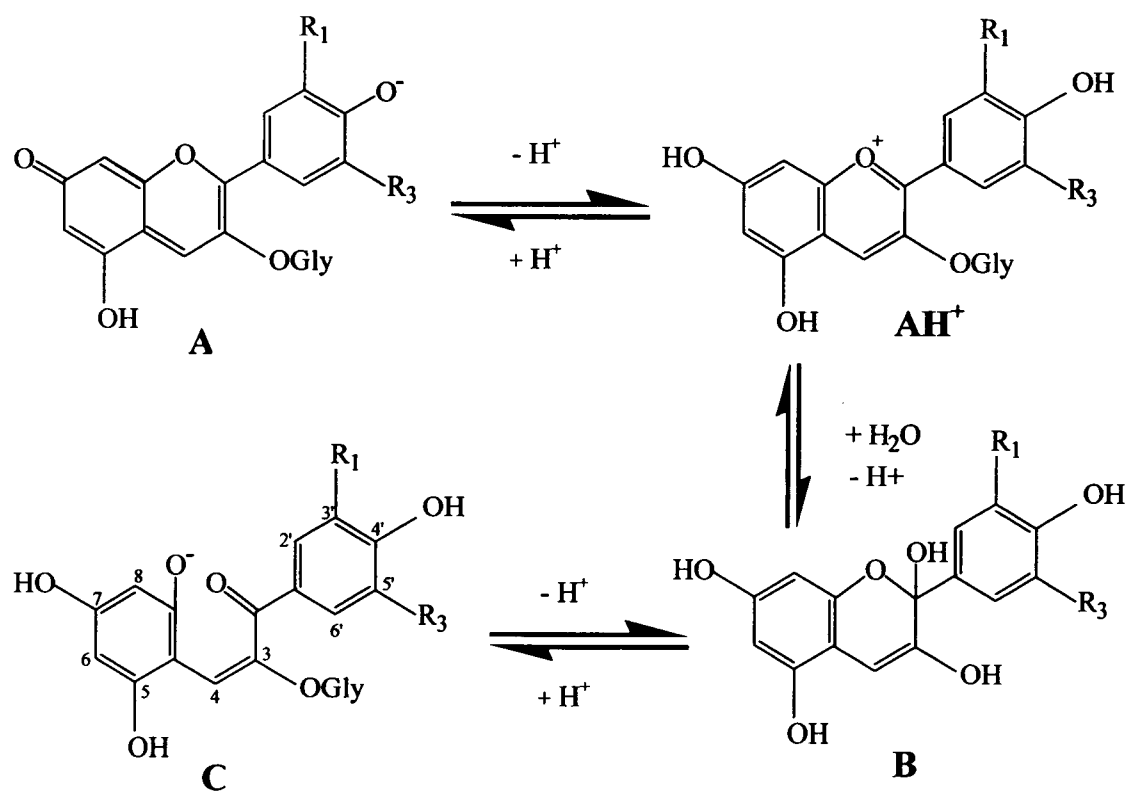
#### IV.1.2. La partie glucidique

Si la position 3 de l'anthocyanidol est le plus souvent glycosylée, les formes 3-glycosides d'anthocyanidol peuvent être aussi glycosilées en position 5, 7, 3' et 4' (Mazza et Brouillard, 1990). Le  $\beta$ -D-glucose est l'ose majoritairement impliqué dans les liaisons avec les anthocyanidols, mais le  $\beta$ -D-galactose, l' $\alpha$ -L-arabinose, le  $\alpha$ -L-rhamnose et le  $\beta$ -D-xylose sont aussi fréquemment rencontrés sous formes de monomères, de disaccharides, voire de trisaccharides.

Notons enfin que la partie glucidique est fréquemment acylée par des acides *p*-coumarique et férulique (Brouillard, 1982).

#### IV.1.3. Les différentes formes d'anthocyanes

Il existe en fait 4 formes d'anthocyanes différentes par la structure de leur noyau anthocyanidol et dont les proportions relatives sont influencées par les conditions du milieu comme la température, le pH ou la nature et les concentrations des solvants (Timberlake et Bridle, 1975). L'anthocyanidol peut donc se trouver sous forme de : cation flavylum (rouge), de base quinonique (bleue), de base carbinol (incolore) ou de chalcone (incolore) (Figure 11). Dans la majorité des fruits, le pH se situant à une valeur inférieure à 4, la



**Figure 11. Les différentes formes d'anthocyanes. A base quinonique (bleue); AH<sup>+</sup> cation flavylium (rouge); B carbinol (incolore); C chalcone (incolore); Gly : résidu glycosyle (d'après Brouillard et Delaporte, 1977).**

forme majoritaire est alors le cation flavylum rouge. Une remontée du pH du milieu par ajout de base concentrée entraîne un virage de la couleur du rouge au bleu-violet.

Enfin, d'autres molécules présentes dans les fruits comme les polysaccharides, les métaux, les acides aminés ou les acides organiques peuvent s'associer avec les anthocyanes pour conférer à ces molécules une plus grande stabilité vis-à-vis des conditions extérieures et en particulier du pH du milieu. Ce phénomène de co-pigmentation a une influence primordiale quant à la couleur des fruits et de leurs produits dérivés (Mazza et Miniati, 1993).

#### **IV.1.4. Les anthocyanes du fruit de la passion**

Au sein de la famille des *Passifloraceae*, les anthocyanes contribuent de façon spectaculaire à la couleur des fleurs mais aussi des fruits. Les anthocyanes responsables de cette couleur ont fait l'objet d'une certaine controverse : Pruthi (1961b) attribua la couleur pourpre de la face externe du mésocarpe des fruits de la passion (*Passiflora edulis* Sims), à la présence majoritaire d'un 3,5'-di-glucoside de pélargonidol tandis que Harborne (1967) ne détecta que du 3-glucoside de delphinidol. Enfin, Ishikura et Sugahara (1979) attribuèrent cette couleur pourpre caractéristique à la présence de 3-glucoside de cyanidol. Plus récemment, Kidoy *et al.* (1997) en utilisant la résonance magnétique nucléaire (R.M.N.) ont trouvé une proportion de 97 % de 3-glucoside de cyanidol et des traces de 3-glucoside de pélargonidol dans la peau de fruit de la passion pourpre.

#### **IV.1.5. Extraction des anthocyanes**

Les techniques d'extraction les plus fréquemment mises en oeuvre reposent sur la polarité des anthocyanes et donc leur solubilité dans les solvants polaires. Ces extractions se déroulent en milieu acidifié afin de mettre les anthocyanes sous forme de cation flavylum. En effet un pH trop élevé pourrait conduire à une évolution de la couleur de l'extrait suite à un déplacement de l'équilibre vers des formes quinoniques instables.

Kidoy (1997) ou Rivera-Lopez *et al.* (1999) utilisent le méthanol acidifié avec de l'acide trifluoroacétique à 2 % ou de l'acide chlorhydrique à 1 %. Notons que ces auteurs ne mènent pas ces extractions à l'abri de la lumière pourtant susceptible de dégrader les anthocyanes. L'extraction peut aussi être menée avec de l'acétone sur un broyat d'écorces de fruits pendant 1 nuit à 5 °C. L'extrait acétonique est ensuite lavé au chloroforme puis évaporé à sec (Ordaz-Galindo, 1999).

**Tableau 2. Teneur<sup>a</sup> en caroténoïdes de différents fruits  
(d'après Heinonen *et al.*, 1989; Khachik *et al.*, 1989).**

	$\alpha$ -carotène	$\beta$ -carotène	$\beta$ -cryptoxanthine	lutéine	lycopène
pomme	-	12	-	48	-
poire	-	17	nd	110	-
orange	19	38	nd	27	nd
mandarine	20	38	nd	20	nd
raisin	-	33	nd	72	-
pêche	-	86	51	14	nd
banane	12	14	-	3	-
avocat	19	34	38	320	nd
kiwi	-	43	4	180	-
pastèque	-	230	nd	14	4500
prune	nd	430	nd	240	-
ananas	-	10	30	-	-
fraise	-	9	-	31	-
citron	-	3	nd	12	-

<sup>a</sup>µg/100g matière fraîche. (-) < 0,5µg/100g. nd = non détecté.



Ces extractions peuvent être réalisées par adsorption préalable sur colonne C<sub>18</sub> : les sucres et les acides organiques, les composés phénoliques les moins polaires, et les anthocyanes sont élués successivement par de l'eau acidifiée (HCl 0,1 %), de l'acétate d'éthyle et du méthanol acidifié (HCl 0,1 %) (Giusti *et al.*, 1999).

#### IV.2. LES CAROTENOÏDES

De récentes études épidémiologiques ont réussi à corréler la consommation de certains aliments avec une baisse sensible de certains cancers humains (Ness et Powles, 1997 ; Steinmetz et Potter, 1996). Les caroténoïdes constituent en effet une classe particulière de composés isoprénoïdes particulièrement insaturés et en ce sens fortement capteurs de radicaux libres (propriétés anti-carcinogènes). Puisque la famille des caroténoïdes représente une partie notable des micro-nutriments, celle-ci a fait l'objet de nombreuses études, non seulement pour ses qualités de pigmentation naturelle mais aussi pour son rôle nutritionnel (Leonard *et al.*, 1986; Olson, 1989).

Les fruits et les légumes contiennent différents types (plus de 600) et quantités de caroténoïdes et la littérature concernant cette classe de composés est importante (Bushway, 1986 ; Hart et Scott, 1995 ; Wilberg et Rodriguez-Amaya, 1995). L'apport journalier recommandé en  $\beta$ -carotène, précurseur de la vitamine A, s'étale chez l'adulte entre 5 et 25000 Unités Internationales (U.I.) (Davignus *et al.*, 1997 ; Albanes, 1999). Parmi les ressources alimentaires les plus riches en  $\beta$ -carotène, les carottes, les patates douces ou les épinards, avec plus de 8000 U.I./100 g, couvrent largement les apports journaliers recommandés. Parmi les fruits, notons les fortes teneurs respectives en lycopène et en  $\beta$ -carotène de la pastèque et de la prune (Tableau 2).

Le lycopène appartient aussi à la classe des hydrocarbures caroténoïdiques et possède le plus grand nombre de doubles liaisons conjuguées de tous les caroténoïdes. Ce grand nombre d'insaturations conjuguées confère à cette molécule des capacités reconnues de captation des radicaux libres (Clinton, 1998). Elle prévient ainsi l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) et réduit donc les risques cardio-vasculaires. Parmi les fruits à teneur élevée en lycopène, citons la tomate et le pomelo rosé qui en contiennent environ 3 mg/100 g, le melon d'eau et la papaye avec 4 mg/100 g et la goyave rose ou la pâte de tomate avec 5 mg/100 g.

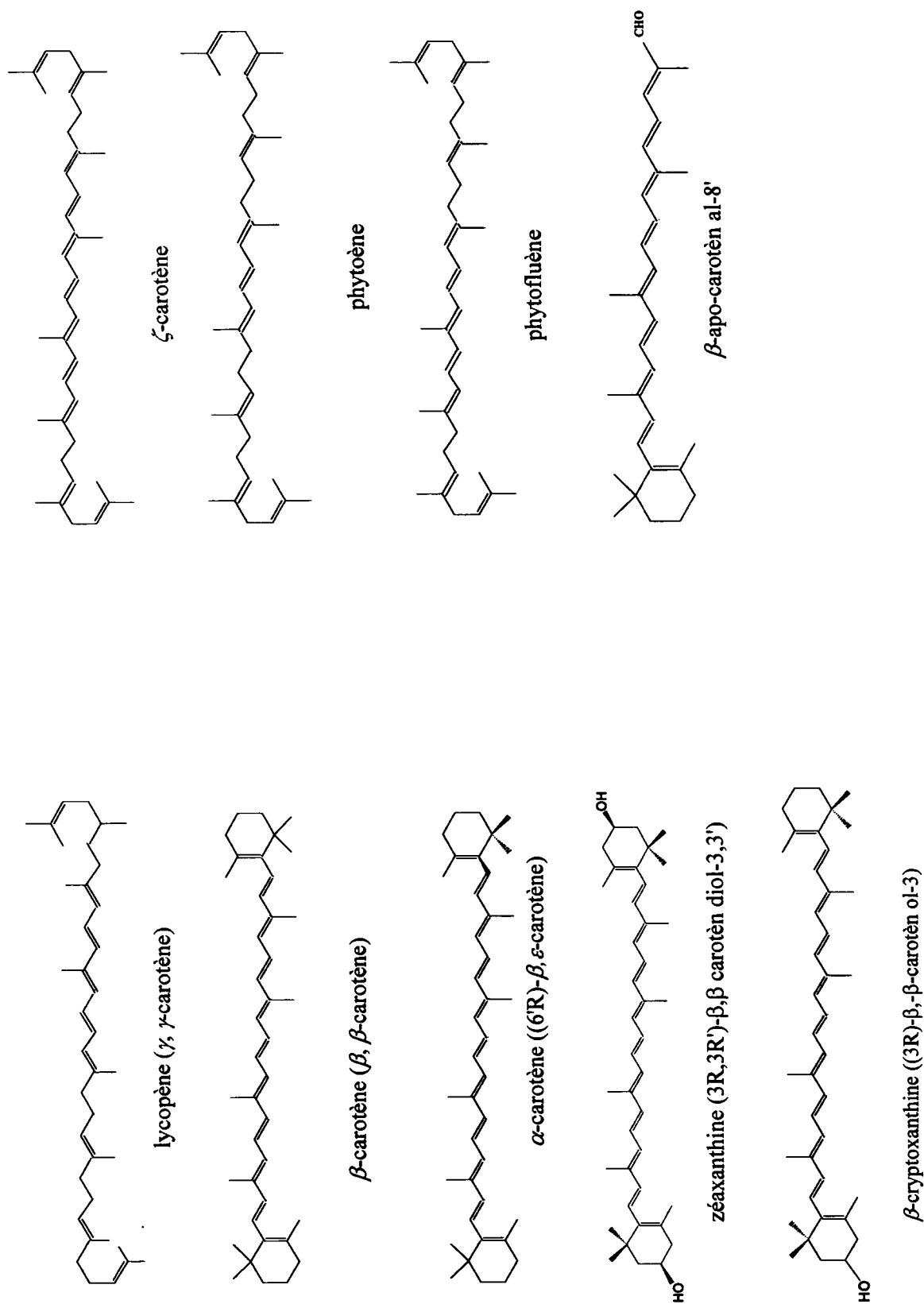


Figure 12. Structures des principaux caroténoïdes.

Le jus du fruit de la passion possède des teneurs élevées en caroténoïdes, tout spécialement en  $\beta$ -carotène, conférant à ce produit une couleur jaune-orangé intense. Pruthi et Lal (1958), Leuenberger et Thommen (1972) et plus récemment Mercadante *et al.* (1998) ont étudié ces composés chez les variétés pourpre (*Passiflora edulis* Sims) et jaune (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). Le  $\zeta$ -carotène est le caroténoïde majeur dans la variété jaune tandis que le  $\beta$ -carotène domine dans la variété pourpre avec cependant de fortes teneurs en  $\zeta$ -carotène et en phytofluène.

#### IV.2.1. Structure des caroténoïdes

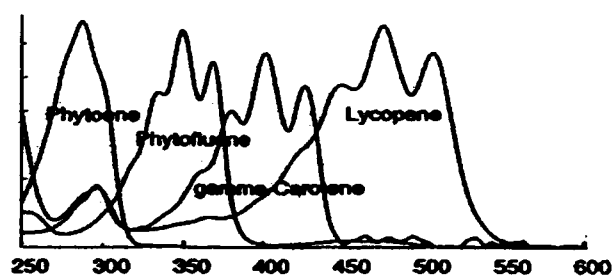
Ces molécules sont constituées de 8 unités isoprénoïdes (Figure 12) unies entre elles de telle manière que l'unité isoprénoïde est retournée au centre de la molécule. Les chaînes latérales méthylées sont ainsi en position 1,5 à l'exception des 2 centrales qui sont en 1,6. Deux classes de composés caroténoïdiques coexistent (Mackinney, 1962; Khachik *et al.*, 1989) :

- les *hydrocarbures caroténoïdiques* : le lycopène, ou le  $\zeta$ -carotène sont des hydrocarbures aliphatiques tandis que les  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ - carotènes sont des hydrocarbures acycliques. Deux autres hydrocarbures, le phytoène et le phytofluène, qui bien que ne possédant que 3 et 5 liaisons conjuguées et étant incolores sont classés dans cette catégorie,
- les *xanthophylles* : il s'agit de caroténoïdes oxygénés comme des alcools, des esters, des cétones ou des dérivés 5-6 époxy ou 5-8 époxy. Ces composés sont assez rares dans les plantes supérieures mais souvent retrouvés chez les champignons. Parmi les xanthophylles, on distingue :
  - \* les *mono-caroténols* : ce sont des caroténoïdes mono-hydroxylés. Les plus communs sont la  $\beta$ -cryptoxanthine ou l'hydroxy-3  $\beta$ -carotène ayant un spectre d'absorption identique aux caroténoïdes mais avec le groupe hydroxyle en position 3 ne participant pas à la conjugaison,
  - \* les *bis-caroténols* : ils sont doublement hydroxylés comme la lutéine, la zéaxanthine ou les dérivés 3,3' dihydroxylés des carotènes  $\alpha$  et  $\beta$  apparaissant fréquemment dans les fruits.

Notons aussi l'existence de dérivés epoxy en 5-6 ou en 5-8 comme la violaxanthine. Le groupe hydroxyle participe dans ce cas au système conjugué et le spectre d'absorption de

**Tableau 3. Maxima d'absorption (nm) de quelques caroténoïdes (d'après Mackinney, 1962).**

phytoène	(295)	286	(275)
phytofluène	368	348	335
ζ-carotène	425	400	380
neurosporène	468	438	415
lycopène	502	472	445



**Figure 13. Spectres d'absorption de quatre caroténoïdes (d'après Roussef *et al.*, 1992).**

ces composés sera donc déplacé d'autant vers les plus courtes longueurs d'onde. La couleur de ces composés sera donc plus jaune que les hydrocarbures caroténoïdiques.

Enfin certains dérivés cétoniques (cétocaroténoïdes) comme la capsanthine ou la capsorubine sont présents en quantité mineure dans les fruits.

L'isomérisation *cis/trans* des différentes doubles liaisons de l'ensemble des caroténoïdes influe non seulement sur les propriétés biologiques de ces molécules mais aussi sur leur thermosensibilité et leur photosensibilité et si, majoritairement, le pourcentage d'isomérisation *cis* (*Z*) est relativement faible comparé à l'isomérisation *trans* (*E*), ce pourcentage augmente nettement après exposition à la chaleur et à la lumière (Zechmeister, 1944).

#### IV.2.2. La couleur des caroténoïdes

Les caroténoïdes peuvent être classés comme une série d'hydrocarbures aliphatiques commençant par le phytoène ( $C_{40}H_{64}$ ) passant par le phytofluène, le  $\zeta$ -carotène jusqu'au lycopène. Ces composés ont donc de 3 à 11 doubles liaisons conjuguées. Le Tableau 3 et la Figure 13 présentent les positions approximatives des maxima pour les trois bandes d'absorption dans un solvant tel que l'hexane. Le spectre d'absorption donne ainsi une indication du nombre de doubles liaisons conjuguées dans la série aliphatique.

Cependant, le  $\beta$ -carotène a lui aussi deux doubles liaisons conjuguées mais ses maxima d'absorption sont plus faibles que le lycopène. En effet, les doubles liaisons dans le cycle ont un effet certain sur la chaîne conjuguée mais chacune d'elles n'a approximativement, que la moitié de l'effet d'une double liaison «libre».

Les spectres d'absorption du phytoène et du phytofluène sont situés dans l'ultra-violet ; ils sont donc incolores et ne peuvent techniquement être compris dans la définition admise des caroténoïdes. Le  $\zeta$ -carotène absorbe dans le violet extrême, il est donc jaune pâle et le lycopène absorbe dans le bleu et le bleu-vert, il est donc rougeâtre.

#### IV.2.3. Extraction et identification des caroténoïdes

Les caroténoïdes présentent une grande sensibilité vis-à-vis de la lumière et de la chaleur. Les traitements thermiques en particulier entraînent conjointement une dégradation du *trans*- $\beta$ -carotène au profit de l'isomère *cis* mais aussi la formation d'isomères comme le 13-*cis*- $\beta$ -carotène (Chandler et Schwartz, 1988).

Différentes techniques d'extraction sont relevées dans la littérature (Heinonen *et al.*, 1989; Hart et Scott, 1995). L'utilisation de tétrahydrofurane pour les faibles teneurs en caroténoïdes ou du mélange tétrahydrofurane/éther de pétrole pour les fortes teneurs

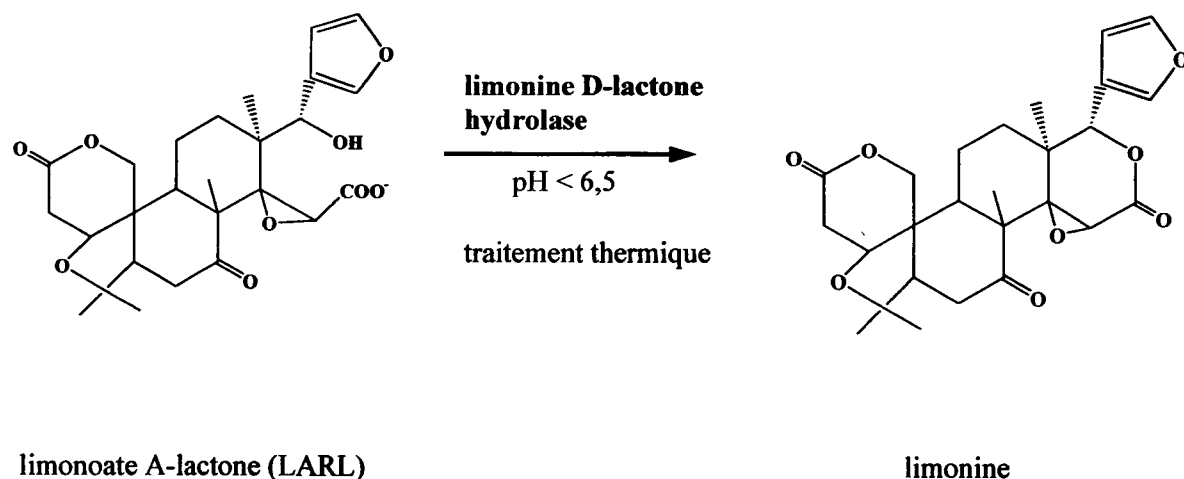
(Bushway, 1986) semble la plus appropriée pour l'extraction des  $\alpha$ - et  $\beta$ -carotènes dans les végétaux. Taungbodhitham *et al.* (1998) ont évalué une méthode simple et reproductible d'extraction des caroténoïdes dans certains fruits et légumes. Le jus ou la purée sont additionnés de  $\beta$ -apo-carotène al-8' (étalon interne) et le mélange est extrait par le solvant binaire éthanol/hexane (4/3, v/v) particulièrement adapté à l'extraction des caroténoïdes dans le jus de tomate (Taungbodhitham *et al.*, 1998). L'extrait ainsi obtenu est analysé par chromatographie liquide haute performance (C.L.H.P.) à l'aide d'une colonne apolaire à phase greffée (C<sub>18</sub>).

## V. LES COMPOSES AMERS CHEZ LES AGRUMES

L'amertume dans les jus d'agrumes constitue un problème organoleptique majeur et a, en ce sens, un impact direct sur l'avenir économique de ces produits (Hasegawa *et al.*, 1991). En effet, même si une légère amertume peut être appréciée dans les jus d'agrumes et en particulier dans ceux de pomelos, ces produits ne sont en général pas commercialisés en «pur jus» mais au contraire mélangés à d'autres jus de fruits afin d'obtenir des produits de type «boisson». L'amertume dans les jus d'agrumes a été attribuée par Robins *et al.* (1990) à deux familles de molécules distinctes : les limonoïdes et les glycosides de flavonoïdes. La teneur en ces composés diminue au cours de la maturation des fruits (Hasegawa *et al.*, 1991) ; certains composés précurseurs de la limonine tel la limonoate A-lactone (Maier et Beverly, 1968) atteignent une concentration maximale au mois d'Août puis diminuent ensuite régulièrement.

### V.1. LES LIMONOÏDES

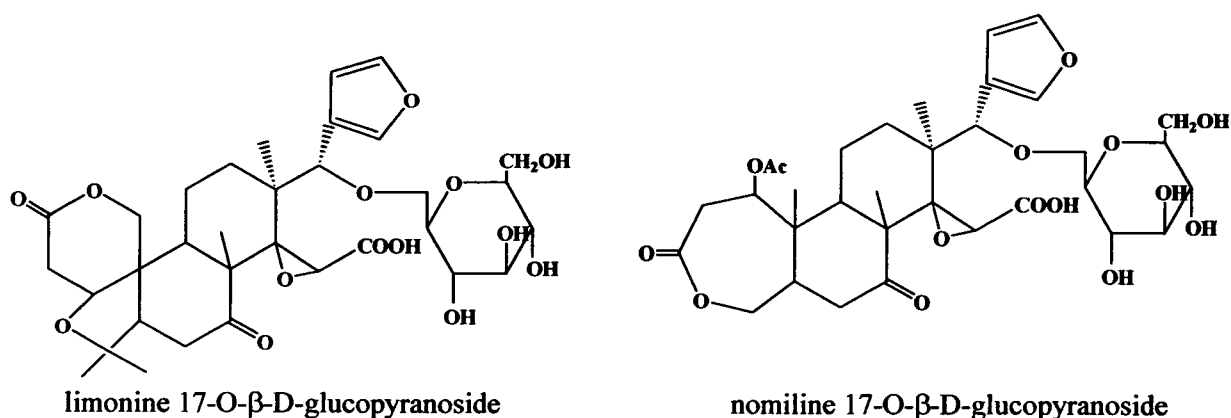
La famille des limonoïdes résulte de l'oxydation de triterpénoïdes et est caractérisée par la présence d'une liaison furane, d'un groupe carboxylique, d'un groupe époxyde et de 2 liaisons lactones. Si plus de 40 de ces composés sont effectivement présents dans les jus et purées de citron (Dreyer, 1965), seuls quatre sont amers : la limonine, la nomiline, l'inchangine et l'acide nomilique. La limonine est le principal limonoïde responsable de l'amertume. Shaw et Wilson (1984) et Guadagni *et al.* (1976) ont situé son seuil de détection entre 1 et 32 ppm suivant le support et la provenance des dégustateurs. Fellers *et*



**Figure 14. Formation de la limonine dans les jus d'oranges à partir de son précurseur, la LARL (d'après Maier et Beverly, 1968).**

**Tableau 4. Répartition de la limonine dans les différentes parties d'un pomelo (var. Marsh) (d'après Mansell et Weiler, 1980).**

partie du fruit	limonine (ppm)
sacs à jus	7
segment carpellaire	107
columelle	296
flavedo	25
albedo	74
partie externe du pépin	9270
partie interne du pépin	1000



**Figure 15. Formes glycosilées, non amères, des deux principaux limonoïdes d'agrumes (d'après Rotheval, 1996).**

*al.* (1987) ont attribué l'amertume d'un jus de pomelo blanc à la présence de limonine à des concentrations inférieures à 3 ppm.

Paradoxalement, les jus de citron et d'agrumes en général ne contiennent pas de limonine mais plutôt son précurseur immédiat (Rotheval, 1996) : la limonoate A-lactone (LARL) (Figure 14). Cette monolactone est présente principalement dans le flavedo, l'albedo et les segments carpellaires des agrumes (Figure 1, p. 4). Après extraction du jus ou de la purée, ce précurseur se convertit rapidement en une dilactone amère, la limonine sous les actions conjuguées de la chaleur, de l'acidité du milieu et d'une enzyme endogène : la limonine D-lactone hydrolase (Maier *et al.* 1969).

L'incorporation dans les jus d'une partie de l'albedo (mésocarpe) en vue d'obtenir des purées de citron aura une influence certaine sur la teneur en limonine et donc sur l'amertume finale du produit ainsi obtenu. Cependant, comme indiqué dans le Tableau 4, l'albedo des agrumes ne présente que de faibles proportions en limonine comparées à celle des pépins (Hasegawa *et al.*, 1980) ou de la columelle qui devront impérativement être exclus et non détériorés lors de l'obtention du produit.

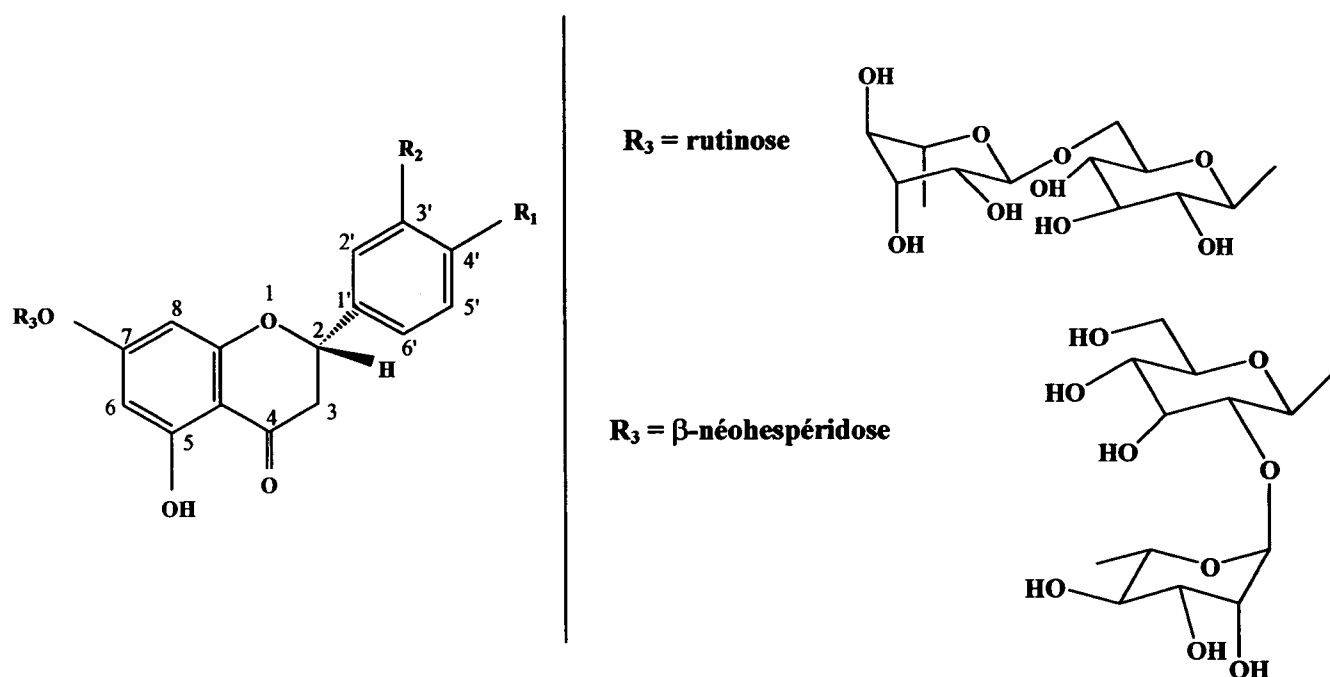
La majorité des limonoïdes est présente sous forme glycosilée (Hasegawa *et al.*, 1989) comme la limonine 17-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ou la nomiline 17-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (Figure 15) et, contrairement à leurs aglycones correspondants, ces formes qui peuvent atteindre des teneurs de 320 ppm dans les jus d'orange commerciaux, sont solubles dans l'eau et n'ont quasiment aucune saveur. Plus d'une dizaine de ces composés glycosilés ont pu être détectés et identifiés dans les citrons (Bennett *et al.*, 1989) ou dans les peaux d'orange (Fong *et al.*, 1993). La présence de ces limonoïdes glycosilés laisse d'ailleurs supposer que le précurseur de la limonine, la limonoate A-lactone, serait converti sous forme glycosilée au cours de la croissance et de la maturation du fruit (Hasegawa *et al.*, 1991).

Notons enfin l'existence de deux autres principes amers dans les citrons : la nomiline directement corrélée à la teneur en limonine et retrouvée abondamment dans les jus de pomelos en début de saison et l'obacunone.

#### **V.1.1. Extraction de la limonine**

La principale méthode d'extraction de la limonine décrite par Hasegawa (1989) nécessite l'obtention d'un mélange homogène tamponné (0,5 M, pH 8) par broyage des citrons dans un Waring Blendor. La LARL est ensuite convertie en limonine par





	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	saveur
naringénine	OH	H	H	douce
naringine	OH	H	β-néohespéridose	amère
néohespéridine	OCH <sub>3</sub>	OH	β-néohespéridose	amère
hespéridine	OCH <sub>3</sub>	OH	rutinose	douce
ériocitrine	OH	OH	rutinose	
narirutine	OH	H	rutinose	
néoériocitrine	OH	OH	β-néohespéridose	

**Figure 16. Structures des principales flavanones chez les agrumes (d'après Rotheval, 1996).**

acidification à pH 2. La limonine est ensuite extraite par de l'acétate d'éthyle. L'extrait est ramené à sec puis repris dans du méthanol puis analysé en C.L.H.P. La colonne est éluée par un gradient linéaire de solvants et la longueur d'onde du photodétecteur fixée à 207 nm (maximum d'absorption de la limonine).

L'extraction des limonoïdes glycosilés nécessite après obtention du mélange homogène, une extraction au méthanol (méthanol/eau, 70/30), puis un passage sur colonne C<sub>18</sub>. Après élution par du méthanol, la teneur en limonoïdes glycosilés est estimée par chromatographie sur couche mince (Fong *et al.*, 1989).

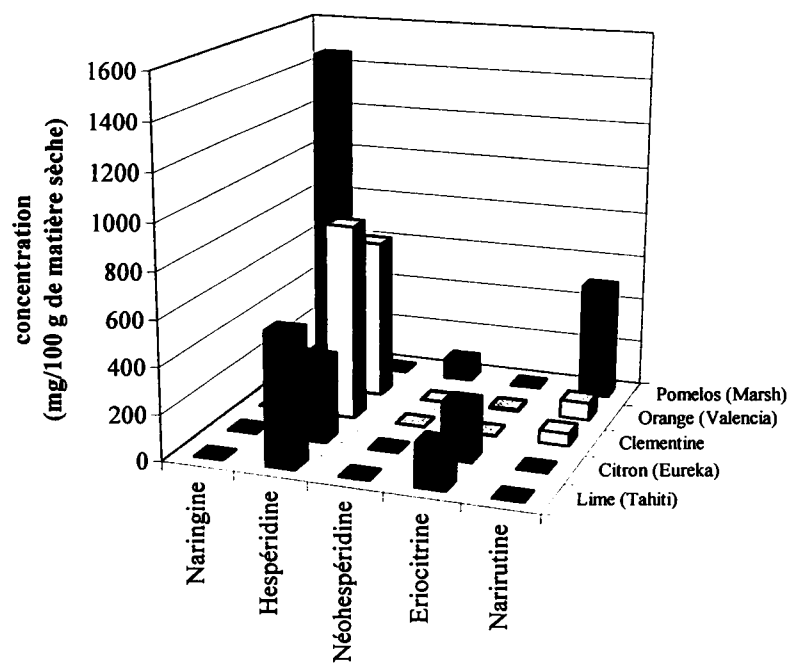
Shaw et Wilson (1984) ont mis au point une méthode simple et reproductible de quantification de la limonine dans les jus de citron. Le jus sans traitement préalable ou la purée de citron (après dilution dans l'eau) est passé sur colonne C<sub>18</sub>, puis la limonine est éluée à l'acétonitrile. L'extrait est injecté en C.L.H.P. et élué avec un solvant isocratique : acétonitrile-tétrahydrofurane-eau (17,5/15/67,5; v/v/v). Widmer (1991) a pu améliorer cette technique en utilisant une colonne à phase stationnaire cyanidée présentant en C.L.H.P. une sélectivité supérieure vis-à-vis de la limonine.

## V.2. LES FLAVONOÏDES

Les agrumes représentent une des sources les plus importantes de flavonoïdes principalement sous forme glycosilée. Des études épidémiologiques ont pu leur attribuer des effets bénéfiques sur la réduction des risques de cancer (Wei *et al.*, 1990). L'étude qualitative et quantitative des flavonoïdes dans les agrumes et plus particulièrement dans les citrons (Ting *et al.*, 1979; Park *et al.*, 1983) a fait l'objet de travaux de recherche dès 1956 (Horowitz).

### V.2.1. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes, caractérisés par la présence de l'enchaînement C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, peuvent être classés en 4 principaux groupes : les anthocyanes, les flavones, les flavonols et les flavanones. Les flavanones majoritaires dans les citrons sont la naringine et sa forme glycosylée la naringénine, la narirutine, et la néohespéridine (Kawaii *et al.*, 1999) (Figure 16). Selon la nature de la liaison rhamnose-glucose dans les composé rhamnoglucosilés, certains peuvent être dépourvus d'amertume comme l'hespéridine où cette liaison existe sous forme  $\alpha$ -(1→6) (rutinose) (Horowitz et Gentili, 1960) ; d'autres au contraire comme la naringine, où cette liaison existe sous forme  $\beta$ -(1→6) (néohespéridose), sont amers. La



**Figure 17. Principaux flavonoïdes chez les agrumes  
(d'après Kawail et al., 1999).**

naringine, flavanone glycoside amer majoritaire dans le jus de pomelos, a un seuil de détection inférieur à 20 ppm dans l'eau distillée (Guadagni *et al.*, 1973).

La concentration en flavonoïdes totaux de l'ensemble des agrumes augmente régulièrement durant les premiers stades de développement du fruit puis reste constante, l'amertume diminuant lors de la croissance et de la maturation du fruit (Fong *et al.*, 1992). Enfin, si l'hespéridine est très souvent le flavonoïde majoritaire, la famille des agrumes présente une grande hétérogénéité au niveau de la répartition qualitative et quantitative de ces composés (Figure 17). La narirutine, présente chez le pomelo (var. Marsh) à plus de 500 mg/100 g de matière sèche, est totalement absente chez la lime tahitienne ou le citron (var. Eureka).

La naringine et l'hespéridine, compte tenu de leurs voies de biosynthèse, ne peuvent être retrouvés dans un même agrume à des teneurs élevées (Tsushida *et al.*, 1997). Ainsi, si le pomelo présente des teneurs élevées en naringine (1459 µg/100 g de matière sèche), il ne contient pas d'hespéridine. Enfin, des flavanones très minoritaires comme la poncirine (0,4 µg/100 g de matière sèche dans l'orange Valencia) et la néoériocitrine (4,5 µg/100 g dans la clémentine) peuvent permettre de différencier certaines variétés d'agrumes (Kawaii *et al.*, 1999).

### **V.2.2. Extraction des flavonoïdes**

Différents procédés d'extraction des flavonoïdes peuvent être utilisés en fonction de la nature du matériel végétal, de sa teneur en eau et en sucres. Ainsi Roussef *et al.* (1987) proposa une méthode de dosage des flavonoïdes d'un jus de citron par fractionnement direct du jus sur pré-colonne C<sub>18</sub> puis élution des flavanones glycosylées par du méthanol. L'extrait est finalement analysé en C.L.H.P. en utilisant un gradient linéaire de solvants eau/acétonitrile/acide acétique glacial (79,5/20/0,5, v/v/v). La détection des pics est effectuée au maximum d'absorption des flavonoïdes (280 nm).

L'extraction sur peau d'orange des composés flavonoïdes (Manthey and Grohmann, 1996) a été réalisée par broyage de la peau dans l'azote liquide jusqu'à obtention d'une poudre fine suivi d'une extraction dans un mélange binaire diméthylesulfoxyde/méthanol

**Tableau 5. Composés d'arôme détectés dans les fruits des zones méditerranéennes et tropicales (d'après TNO, 1996).**

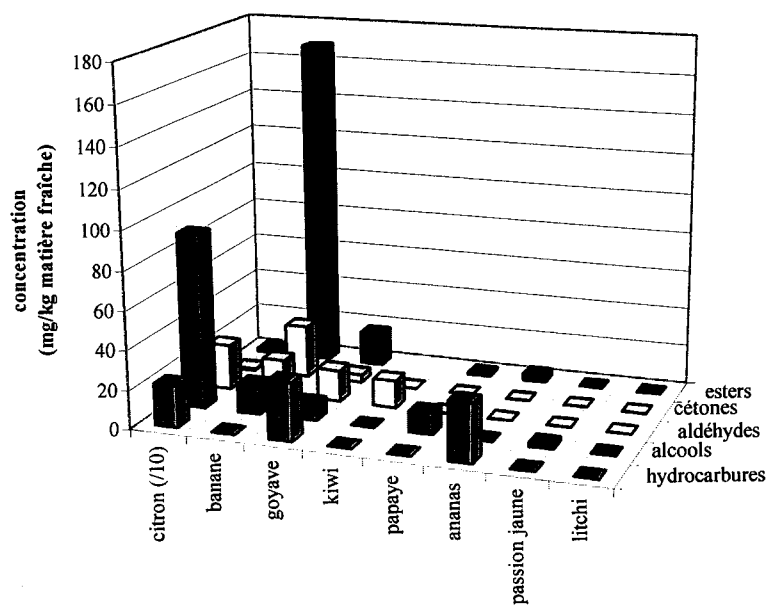
	hydrocarbures	alcools	aldéhydes	cétones	lactones	esters	phénols	acides	éthers	composés soufrés	époxydes, pyranes, furanes, etc.
<b>agrumes</b>	+++ <sup>a</sup>	++++	+++	+++	+	+++	++	++			++
	0,009 <sup>b</sup> -219 <sup>c</sup>	0,0001-900	tr-230	0,0002-9		0,0001-16,2		0,007-2,8	0,0001-0,09	tr-903	tr-0,37
<b>goyave</b>	++++	+++	+++	+++	+	++++	+	++++	+	++	++
	0,0002-30	0,0021-8,6	0,0005-16	0,0016-401	0,005-0,38	tr-17		0,005-1	0,03-2,6	0,01-0,05	0,003-0,25
<b>banane</b>		++++	++	++		++++	+	+++			
	0,2-15		5-18	0,05-27		0,05-169	0,1-7,5	5			
<b>papaye</b>	++++	+++	++	+++	++	+++	+	++++	+		++
	tr-0,29	0,0002-11,3	0,0003-0,05	tr-0,05	tr-0,004	0,0001-0,6	0,02	tr-29,9	0,05		tr-3
<b>passion (jaune)</b>	++	+++	+	++	++	++++	++	+++	+	+	++
	0,01	0,01-1,9	0,01-1,6	0,01-0,16							
<b>litchi</b>	++	++	+	+		+			+	+	+
<b>kiwi</b>	+++	+++	+++	+++		+++	++	++	+	+	+
	tr-0,002	tr-0,5	tr-13,9	0,03-0,4		tr-10,5		7260-10840			0,004-0,001
<b>ananas</b>	+++	+++	++	+	+++	++++	+			++	+
	0,0002-30	0,007-0,2	0,01-0,08	0,01	0,00003-0,12	0,0005-3,4	0,054			0,0005-0,6	0,02-34,9

<sup>a</sup>Nombre de composés : + < 10, 10 < ++ < 20, 20 < +++ < 50, 50 < ++++ < 100, > 100 +++++

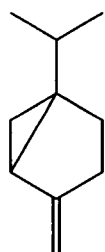
<sup>b</sup>Concentration minimale (mg/kg matière fraîche)

<sup>c</sup>Concentration maximale (mg/kg matière fraîche)

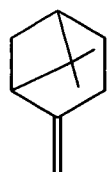
<sup>d</sup>tr = traces



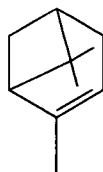
**Figure 18. Concentrations maximales des composés d'arôme majeurs dans différents fruits tropicaux (d'après TNO, 1996). (pour le citron, concentration /10).**



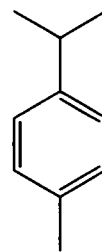
sabinène  
chaud, épicé,  
herbacé



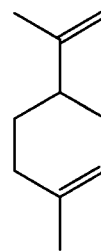
β-pinène  
résineux, boisé



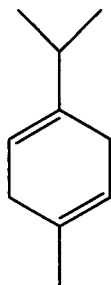
α-pinène  
chaud, résineux



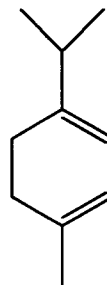
p-cymène  
citronnée,  
bergamote



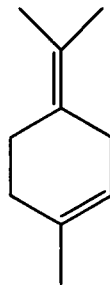
limonène  
frais, doux,  
citronnée



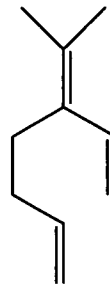
γ-terpinène  
herbacée,  
rafraîchissante



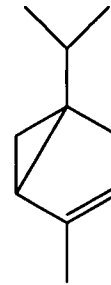
α-terpinène  
citronnée,  
rafraîchissante



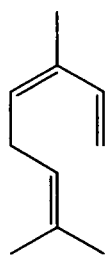
terpinolène  
odeur de pin,  
agréable



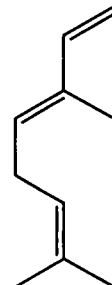
β-myrcène  
doux, balsamique,  
résineux



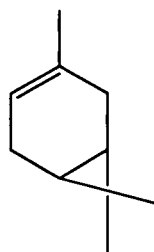
α-thujène



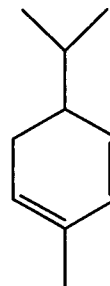
(Z)-ocimène  
chaude, herbacée,  
florale



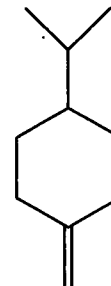
(E)-ocimène  
chaude, herbacée,  
florale



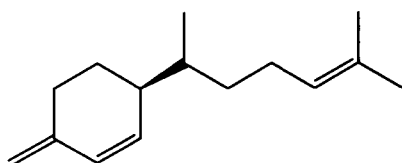
Δ-car-3-ène  
diffuse, odeur  
pénetrante



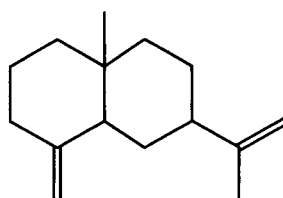
α-phellandène  
agréable, citronnée,  
poivrée



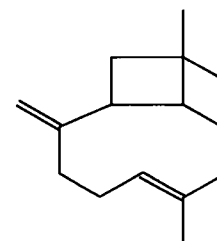
β-phellandène  
odeur de menthe,  
faiblement  
citronnée



β-sesquiphellandène  
boisée, chaud



β-sélinène  
boisée, herbacée-poivrée



β-caryophyllène  
boisée, sèche

Figure 19. Structures et odeurs des principaux hydrocarbures mono- ( $C_{10}$ ) et sesquiterpéniques ( $C_{15}$ ).

(1/1, v/v) pendant 24 h. L'extrait après filtration est alors analysé par C.L.H.P. en utilisant un gradient linéaire de solvants binaire acide orthophosphorique/méthanol.

### V.3. DESAMERISATION DES JUS D'AGRUMES

Même si la législation européenne interdit actuellement l'utilisation de résines adsorbantes dans l'industrie agro-alimentaire, l'efficacité de ces procédés et leur utilisation fréquente aux Etats-Unis justifient qu'elle soit mentionnée. En effet, la désamérisation d'un jus de pomelo, tout spécialement en début de saison, permet d'obtenir un produit à l'amertume acceptable pour le consommateur (Shaw et Nagy, 1993).

Wilson *et al.* (1989) ont réussi à réduire la teneur en limonine de 29 à 63 % selon la teneur initiale en limonine dans un jus d'orange Navel en utilisant une résine Amberlite commercialement approuvée (XAD-4, Rohm and Haas, USA). De même, la réduction de la teneur en naringine dans un jus de pomelos varie entre 30 et 40 %. Ces résines (principalement XAD-16 et XAD-4, USA) sont facilement régénérées par utilisation d'une solution saline à 2 % de NaCl et présentent donc un intérêt commercial évident.

## VI. LES COMPOSES D'AROME DES FRUITS

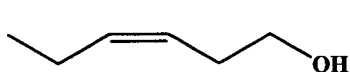
### VI.1. LES DIFFERENTES CLASSES DE COMPOSES VOLATILS

Les composés aromatiques sont des molécules organiques de faible masse moléculaire (< 400 daltons) dont la tension de vapeur à pression atmosphérique et à température ambiante est suffisamment élevée pour que ces molécules se retrouvent en partie à l'état de vapeur dans l'atmosphère gazeuse et puissent, au contact de la muqueuse olfactive, provoquer un stimulus (Richard, 1992).

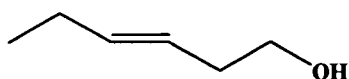
Les Tableau 5 et Figure 18 présentent les concentrations maximales des composés aromatiques majeurs dans différents fruits tropicaux (T.N.O., 1996a).



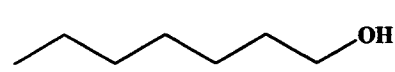
**A**



(*Z*)-hex-3-èn-1-ol  
vert, herbe grasse

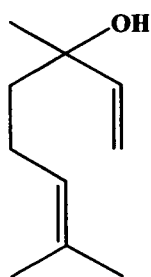


(*E*)-hex-3-èn-1-ol  
vert, odeur de chrysanthème

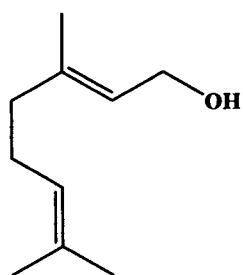


hexanol  
chimique, fruité

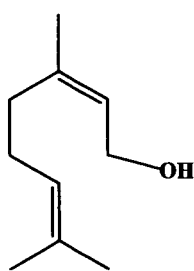
**B**



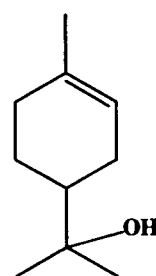
linalol  
floral, boisé,  
léger



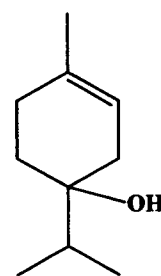
géraniol  
odeur de rose,  
herbacée



nérol  
odeur de rose,  
rafraîchissant

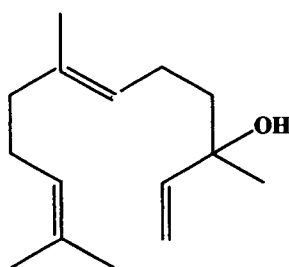


$\alpha$ -terpinéol  
floral, lilas

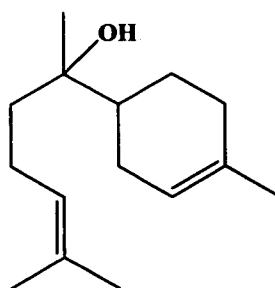


terpinèn-4-ol  
chaud, poivré

**C**



nérolidol  
doux, floral, odeur de pomme



bisabolol  
délicat, odeur florale

**Figure 20. Structures et odeurs des principaux alcools aliphatiques (A), monoterpéniques (B) et sesquiterpéniques (C).**

### VI.1.1. Les hydrocarbures (Figure 19)

La quasi-totalité des hydrocarbures monoterpéniques ( $C_{10}$ ) ou sesquiterpéniques ( $C_{15}$ ), sont sensibles à la chaleur et aux phénomènes d'oxydation. Si ces composés ne semblent que faiblement participer à la note aromatique de la majorité des fruits, ils confèrent à la goyave et surtout à la mangue (40 mg/kg de limonène, 17 mg/kg de myrcène) (Engel et Tressl, 1983b) des notes terpéniques vraiment caractéristiques. Askar *et al.* (1986) ont comparé les teneurs en hydrocarbures dans les variétés de goyave à chair blanche et rose. Des teneurs très supérieures en sesquiterpènes et en particulier en  $\beta$ -caryophyllène (412  $\mu$ g/kg) furent trouvées chez la variété à chair blanche. Enfin parmi les neuf composés identifiés et décrits comme possédant le «caractère goyave», cinq sont des hydrocarbures terpéniques : le myrcène, le  $\beta$ -caryophyllène, l' $\alpha$ -humulène, l' $\alpha$ -sélinène et l' $\alpha$ -copaène.

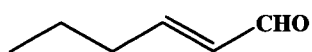
Les mono- et sesquiterpènes représentent la classe de composés les plus abondants chez la mangue mais des différences considérables de concentration ont été répertoriées rendant quasiment impossible la normalisation de la flaveur «mangue». Le monoterpène le plus abondant est le (Z)-ocimène (44 mg/kg) chez la variété Alphonso (Inde) (Idstein et Schreier, 1985) alors que c'est le  $\Delta$ -car-3-ène chez la variété Keitt (USA). Le  $\beta$ -caryophyllène et le  $\beta$ -sélinène représentent souvent les sesquiterpènes les plus abondants.

### VI.1.2. Les alcools (Figure 20)

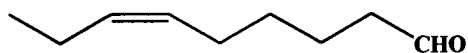
Parmi les alcools aliphatiques, cycliques, et terpéniques, on note une grande diversité olfactive avec, par exemple, des notes herbacées pour le (Z)-hex-1-èn-3-ol, un arôme de banane pour le (Z)-heptèn-4-ol ou des notes citronnées pour le nérol. Des teneurs supérieures à 100  $\mu$ g/kg de pulpe ont été trouvées dans la papaye (Idstein and Schreier, 1985) et l'hexanol représente plus de 8 % des composés volatils totaux du fruit de la passion jaune (Werkhoff *et al.*, 1998). Le jus de fruit de la passion pourpre présente des teneurs élevées en  $\alpha$ -terpinéol avec 26 mg/litre de jus (Brat *et al.*, 2000).

De fortes concentrations en linalol ont également été retrouvées chez la papaye où il représente plus de 68 % des 140 composé identifiés (Flath et Forrey, 1977). La conservation ou les traitements thermiques de purée de papaye entraînent une augmentation sensible des oxydes de linalol et plus récemment deux diastéréoisomères de l'époxy-linalol-6,7 furent identifiés comme étant des précurseurs naturels de ces composés (Winterhalter *et al.*, 1986).

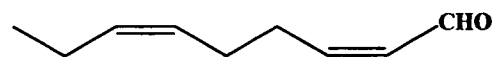
**A**



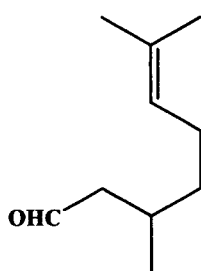
(*E*)-hex-2-ène  
frais, herbacée



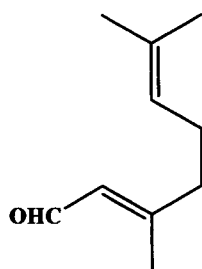
(*Z*)-non-6-ène  
melon



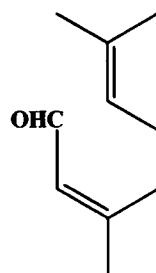
(*Z,Z*)-nona-2,6-diène  
concombre



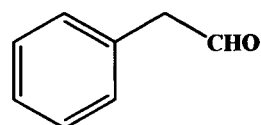
citronellal  
frais, vert, citronnée



géraniol  
citronnée

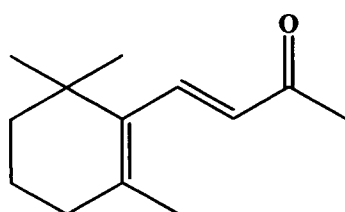


néral  
citronnée

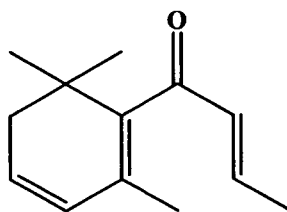


phénylacétaldéhyde  
vert, floral, jacinthe

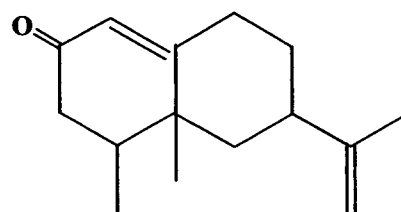
**B**



$\beta$ -ionone  
chaud, boisé,  
légèrement fruité



$\beta$ -damascénone  
framboise



nootkatone  
pamplemousse

**Figure 21. Structures et odeurs des principaux aldéhydes (A) et cétones (B).**

Les alcools et en particulier le citronellol, le géraniol et le phényl-2 éthanol jouent un rôle prédominant dans les notes florales du litchi et participent à la sensation de fraîcheur apportée par ce fruit.

### **VI.1.3. Les aldéhydes et les cétones (Figure 21)**

Tout comme dans les huiles essentielles de citron, les teneurs en aldéhydes et tout particulièrement les deux isomères géraniol et néral reflètent l'impact aromatique d'un jus de citron. Le géraniol cependant est souvent présent en quantité nettement plus importante que le néral et des concentrations relatives de 1,4 % ont été mentionnées dans un jus de citron frais (T.N.O., 1996b).

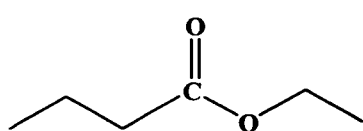
La majorité des fruits tropicaux contiennent des proportions notables en aldéhydes : c'est le cas du kiwi [plus de 80 % de (*E*)-hex-1-èn-2-al], de la pomme cajou [(*E*)-hex-1-èn-2-al et benzaldéhyde] et surtout de la goyave qui contient plus de 25 mg/kg de (*E*)-hex-1-èn-2-al et 4 mg/kg d'hexanal provenant principalement de la dégradation des lipides (Winterhalter, 1991).

Les cétones jouent un rôle moins important dans la note aromatique finale et seules les notes fruitées et exotiques caractéristiques de la banane ont été attribuées à la présence d'heptan-2-one et d'heptan-3-one. Des concentrations importantes en  $\beta$ -ionone (3,7 mg/kg) ont cependant été révélées dans la variété pourpre du fruit de la passion (Bart et al., 2000) et pourrait conférer à ce fruit certaines de leurs notes fruitées. La nootkatone est une cétone ayant un rôle prépondérant dans les huiles essentielles de pomelo mais cette influence n'est pas réellement confirmée dans le cas du jus (Shaw et Wilson, 1981). Cependant un jus de pomelo préparé à base de concentré dans lequel aucune huile n'a été ajoutée contient environ 7 mg/kg de nootkatone. Ce composé peut être détecté par le dégustateur puisque le seuil de détection de la nootkatone est de l'ordre de 0,8 mg/kg dans l'eau et de 6 mg/kg dans un jus de pomelo (Berry et al., 1967).

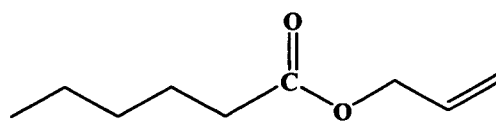
### **VI.1.4. Les esters et les lactones (Figure 22)**

Le fruit de la passion pourpre (Casimir et al., 1981) et la banane (Berger, 1991) font partie des fruits exotiques les plus riches en esters. L'acétate d'isoamyle et à un moindre niveau les butanoates de butyle et l'acétate de 3-méthyl-butyle avec leur notes fruitées très intenses ont longtemps été associés aux arômes de la banane puisque ces trois composés peuvent représenter plus de 50 % des composés volatils de ce fruit. Les travaux de Mosandl et Berger (1987) ont montré une très forte proportion d'isomères des acétates, des

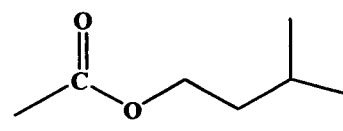
**A**



butanoate d'éthyle  
fruitée; étherée

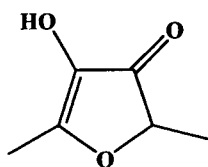


hexanoate d'allyle  
fruitée, ananas

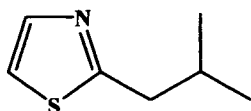


acétate d'isoamyle  
banane

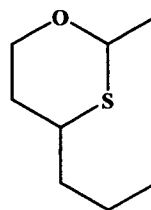
**B**



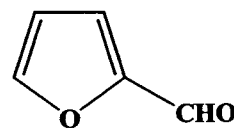
furanéol  
fraise



2-isobutyle thiazole  
tomate



2-méthyl-4-propyl  
oxathiane-1,3  
notes de fruits tropicaux



furfural  
caramel

**Figure 22. Structures et odeurs de certains esters (A) et hétérocycles (B).**

butanoates et des hexanoates de 2-pentyle et de 2-heptyle en configuration (S). Dans cette configuration, les esters ont des notes plus fruitées que dans la configuration (R) montrant par là même que les caractéristiques organoleptiques d'un fruit sont non seulement influencées par la taille et la forme des molécules d'ester mais aussi par leur énantiométrie.

Les esters constituent enfin une classe prédominante chez la goyave où ils peuvent représenter plus de 55 % des composés volatils totaux. MacLeod et de Troconis (1982) ont montré que l'acétate de 2-méthyle 1-propyle, l'acétate d'hexyle et le décanoate d'éthyle faisaient partie des neuf descripteurs de l'arôme de goyave.

Enfin de nombreuses lactones identifiées dans la mangue comme la  $\delta$ -décalactone ou la  $\gamma$ -nonalactone (Engel et Tressl, 1983b) participent sensiblement aux arômes de mangue avec des notes fruitées et légèrement beurrées. De même, deux isomères d'une lactone terpénique, la 2,7-diméthyl-4-hydroxy acide octa-5(E),7-diénoïque lactone, représentent plus de 25 % des composés aromatiques de la prune (Tsuneya *et al.*, 1980) et contribuent significativement à ses arômes.

#### **VI.1.5. Les hétérocycles (Figure 22)**

Cette famille de composés de structures complexes est souvent rencontrée dans des produits ayant subi un traitement thermique (ex. furfural). Cependant, certains de ces composés sont caractéristiques de certains fruits à l'état natif comme le furanéol dans la fraise, le 2-isobutyl thiazole dans la tomate ou le 2-méthyl-4-propyl-1,3-oxathiane dans les fruits tropicaux (Latrasse, 1991).

### **VI.2. LES COMPOSES D'ARÔME DU FRUIT DE LA PASSION**

#### **VI.2.1. L'arôme du fruit de la passion**

Le fruit de la passion par ses caractéristiques organoleptiques exceptionnelles est particulièrement apprécié par le consommateur. Son arôme typiquement tropical (Parliment, 1972) présente de subtiles différences entre les 2 variétés pourpre (*Passiflora edulis* Sims) et jaune (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*). L'arôme du fruit de la passion est non seulement constitué de substances volatiles, directement accessibles par la muqueuse olfactive, mais aussi de précurseurs glycosidiques qui ne sont pas volatils mais qui sont susceptibles d'être transformés en constituants odorants participant à l'arôme (Chassagne, 1996). L'identification des composés d'arômes libres du fruit de la passion pourpre a fait l'objet de nombreux travaux depuis 1972 (Parliment, 1972; Chen *et al.*,

**Tableau 6. Indice d'impact sur la flaveur des composés d'arôme dans le jus de fruit de la passion pourpre (Casimir, 1981).**

composés	indice d'impact sur la flaveur	concentration dans le jus (µg/kg)
<i>β</i> -ionone	410	50
octa-4(Z),7 diénoate d'éthyle	239	60
mégastigma-4,6,8-triènes	79	1100
composés soufrés (inconnus)	76	100
oct-4(Z)-énoate d'éthyle	62	400
rosénoxyde	45	200
hexanoate de hex-3(Z)-ényle	41	800
linalol	30	500
hex-3(Z)-énol	26	300
édulan I	23	800
butanoate d'hexyle	6,8	4100
hexanol/nonan-2-one	1,8	4000
heptan-2-ol	1,7	5300
hexanoate d'éthyle	1,3	7600
butanoate de méthyle	0,7	8300

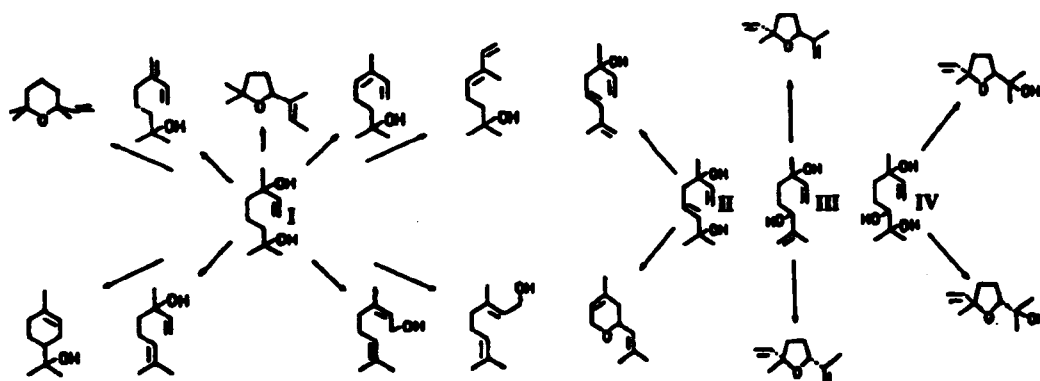
1982) et l'étude des précurseurs aromatiques et de leur devenir semble présenter un intérêt croissant (Engel et Tressl, 1983a ; Winterhalter, 1990 ; Chassagne, 1996).

Il est aujourd'hui clairement démontré que la flaveur de ce produit est le résultat d'un mélange complexe de plus de 294 composés volatils identifiés à ce jour dans les différents extraits de fruit de la passion. Les esters d'acides gras ( $C_2$  à  $C_8$ ) sont les plus concentrés, le butanoate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle, le butanoate d'hexyle et l'hexanoate d'hexyle étant largement majoritaires. En terme de concentration, les classes chimiques les plus importantes après les esters sont les norisoprénoides en  $C_{13}$  [plus de 32 composés ont été identifiés par Whitfield et Last (1986)] et les alcools monoterpéniques, aliphatiques et aromatiques (heptanol, hexanol, nérol, géraniol, linalol,...). Les esters correspondants ont aussi été identifiés ainsi que, dans le fruit de la passion jaune, des composés soufrés caractéristiques comme l'acétate de 3-mercapto hexyle (Weber *et al.*, 1995) ou le 3-méthyl thiohexanol (Weber *et al.*, 1994). Notons que l'analyse de ces composés nécessite l'emploi d'un détecteur spécifique et d'une chromatographie en phase gazeuse multidimensionnelle.

L'odeur supérieurement fruitée de la variété pourpre a été principalement attribuée à certains esters typiques de cette variété comme les acétates de (Z)-hex-1-en-3-yl, de 2-heptyl ou de 2-nonyl. L'analyse des composés chiraux a permis de différencier mieux encore les deux variétés. En effet, la proportion des énantiomères (R) et (S) de l'heptan-2-ol est respectivement de 92 % / 8 % dans la variété pourpre et de 18 % / 82 % dans la variété jaune (Tressl et Engel, 1985). De même l'énantiomère (R) du 3-hydroxybutanoate d'éthyle domine à plus de 69 % dans la variété pourpre.

L'ensemble de ces composés ne semble pas représenter le même intérêt au niveau organoleptique et Casimir *et al.* (1981) ont pu identifier 15 composés véritablement descripteurs de l'arôme de passion (Tableau 6). L'indice d'impact est dans ce cas d'autant plus élevé que son influence sur le dégustateur est grande et que sa concentration est faible. Deux esters, l'hexanoate d'éthyle et le butanoate de méthyle sont présents dans ce jus à forte concentration mais jouent cependant un rôle négligeable. A l'inverse, les norisoprénoides comme la  $\beta$ -ionone ou le mégastigma-4,6,8-triène et les monoterpénols (linalol) auraient une influence déterminante sur l'arôme de passion.

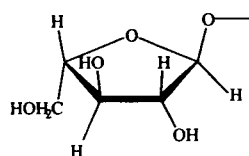




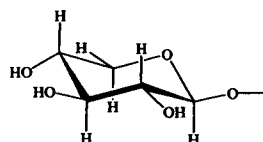
**Figure 23. Les polyols présents dans le fruit de la passion et leurs produits de dégradation obtenus après traitement acido-catalysé (d'après Engel et Tressl, 1983).**

**I : 3,7-diméthyl oct-1-ène-3,7-diol; II : 3,7-diméthyl oct-1,5-diène-3,7-diol;**

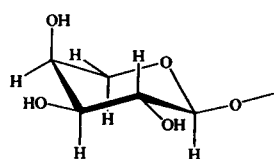
**III : 3,7-diméthyl oct-1,7-diène-3,6-diol; IV : 3,7-diméthyl oct-1-ène-3,6,7-triol.**



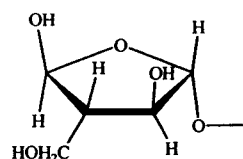
**$\alpha$ -L-arabinose :  $\alpha$ -L-Araf**



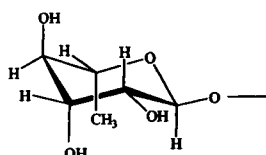
**$\beta$ -D-xylose :  $\beta$ -D-Xylp**



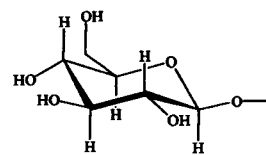
**$\alpha$ -L-arabinose :  $\alpha$ -L-Arap**



**$\beta$ -D-apiose :  $\beta$ -D-Apif**



**$\alpha$ -L-rhamnose :  $\alpha$ -L-Rhap**



**$\beta$ -D-glucose :  $\beta$ -D-Glucp**

**Figure 24. Nature des oses identifiés dans les précurseurs d'arômes de différents fruits (d'après Williams, 1993).**

### **VI.2.2. Les précurseurs glycosylés des composés volatils**

L'hydrolyse chimique des précurseurs glycosylés ainsi que les réarrangements acido-catalysés des monoterpénols ont été étudiés par Engel et Tressl (1983) dans le jus de fruit de la passion jaune. Ces auteurs ont en effet démontré que le chauffage en milieu acide (pH 3) d'un jus de passion augmentait jusqu'à 50 fois les concentrations en monoterpénols comme le linalol, l' $\alpha$ -terpinéol, le géraniol ou le nérol.

Une hydrolyse enzymatique a confirmé que ces alcools monoterpéniques étaient principalement sous forme glycosilée et qu'ils se comportaient alors comme des précurseurs d'arôme. Winterhalter (1990) et plus récemment Chassagne (1996) ont confirmé cette hypothèse en identifiant un certain nombre de précurseurs d'alcools norisoprénoïdiques susceptibles de former par hydrolyse des composés volatils ayant des caractéristiques olfactives remarquables (Figure 23).

La fraction glycosidique est souvent composée d'un ou deux résidus pyrano- ou furanosidiques avec, cependant, toujours une unité  $\beta$ -D-glucopyranosidique liée à l'aglycone. La Figure 24 présente les différents résidus glycosidiques pouvant être liés avec les composés volatils aglycones pour former des précurseurs d'arôme.

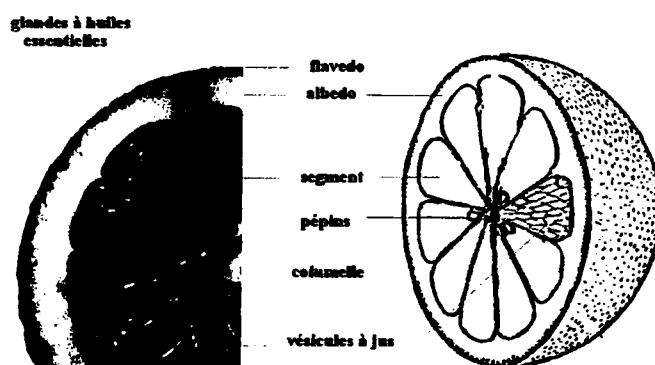
### **VI.2.3. Les méthodes d'extraction des composés volatils dans les jus de fruit de la passion**

Comme décrit précédemment, les arômes du fruit de la passion sont extrêmement sensibles à la chaleur, en particulier en milieu acide (Engel et Tressl, 1983). Les techniques d'extraction utilisées doivent donc tenir compte de ce paramètre et Parliment en 1972 a utilisé la distillation sous vide (28,5 mm Hg, 40°C) afin de limiter les phénomènes d'hydrolyse. La méthode d'extraction de l'espace de tête sous vide semble cependant la plus appropriée pour obtenir un extrait typiquement tropical et représentatif de la flaveur du fruit de la passion jaune (Werkhoff *et al.*, 1998). A l'inverse, l'extraction-distillation simultanée à pression atmosphérique (Likens et Nickerson, 1964) sur ce produit fournit un extrait avec des arômes de cuit et des odeurs souffrées attribuées à la présence de thiodérivés ainsi qu'à des réarrangements acido-catalysés de megastigmatriènes (norisoprénoïdes en C<sub>13</sub>). L'extraction liquide-liquide (Weber *et al.*, 1995) avec le mélange de solvants azéotrope pentane/dichlorométhane (2/1) permet d'obtenir un extrait représentatif de l'arôme typique de fruit de la passion et ce avec des rendements d'extraction supérieurs aux techniques de distillation (Brat *et al.*, 2000).

**Tableau 7. Cours<sup>a</sup> des huiles essentielles de zestes  
d'agrumes (2000) (d'après Ollé *et al.*, 2001).**

<b>citron<sup>b</sup></b>	
Argentine	140
Italie	115
<b>mandarine</b>	
Argentine (Tangerine)	220
Italie	180
<b>orange<sup>b</sup></b>	
Brésil	10
Honduras	8
<b>pomelo Israël</b>	60

<sup>a</sup>En francs. <sup>b</sup>«Cold pressed».



**Figure 25. Coupe équatoriale d'agrumes.**

### VI.3. LES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES

Les huiles essentielles d'agrumes possèdent une très large gamme d'utilisation comme notamment dans les boissons, les cosmétiques ou les savons, et en parfumerie et pharmacologie (Pruthi *et al.*, 1961a ; Rouse et Crandall, 1976 ; Braddock et Cadwallader, 1992). Le cours de ces huiles est souvent inversement proportionnel à la production correspondante de jus et si les cours restent inférieurs à 10 FF le kilo pour l'huile essentielle d'orange du Brésil, il peut atteindre 220 FF le kilo pour l'huile essentielle de mandarine d'Argentine (Tableau 7).

Ces huiles peuvent aussi être utilisées pour leur capacité à masquer des odeurs déplaisantes ou incorporées comme adoucissants de lessive. Afin de rentrer dans ces circuits de distribution traditionnels, ces produits doivent être clairs, dépourvus de trace d'eau et, suivant leur utilisation, concentrés afin de multiplier leur potentiel aromatique. En effet, les aldéhydes, composés majoritairement responsables de la flaveur des huiles, se trouvent en proportions mineures comparées aux dérivés terpéniques à faible pouvoir odorant. L'étape de déterpénation permet donc d'augmenter le potentiel aromatique de ces huiles, d'accroître leur solubilité dans l'eau et d'augmenter leur stabilité dans le temps.

#### VI.3.1. Définition et localisation histologique

Les huiles essentielles sont des produits odorants désignés selon la norme AFNOR AF T 75-006 (Anonyme 2, 1992) comme produit obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation à sec. Les huiles sont alors séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques comme la centrifugation. Il faut donc distinguer les huiles essentielles des essences concrètes qui sont obtenues tout d'abord par extraction des matières végétales à l'aide de solvant puis par extraction à l'éthanol éliminant ainsi les cires et les autres composants insolubles.

Le flavedo des agrumes (Figure 25) est constitué d'une couche fine de cuticule (constituée de cires cuticulaires et de cutine) sous lequel se situe une unique couche de cellules épidermiques. L'exocarpe est constitué de tissus lacuneux parenchymateux riches en chloroplastes dans lequel sont insérées les glandes à huiles. L'albedo est une couche spongieuse riche en polysaccharides pectiques et en acides organiques et qui, sur sa face, externe, peut contenir une mineure partie de glandes à huiles essentielles.

**Tableau 8. Répartition des différentes classes de composés d'arôme dans les huiles essentielles de citron (Sicile), d'orange (Floride) et de pomelo (Floride) (d'après Anonyme 1, 1984; Shaw and Coleman, 1974; Swaine et Swaine, 1988).**

	citron	orange	pomelo
hydrocarbures mono- et sesqui-terpéniques	94,30	98,36	96,62
alcools terpéniques	0,50	0,56	0,50
aldéhydes	2,90	1,17	1,94
composés divers	2,30	tr <sup>a</sup>	0,94

<sup>a</sup> non quantifiable

**Tableau 9. Impact organoleptique des composés d'arôme contenus dans les huiles essentielles d'agrumes.**

composés à "effet positif"	composés à "effet négatif"	composés soupçonnés à "effet négatif"
acétaldéhyde	hexanal	hexanol
butanoate d'éthyle	( <i>E</i> )-hex-2-èneal	( <i>E</i> )- <i>p</i> -mentha-2,8-diène-1-ol
octanal	$\alpha$ -terpinéol	( <i>E</i> )-carvéol

### **VI.3.2. Caractéristiques des huiles essentielles**

Si selon Verzera *et al.* (1999), la répartition qualitative des composés d'arôme contenues dans les huiles obtenues reste identique selon les procédés utilisés, la répartition quantitative des ces composés varie sensiblement. Les pelatrices fournissent des huiles à plus hautes teneurs en aldéhydes et en esters même si les huiles obtenues manuellement sont considérées de meilleure qualité.

Les huiles essentielles possèdent à de rares exceptions près des caractéristiques communes comme leur sensibilité vis-à-vis de la chaleur, de la lumière, de l'oxygène, des acides et des bases (Swaine and Swaine, 1988). Elles ont de plus en commun un grand nombre de composés et se distinguent principalement par des variations d'ordre quantitatif (Huet, 1991b) (Tableau 8).

Ainsi en fonction de leur teneur en limonène, les agrumes ont pu être scindés en deux groupes :

- le premier groupe avec les huiles d'orange (douce et amère), de pomelo et de tangerine présente des teneurs en limonène supérieures à 90 %,
  - le deuxième groupe comprenant les huiles de citron ou de bergamote présente des teneurs en limonène inférieures à 70 %.

Notons que le limonène, composé majoritaire dans les huiles essentielles d'agrumes peut donner naissance à différents composés par des réactions d'oxydation parmi lesquels le 3-méthyl but-2-énol, le (*E*)-mentha-2,8-diène-1-ol, l' $\alpha$ -terpinéol ou le carvéol (Huet, 1991a). Lund et Bryan (1978) ont comparé des essences aqueuses jugées sensoriellement de bonne et mauvaise qualité et le tableau 9 présente les composés ayant des effets positifs ou négatifs sur la qualité des huiles essentielles d'agrumes.

### **VI.3.3. Les huiles essentielles de citron**

Les huiles essentielles de citron contiennent environ 2,5 % de citral (mélange de néral et de géraniol) mais cette teneur peut, selon la variété, atteindre 6 % donnant des notes olfactives intenses au produit. Ces huiles présentent des répartitions en hydrocarbures terpéniques très caractéristiques vis-à-vis des autres agrumes. Ainsi, la teneur en limonène, présentant une note d'agrumes intense, reste souvent inférieure à 70 % ; les teneurs en  $\beta$ -pinène sont supérieures à 15 % conférant des notes herbacées et les teneurs en  $\gamma$ -terpinène sont souvent supérieures à 12 % apportant des notes résineuses (Staroscik et Wilson,

**Tableau 10. Composés d'arôme importants dans l'arôme du jus de citron (d'après Mussinan *et al.*, 1981).**

néral	valencène
géraniol	$\alpha$ -bisabolol
$\beta$ -pinène	éther éthylique de carvyle
$\gamma$ -terpinène	éther éthylique de 8- <i>p</i> -cyményle
géraniol	éther éthylique de fenchyle
acétate de géranyle	éther éthylique de linalyle
acétate de néryle	éther éthylique de myrcényle
bergamotène	éther éthylique d' $\alpha$ -terpinyle
$\beta$ -caryophyllène	épijasmonate de méthyle

1982). Notons que les huiles extraites à partir des feuilles de citronnier ne possèdent que 40 % de limonène et des teneurs en citronellal supérieures à 16 %.

L'odeur caractéristique des huiles essentielles de citron est principalement attribuée à la présence qualitative et quantitative du citral, formé des deux isomères géraniol et néral, mais aussi certainement à la présence de deux esters, les acétates de néryle et de géranyle. Ainsi, Barth *et al.* (1994) en utilisant le procédé d'extraction au dioxyde de carbone supercritique ont révélé des teneurs supérieures à 16 % pour la somme de ces deux esters dans les huiles de citron d'origine indienne.

La distribution énantiomérique des composés monoterpéniques a été étudiée dans les huiles essentielles de citron par Starrantino *et al.* (1997) : deux composés, l' $\alpha$ -pinène et le  $\beta$ -pinène, ont été identifiés très majoritairement dans leur configuration (*S*) tandis que le limonène se trouve à plus de 99 % dans sa configuration (*R*).

Notons enfin la présence, variable selon l'origine géographique, de dérivés de coumarines et de psoralènes comme le bergaptol, la 7-méthoxy-5-géranoxy coumarine ou la bergamotine.

### **Cas des jus de citron**

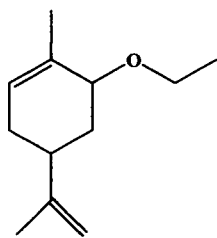
L'étude des composés d'arôme dans les jus d'agrumes a fait l'objet d'une controverse. En effet, on a pu penser que le jus renfermait une huile essentielle qui lui était propre et dont l'arôme différait de celui de l'huile essentielle de zeste. Cette notion d'huile essentielle de jus demande à être interprétée : il n'a jamais été possible de mettre en évidence des poches à huiles essentielles dans les sacs à jus du fruit (Huet, 1991a). En revanche, le flavedo, dense en glandes à huiles essentielles riches en mono et sesquiterpènes, contamine partiellement le jus lors de l'étape de pressage (Shaw, 1991).

Les huiles essentielles s'incorporent au jus de trois façons :

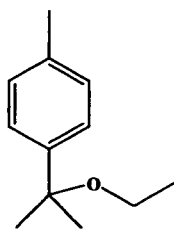
- un première partie est solubilisée en très faible proportion dans le jus,
- une seconde partie est absorbée par la pulpe en suspension,
- le reste forme une émulsion avec le jus.

Mussinan *et al.* (1981) ont pu mettre en valeur les différences de caractéristiques olfactives entre l'arôme «délicat» du jus de citron et celle des huiles essentielles issues du flavedo. Parmi plus de 300 composés identifiés, les éthers terpéniques, en particulier les éthers éthyliques de linalyle et de myrcénile, ont des arômes prédominants de citron frais. De même, les alcools sesquiterpéniques, comme l' $\alpha$ -bisabolol, semblent particulièrement

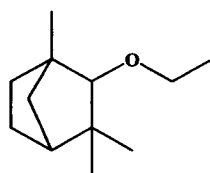




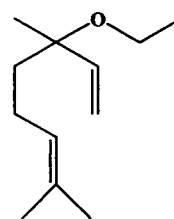
éther éthylique de  
carvyle



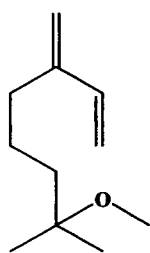
éther éthylique de 8-  
p-cyményle



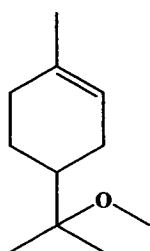
éther éthylique de  
fenchyle



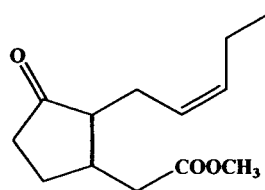
éther éthylique de  
linalyle



éther méthylique de  
myrcényle



éther éthylique d' $\alpha$ -  
terpényle



épijasmonate de  
méthyle

**Figure 26. Structures des composés éther caractéristiques  
de l'arôme de citron.**

révélateurs de l'arôme du jus de citron (Tableau 10). Enfin un hydrocarbure sesquiterpénique, le valencène, serait un composé volatil propre au jus de citron (Huet, 1991a).

L'examen des répartitions relatives des composés d'arôme majeurs d'un jus de citron fraîchement pressé et de l'huile de zeste correspondante montre que l' $\alpha$ - et le  $\beta$ -pinène sont présents en concentrations nettement supérieures dans les huiles essentielles que dans le jus tandis que plus de 14 % de l'extrait aromatique de jus est composé d'éthers éthyliques (Figure 26) et d'alcools sesquiterpéniques absents des huiles.

Les alcools mono- et sesquiterpéniques sont également très abondants dans le jus de citron avec, en particulier, des teneurs en linalol pouvant atteindre 2,8 mg/kg (T.N.O., 1996b). Ce composé à caractère floral est susceptible de se dégrader lors des différentes étapes d'obtention de jus stabilisé et d'entraîner l'apparition de géraniol, de nérol ou d' $\alpha$ -terpinéol.

Etonnamment, quelques composés soufrés ont été identifiés dans le jus de citron fraîchement pressé parmi lesquels le *p*-menth-1-ène-8-thiol également retrouvé dans le pomelo. Ces composés soufrés peuvent être responsables des «arômes retard» perçus dans le jus de citron et Shaw et Wilson (1982) ont identifié des composés soufrés hydrogénés dans les espaces de tête de la majorité des variétés d'agrumes. De tels composés introduits en quantités connues dans des jus d'agrumes frais sont, non seulement facilement détectés, mais gênent de plus l'évaluation sensorielle d'autres composés volatils.

#### **VI.3.4. Les huiles essentielles d'orange douce**

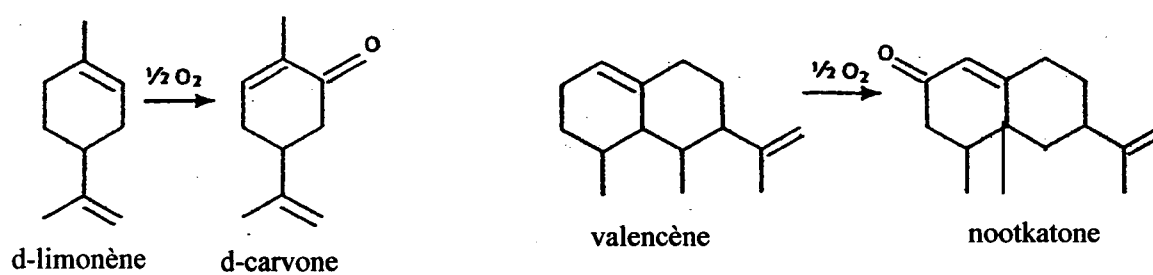
Les huiles essentielles d'orange douce occupent, en terme de quantités produites, le deuxième rang après l'huile essentielle de pin avec plus de 15000 tonnes importées aux Etats-Unis en 1994. Le coût très faible de ces huiles (<10 francs/kg) est principalement dû aux quantités considérables de jus d'orange extraites principalement par le procédé F.M.C. (cf. § I.2., p.4). En effet, cette technique d'extraction permet, outre l'obtention de jus pulpeux, la récupération d'une partie des huiles essentielles par aspersion d'eau.

Les huiles essentielles d'orange possèdent différentes caractéristiques bien particulières aptes à les différencier nettement des autres huiles essentielles d'agrumes. Le  $\beta$ -pinène et le  $\gamma$ -terpinène sont en effet absents ou en très faibles quantités et la fraction aldéhydrique revêt une importance toute particulière dans le «complexe» orange douce si bien que la qualité de ces produits est souvent exprimée en équivalent décanal.

Les huiles essentielles d'orange extraites à partir d'oranges Valencia sont considérées de qualité supérieure (Weiss, 1997). Notons que les proportions relatives en aldéhydes



**Figure 27. Structures de l' $\alpha$ -(A) et du  $\beta$ -sinensal (B).**



**Figure 28. Schémas d'oxydations du d-limonène et du valencène (d'après Huet, 1991b).**

n'atteignent leur seuil maximal qu'à la fin de la saison de récolte. Dans les huiles obtenues à partir d'oranges de Floride, les teneurs en citral (néral + géraniol) varient de 0,18 % en début de saison pour atteindre 0,26 % en fin de saison (Shaw et Coleman, 1974) ; les huiles essentielles de qualité optimale seront donc obtenues en fin de récolte.

Les huiles dont la couleur varie du jaune très pâle à l'orange très foncé présentent des teneurs moyennes en hydrocarbures terpéniques supérieures à 95 % [principalement du d-limonène en configuration (R)], en aldéhydes d'environ 1,5 % (principalement de l'octanal et du décanal), moins de 1 % d'alcools (avec le linalol comme composé majoritaire) et enfin moins de 0,5 % d'esters (acétates d'octyle et de néryle).

La forte teneur en limonène de ces huiles présente un intérêt industriel croissant. Par distillation des huiles, les dérivés du d-limonène sont séparés et utilisés dans le domaine des adhésifs, des solvants pour plastiques ou des caoutchoucs, le limonène augmentant les cinétiques de séchage de ces composés. Les  $\alpha$ - et  $\beta$ -sinensal (Figure 27), plus encore que les autres aldéhydes, sont considérés comme des composés d'impact majeurs de l'orange.

Un sesquiterpène, le valencène, a été identifié dans l'huile essentielle d'orange douce à la dose de 0,1 à 0,2 pour 100 (Huet, 1991b) ; il est également présent dans le jus du fruit. Si ce composé ne semble pas particulièrement participer à l'arôme typique de ces huiles, il paraît cependant spécifique de l'orange douce et par oxydation il donne naissance à la nootkatone (Figure 28) présentant une odeur typique de pomelo. La d-carvone est un artefact d'oxydation du d-limonène qui, tout comme la nootkatone, ne semble pas bénéfique à l'arôme «orange douce».

#### **VI.3.5. Les huiles essentielles de pomelo**

L'odeur et la saveur des huiles essentielles obtenues à partir d'écorces de pomelo («cold-pressed») sont extrêmement délicates et particulièrement caractéristiques de l'arôme de ce fruit. La composition de ces huiles présente cependant une grande variabilité selon la variété et l'état de maturité des fruits. Ainsi, la teneur en limonène de la variété «Marsh» reste relativement constante tandis que les proportions en linalol, undecanal et  $\alpha$ -pinène diminuent au cours de la maturation.. Ces huiles présentent une teneur souvent supérieure à 98 % en hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques dont plus de 90 % de limonène.

Les huiles essentielles récupérées à partir des pomelo de variétés rouge (Ruby red, Duncan sans pépin ou «seedless») possèdent des caractéristiques physico-chimiques remarquablement différentes de celles obtenues à partir des variétés blanches (Duncan à

pépin ou «seedy», Marsh sans pépin ou «seedless») avec, pour les variétés rouges, un indice de réfraction et un pouvoir rotatoire très supérieurs et des teneurs en aldéhydes inférieures à ceux des variétés blanches.

MacLeod et Buighes (1964) ont mesuré dès le début des années 60 la proportion relative d'une cétone sesquiterpénique ( $C_{15}$ ), la nootkatone. Selon Shaw et Wilson, (1981), cette molécule issue de l'oxydation du valencène (Figure 28) et présente à moins de 1 %, jouerait un rôle essentiel dans la note aromatique pomelo. Notons cependant que des traces de nootkatone ont aussi été détectées dans les huiles essentielles de bergamote, de citron et de mandarine (T.N.O., 1996a) tendant à limiter l'arôme caractéristique «pomelo» de cette molécule.

L'arôme caractéristique de ce fruit et des huiles essentielles qui en sont issues semblent au contraire le résultat d'une combinaison complexe de différents composés présents à l'état de traces et ne semble en aucun cas être caractérisé par la présence de composés majeurs (Núñez *et al.*, 1985). L'influence de la nootkatone apparaît dans ce cas des plus discutables et reste à être caractérisée quant à son influence réelle sur la saveur de ces huiles.

L'octanal et le décanal sont les deux aldéhydes majoritaires les plus fréquemment identifiés dans ces huiles avec des teneurs parfois supérieures à 0,5 % (Wilson et Shaw, 1984). Notons enfin la présence d'esters dans ces huiles et tout particulièrement, les acétates de néryle et d'octyle, mais aussi de nombreuses coumarines telle la géranoxy coumarine et de psoralènes (méthoxy psoralène, bergaptène) (Huet, 1991b).

#### **VI.3.6. Les huiles essentielles de mandarine**

L'origine géographique des fruits semble constituer un critère fondamental de la composition en composés volatils et de la qualité des huiles essentielles de mandarine. En effet, les huiles essentielles de fruits récoltés aux Etats-Unis et en Italie présentent des teneurs respectives en limonène de 91 et 67 % (Swaine et Swaine, 1988). Notons la présence de deux composés spécifiques de la mandarine, le thymol et le *N*-méthyl anthranilate de méthyle, présents dans les huiles essentielles de mandarines de Floride à des taux respectifs de 0,02 et 0,65 % (Weiss, 1997).

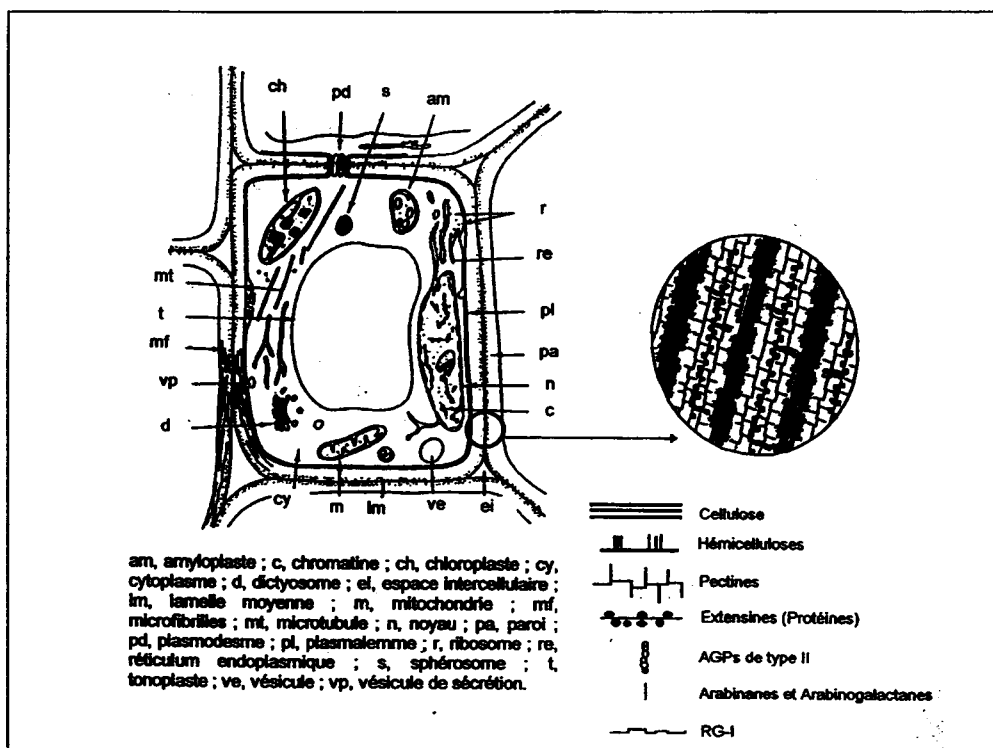


Figure 29. Représentation schématique de la cellule végétale (d'après Jewel, 1979) et de sa paroi (d'après Doco *et al.*, 1995).

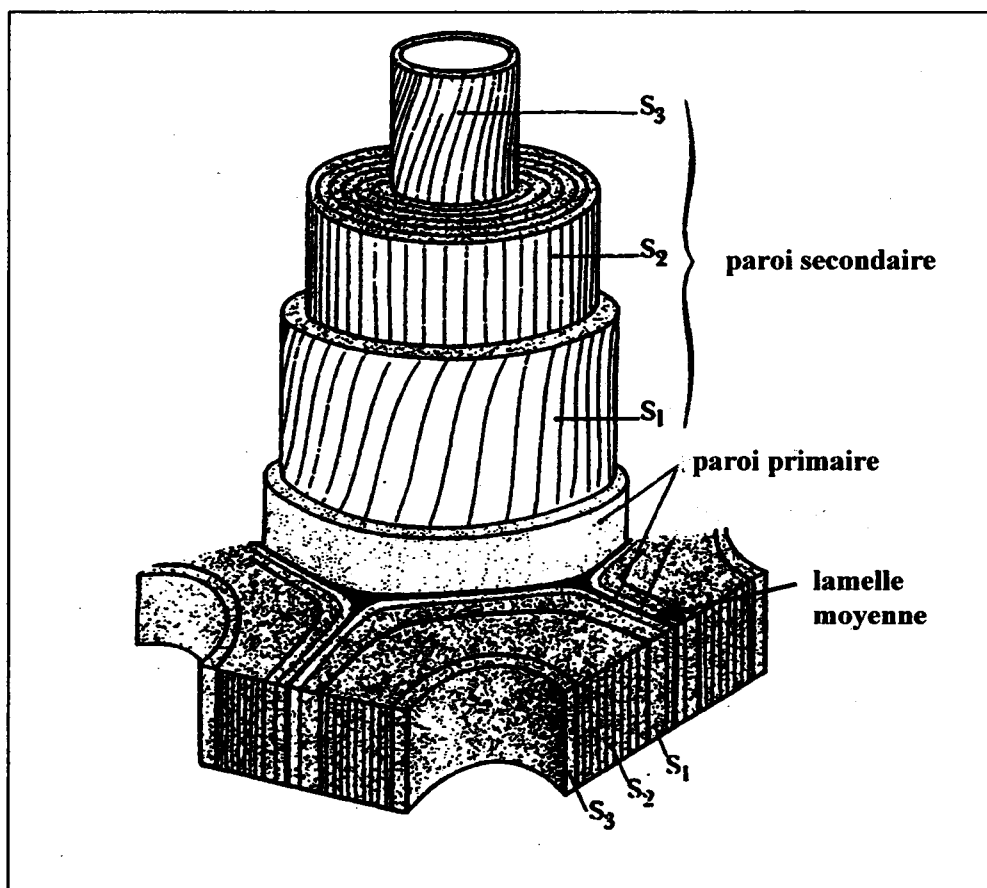


Figure 30. Les différents niveaux d'organisation de la paroi (d'après Roland, 1980).

## VII. STRUCTURE ET ORGANISATION DE LA PAROI CELLULAIRE

Les cellules végétales (Figure 29) possèdent, tout comme les cellules animales, un plasmalemmes (ou membrane plasmique) qui englobe le contenu cellulaire mais aussi une **paroi** assurant les fonctions suivantes :

- déterminer la forme et la taille de la cellule,
- permettre le soutien mécanique par sa résistance à la pression de turgescence cellulaire,
- assurer le contrôle des échanges intercellulaires par l'intermédiaire de plasmodesmes (Catesson, 1980) et la protection, en particulier, contre les infections microbiennes,
- intervenir dans le contrôle de l'accroissement cellulaire (Carpita et Gibeau, 1993).

Le mode de formation de cette paroi peut être scindé en trois étapes principales que sont la division cellulaire (mitose), l'élongation cellulaire correspondant à un dépôt de polymères pariétaux sur la paroi primaire et enfin la différenciation cellulaire. C'est lors de cette troisième étape que va s'épaissir la paroi (secondarisation) par des dépôts successifs de cellulose et d'hémicelluloses (Figure 30). Un dépôt de lignine peut parfois accompagner ce phénomène dans le cas des cellules du xylème, du sclérenchyme de soutien et dans le cas des cellules pierre (Marcelin *et al.*, 1993).

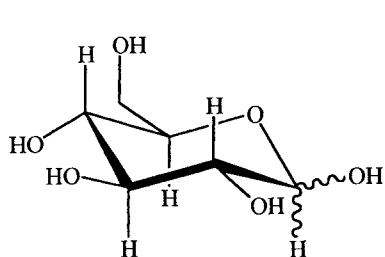
Les parois cellulaires sont issues de la polymérisation de divers résidus osidiques (Figure 31), la ramification de ces polymères donnant naissance à des réseaux plus ou moins complexes. Ces polysaccharides incluent la cellulose, les hémicelluloses de type arabinoxyanes, xyloglucanes ou mannanes ainsi que les substances pectiques acides (homogalacturonanes, rhamnogalacturonanes de types I et II) et neutres (arabinanes, arabinogalactanes de types I et II).

La paroi cellulaire est formée de deux parties distinctes :

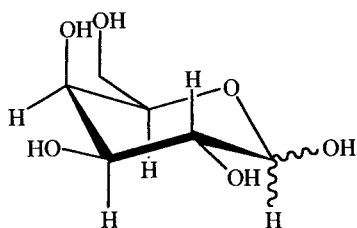
- la *lamelle moyenne* (ou ciment pectique) qui constitue la zone jonction entre les cellules. Cette zone, formée au début de la division cellulaire, est particulièrement riche en chaînes courtes de polysaccharides pectiques plutôt fortement estérifiés (Selvendran, 1985 ; Liners et VanCutsem, 1992). Cette zone fusionnée avec la paroi primaire se situe à la jonction entre les cellules végétales adjacentes et se trouve donc directement impliquée dans les phénomènes d'adhésion cellulaire.

- la *paroi primaire* est formée de polysaccharides et de protéines (respectivement 90 et 10 % du poids sec). Différents modèles structuraux ont été proposés quant à l'organisation

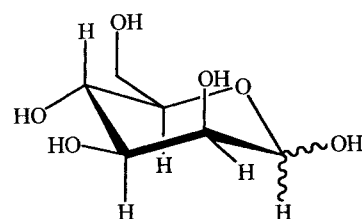
## Hexoses



$\beta$ -D-Glucose = D-Glcp

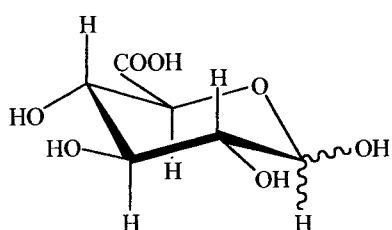


$\beta$ -D-galactose = D-Galp

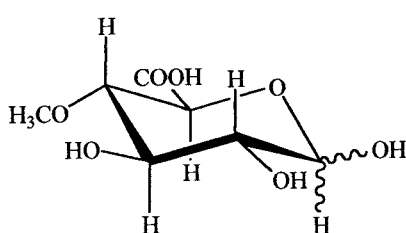


$\beta$ -D-mannose = D-Manp

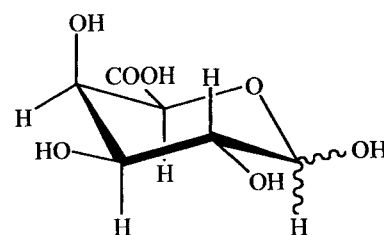
## Acides uroniques



Acide  $\beta$ -D-Glucuronique  
= D-GlcAp

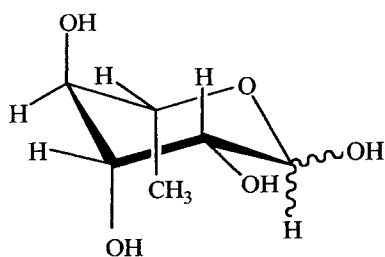


Acide 4-O-méthyl- $\beta$ -D-glucuronique  
= (4-Me)-D-GlcAp

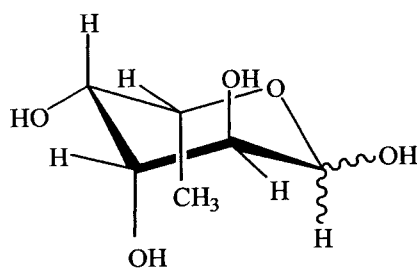


Acide  $\beta$ -D-galacturonique  
= D-GalAp

## Désoxy-6-hexoses

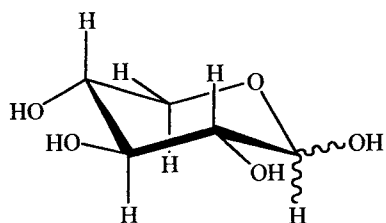


L-rhamnose = L-Rhap

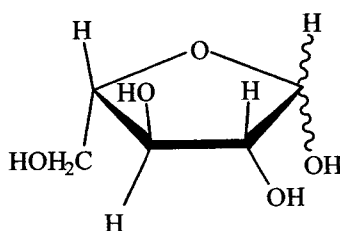


L-fucose = L-Fucp

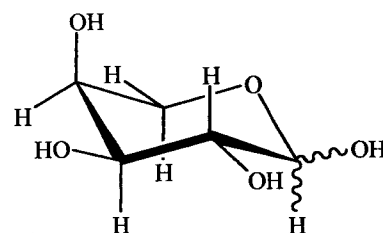
## Pentoses



D-xylose = D-Xylp



L-arabinose = L-Araf



L-arabinose = L-Arap

Figure 31. Oses constitutifs des polysaccharides de paroi cellulaire.



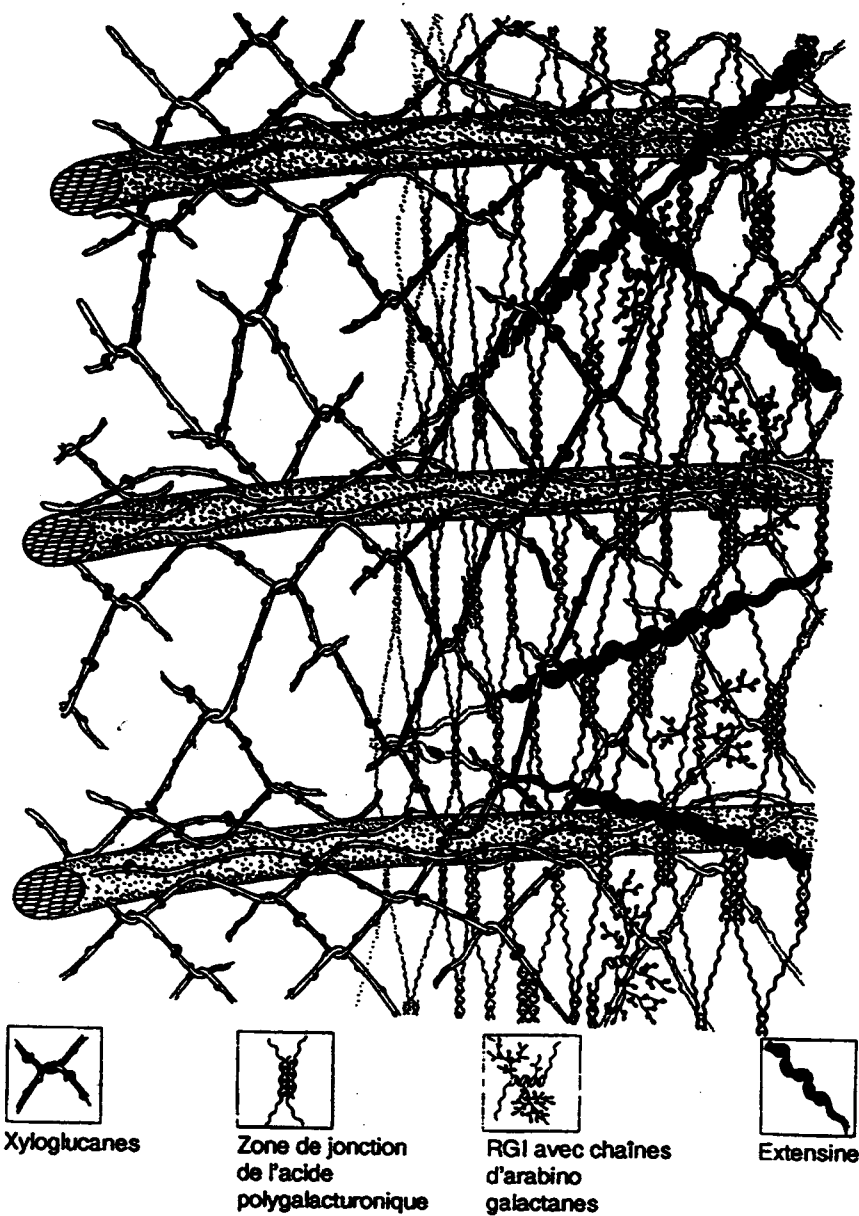


Figure 32. Modèle d'organisation de la paroi primaire (d'après Carpita et Gibeaut, 1993).

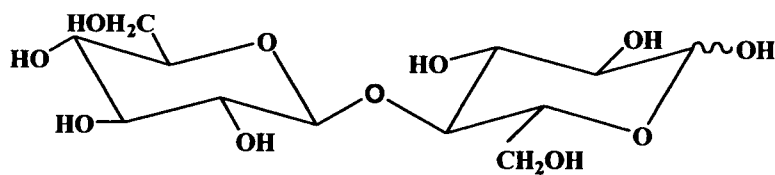


Figure 33. Structure du cellobiose.

de la paroi primaire, mais le modèle le plus régulièrement proposé est celui de Carpita et Girbeaut (1993) (Figure 32). Les trois structures polysaccharidiques que sont la cellulose, les hémicelluloses et les substances pectiques sont enchevêtrées : le complexe cellulose-xyloglucane (~ 50 %) est inséré dans la matrice pectique (~ 30 %) et les protéines sont liées à des chaînes de type arabinogalactanes. La structure semi-cristalline de la cellulose se lie par des liaisons hydrogène à une matrice amorphe constituée d'hémicelluloses et de polysaccharides pectiques pour former un réseau tridimensionnel. Des fibres d'extensine (glycoprotéines) sont insérées au sein de ce réseau pour assurer l'extension de la paroi.

## VII.1. LA CELLULOSE

La cellulose présente dans la paroi primaire possède une structure semi-cristalline la rendant insoluble dans les solvants aqueux. Elle est constituée de chaînes linéaires formées d'un enchaînement d'unités cellobiose [= 2 unités de  $\beta$ -D-glucose liées en position (1 $\rightarrow$ 4) (Figure 33)] présentant entre elles une rotation de 180 °C autour de l'axe principal. La polymérisation élevée peut aller jusqu'à former des microfibrilles de 5 à 15  $\mu$ m. Ces chaînes de longueurs variables reliées entre elles par des liaisons hydrogène peuvent se juxtaposer pour former un édifice cristallin. Le degré de cristallinité est alors défini par le rapport zone amorphe/zone de cristallinité.

## VII.2. LES HEMICELLULOSES

Les hémicelluloses constituent une très large famille constituée de l'ensemble des polysaccharides pariétaux hormis la cellulose et les polysaccharides pectiques. Ces polysaccharides amorphes sont fortement liés à la cellulose par des liaisons hydrogène et solubles dans les milieux alcalins.

### VII.2.1. Les $\beta$ -glucanes non cellulotiques

Ces polysaccharides, surtout rencontrés chez les monocotylédones, sont constitués d'enchaînements de  $\beta$ -D-glucose en (1 $\rightarrow$ 4) reliés entre eux par des liaisons (1 $\rightarrow$ 3). La liaison  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) donne une conformation hélicoïdale à la molécule lui permettant de former des microfibrilles. Ces polymères peuvent être uniquement constitués de résidus  $\beta$ -D-glucose liés en (1 $\rightarrow$ 3) (callose) et sont responsables chez les végétaux supérieurs de la formation du cal.



### VII.2.2. Les xyloglucanes (Figure 34)

Ils sont constitués d'enchaînements de  $\beta$ -D-glucose (McNeil *et al.*, 1984) substitués en O-6 par de l' $\alpha$ -D-xylose. Ce substitut peut être lui même acétylé et substitué en O-2 par du  $\beta$ -D-galactose lui même éventuellement substitué en O-2 par de l' $\alpha$ -L-fucose. Les fruits possèdent en général des teneurs élevées en fucogalactoxyloglucanes (Aspinall et Fanous, 1984).

### VII.2.3. Les xylanes (Figure 35)

Les xylanes représentent la majorité des hémicelluloses et sont particulièrement présents dans les parois secondaires. Ils sont constitués d'un enchaînement linéaire d'unités  $\beta$ -D-(1 $\rightarrow$ 4)-xylose fréquemment acétylées en O-2 ou O-3. Les chaînes uniquement constituées d'unités xylosyles sont très rares et la majorité des xylanes est substituée par des chaînons latéraux : ce sont les arabinoxylanes et glucuronoarabinoxylanes.

### VII.2.4. Les mannanes (Figure 36)

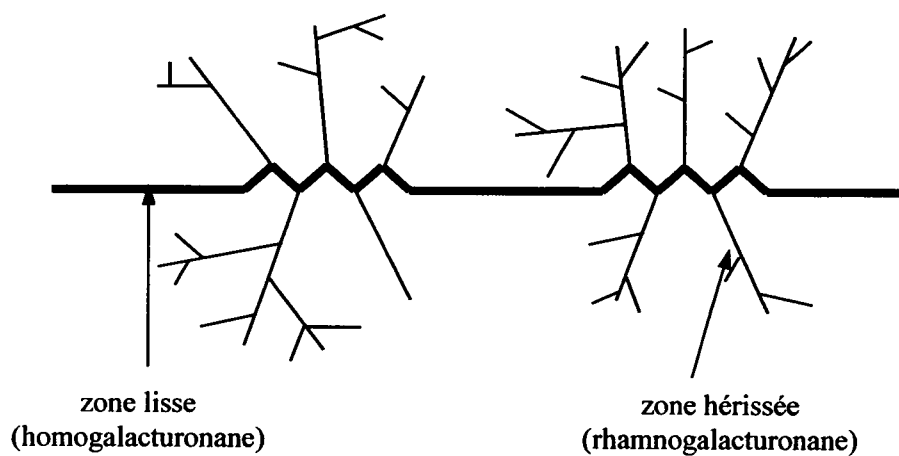
Les mannanes ont une structure similaire à celle de la cellulose et sont donc constitués d'enchaînements linéaires de  $\beta$ -D-mannose liés en (1 $\rightarrow$ 4) avec des intercalations de résidus  $\beta$ -D-glucose. Les résidus mannosyles peuvent être substitués en O-6 par du  $\beta$ -D-galactose lui même substitué en O-6 par un résidu glucose. Les résidus mannosyles et glucosyles constitutifs de la chaîne principale peuvent être acétylés en O-2 ou O-3 (Aspinall, 1980).

## VII.3. LES SUBSTANCES PECTIQUES

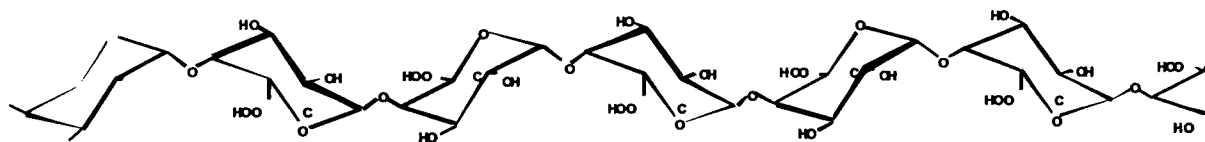
Les polysaccharides pectiques sont principalement présents dans la paroi primaire des dicotylédones mais surtout dans l'espace intercellulaire, encore appelé ciment pectique. Ils sont dans ce cas intercalés dans la matrice cellulose/hémicelluloses et jouent alors un rôle primordial dans la cohésion intercellulaire (Voragen et Pilnik, 1989).

Cette classe regroupe tous les hétéropolymères dont le squelette est principalement constitué d'acide  $\alpha$ -D-galacturonique. On distingue les polysaccharides pectiques solubles (pectines) faiblement liés à la paroi et les protopectines constitutives de la paroi qui ne peuvent être extraites sans dégradation préalable.

Les chaînes de polysaccharides pectiques peuvent être scindées en deux zones (Figure 37) :



**Figure 37. Structure des substances pectiques (d'après Marcelin, 1992).**



**Figure 38. Structure des homogalacturonanes (d'après Barrett et Northcote, 1965).**

- les zones «lisses»: il s'agit de régions riches en résidus acide galacturonique liés en  $\alpha$ -(1→4) (Barrett et Northcote, 1965),
- les zones «hérissées» : formées de l'alternance du disaccharide [ $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Rhap-(1→4)- $\alpha$ -D-GalpA(1→)] pouvant être substitué sur l'unité rhamnopyranosyle par des chaînes latérales (Aspinall, 1980),

### VII.3.1. Les homogalacturonanes (zones «lisses»)

Comme dans les chaînes cellulosiques, les résidus acide galacturonique sont liés en (1→4), les oxygènes en position 1 et 4 se trouvant alors en position *trans*. Ces polymères, de par la liaison  $\alpha$ -(1→4), ont une structure en ruban plissé à 180 ° dans laquelle chaque résidu fait face à son voisin (Figure 38).

Les résidus acide galacturonique peuvent être estérifiés en C-6 par un groupement méthyle (méthylestérification) et acétylés en O-2 ou O-3 (acétylation). Suivant l'importance de ces substitutions, on définit un degré de méthylestérification et un degré d'acétylation représentant le rapport acides galacturoniques estérifiés/acides galacturoniques totaux (Saulnier et Thibault, 1987). Ces chaînes pourront aussi être neutralisées par la liaison de la fonction carboxylique dissociée avec des cations comme le calcium, le sodium ou le potassium.

Le degré de méthylestérification (dm) permet de scinder les polysaccharides pectiques en deux groupes : les pectines faiblement (dm < 50) et fortement méthylées (dm > 50). Il varie suivant la zone pariétale (Knox *et al.*, 1990) puisqu'un gradient de méthyl estérification s'établit dans les pectines de la paroi primaire proche de la membrane plasmique (pas de méthylestérification) jusqu'au ciment pectique (dm > 50).

### VII.3.2. Les rhamnogalacturonanes de type I (zones «hérissées»)

La structure du rhamnogalacturonane de type I est constituée par la répétition du disaccharide [ $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-Rhap-(1→4)- $\alpha$ -D-GalAp-(1→)] (Massiot, 1988). Les substitutions par les chaînes latérales neutres s'effectuent principalement sur les oxygènes en position 3 et 4 des unités rhamnosyles mais aussi sur les oxygènes 2 et 3 des acides galacturoniques avec des substituants pouvant être suivant la nature des polymères, des résidus arabinosyles, galactosyles, xylosyles ou des chaînes latérales d'arabinanes, de galactanes et d'arabinogalactanes.



### VII.3.3. Les arabinanes

Les chaînes latérales neutres d'arabinanes sont constituées d'enchaînements de résidus  $\alpha$ -L-arabinose liés en (1 $\rightarrow$ 5). Ces chaînes peuvent elles-mêmes être substituées sur les oxygènes 2 et 3 par des arabinoses (Brillouet et Carré, 1983) (Figure 39). Les arabinanes sont du fait de leur haut degré de ramification hautement solubles dans l'eau.

### VII.3.4. Les galactanes et les arabinogalactanes de types I et II

Les galactanes sont constituées d'enchaînements linéaires de  $\beta$ -D-galactoses liés en (1 $\rightarrow$ 4) (Biswas et Rao, 1969) et sont fréquemment substitués sur les oxygènes en position 3 par des unités  $\alpha$ -L-arabinose ou des chaînes d' $\alpha$ -L-arabinose liées en (1 $\rightarrow$ 5) pour former des arabinogalactanes de type I (Figure 40, A).

Les arabinogalactanes de type II (Figure 40, B) sont constitués d'un squelette principal d'unités  $\beta$ -D-galactose liées en (1 $\rightarrow$ 3) substituées sur les oxygènes en position 6 par de courtes chaînes de D-galactose liés en  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6) (Saulnier et Thibault, 1987). Ces chaînes latérales de D-galactane peuvent être elles-mêmes substituées sur les oxygènes en position 3 et/ou 4 par différentes unités monosaccharidiques (arabinose, mannose, glucose), de l'acide glucuronique et des disaccharides [Rhap-(1 $\rightarrow$ 4)-Glc pA] (Aspinall, 1980). Ces molécules peuvent enfin être complexées avec des protéines riches en hydroxyproline (Saulnier et Brillouet, 1989) pour former des complexes arabinogalactanes-protéines (protéoglycane). Ce type d'association protéique est fréquemment rencontré chez les fruits comme le citron (Aspinall et Cottrell, 1970), la pomme (De Vries *et al.*, 1983) ou la papaye (Be Miller et Dikko, 1986).

### VII.3.5. Le rhamnogalacturonane de type II (RG-II)

A l'instar des homogalacturonanes, le RG-II a un squelette principal constitué d'un enchaînement de résidus acide galacturonique. Il s'agit d'un polysaccharide complexe de faible masse moléculaire (entre 4500 et 5000 Daltons) basé sur huit résidus d'acide galacturonique qui portent quatre chaînes latérales (Puvanesarajah *et al.*, 1991). Ces chaînes sont principalement constituées :

- d'oses rares (2-O-méthyle-fucose, 2-O-méthyle-xylose),
- d'oses acides (acide 3-déoxy-D-manno-oct-2-ulopyranosonique ou Kdo, acide-3-déoxy-D-lyxo-hept-2-ulopyranosonique ou Dha),
- d'oses ramifiés [3-C-(hydroxyméthyle)-D-érythrofurane ou apiose].



## ***Matériels et Méthodes***

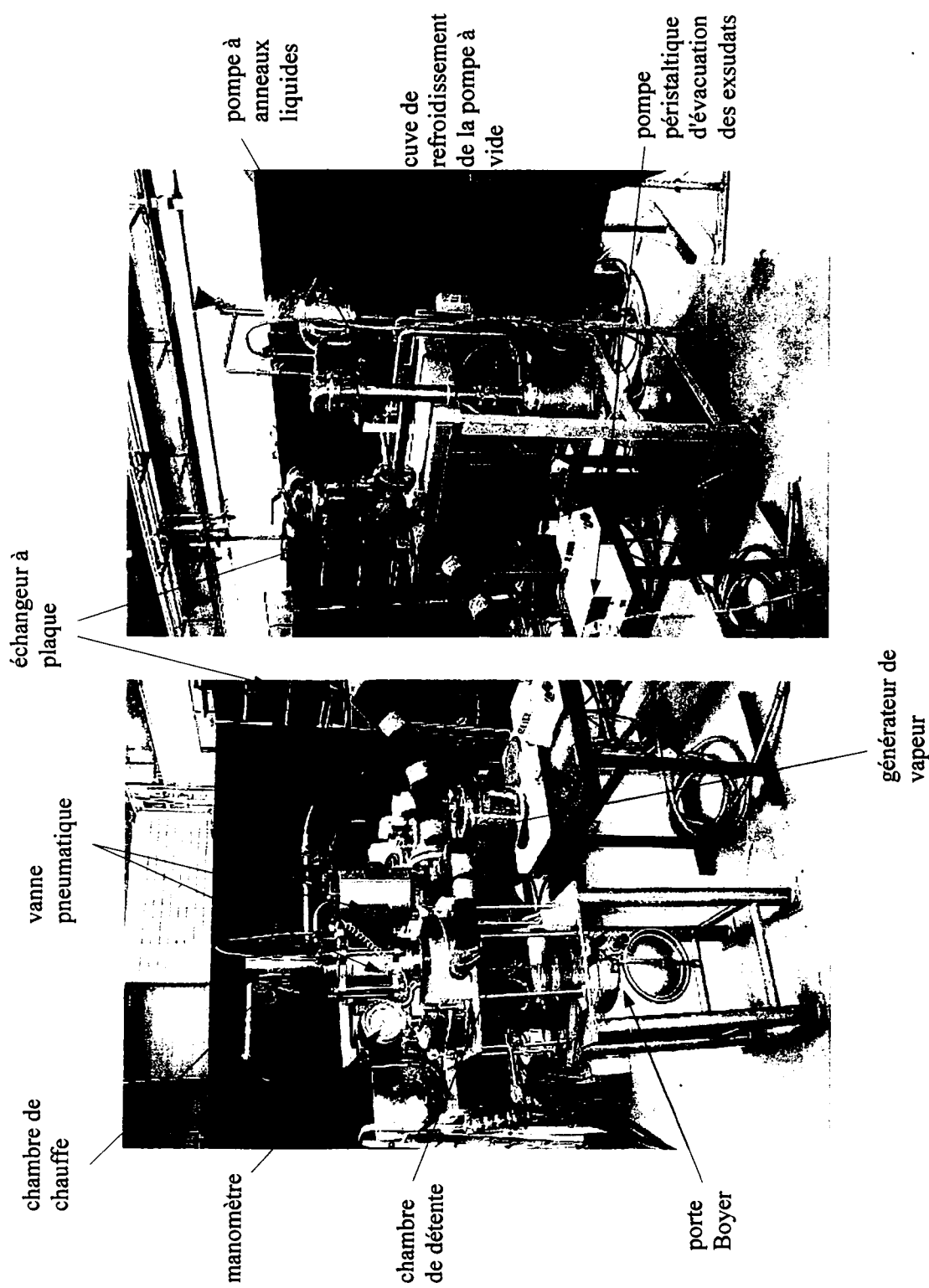


Photo 4. Pilote expérimental de flash-détente® (Aurore Développement, Ile de la Réunion).

## I. MATERIELS

### I.1. PILOTES DE FLASH-DETENTE® ET APPAREILS ANNEXES

Les fruits et leurs sous-produits ont été traités sur deux appareils pilote de flash-détente® décrits ci-après :

#### I.1.1. Pilote expérimental (Photo 4)

Ce pilote, aimablement mis à notre disposition par la Société Aurore-Développement, (Ile de la Réunion), fonctionne de manière discontinue et ne permet donc pas, de part le faible volume de la chambre de chauffe, de traiter des quantités importantes de matériel végétal. Le chauffage des fruits est effectué par injection de vapeur, générée par un autocuiseur, dans une chambre de chauffe cylindrique en acier ; les fruits étuvés sont alors introduits brutalement dans la chambre de détente par l'intermédiaire d'une vanne pneumatique.

##### *Caractéristiques techniques :*

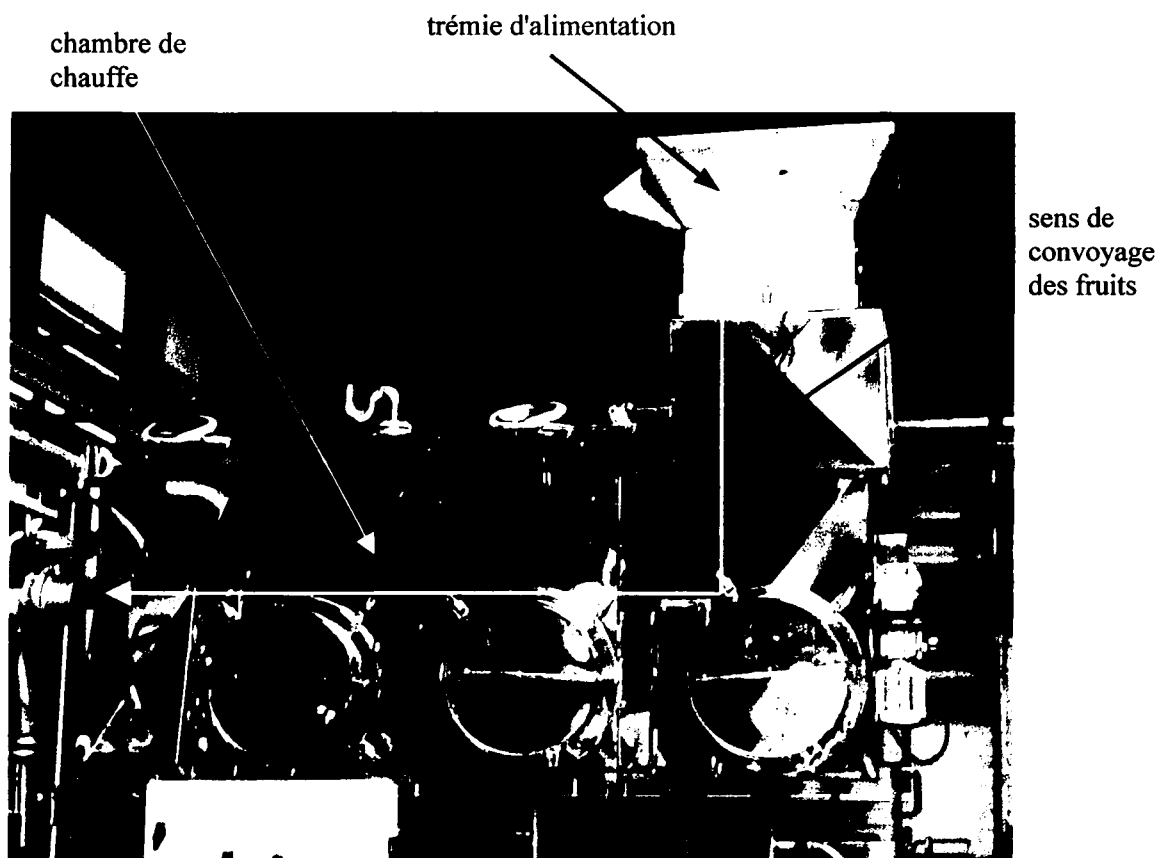
- chambre de chauffe cylindrique :  $\varnothing = 12$  cm;  $h = 24$  cm; volume = 2,7 l,
- vanne pneumatique : pression d'ouverture = 10 bars; temps d'ouverture  $\sim 0,5$  s,
- chambre de détente :  $\varnothing = 30$  cm;  $h = 48$  cm; volume = 34 l.

#### I.1.2. Pilote semi-industriel

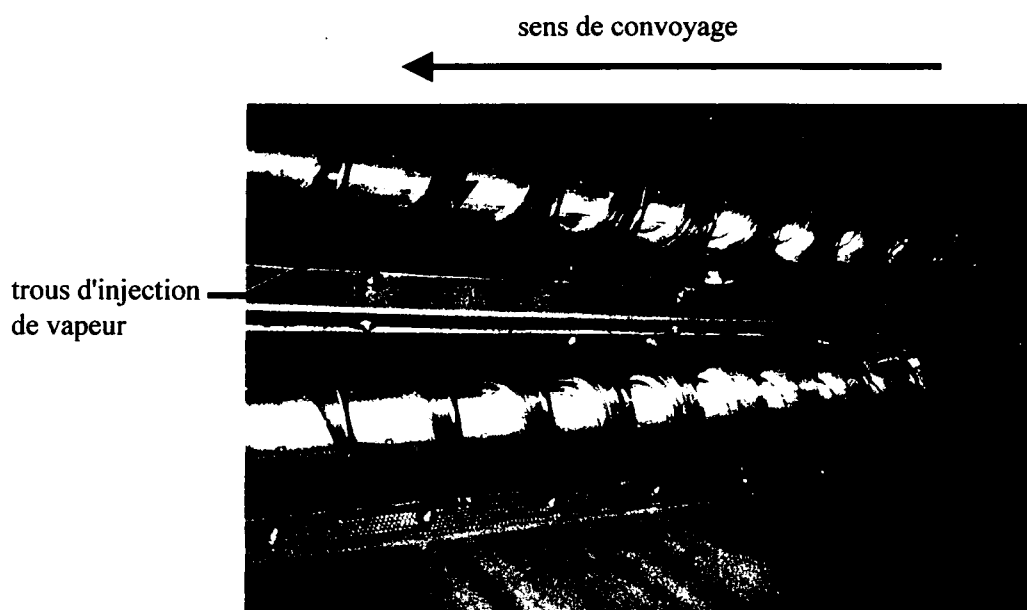
Ce pilote, aimablement mis à notre disposition par la Société Fabbri S.A., fonctionne de manière continue avec un débit maximal de 600 kg/h et permet donc de traiter des quantités importantes de matières végétales. Le chauffage des fruits est effectué dans un tunnel muni d'une vis à injection de vapeur (Photos 5 et 6) qui par rotation convoie les fruits vers la chambre de détente (Photo 7). La vis de transfert vers la chambre de détente est munie d'un joint étanche au vide et permet donc au procédé de fonctionner en continu.

##### *Caractéristiques techniques :*

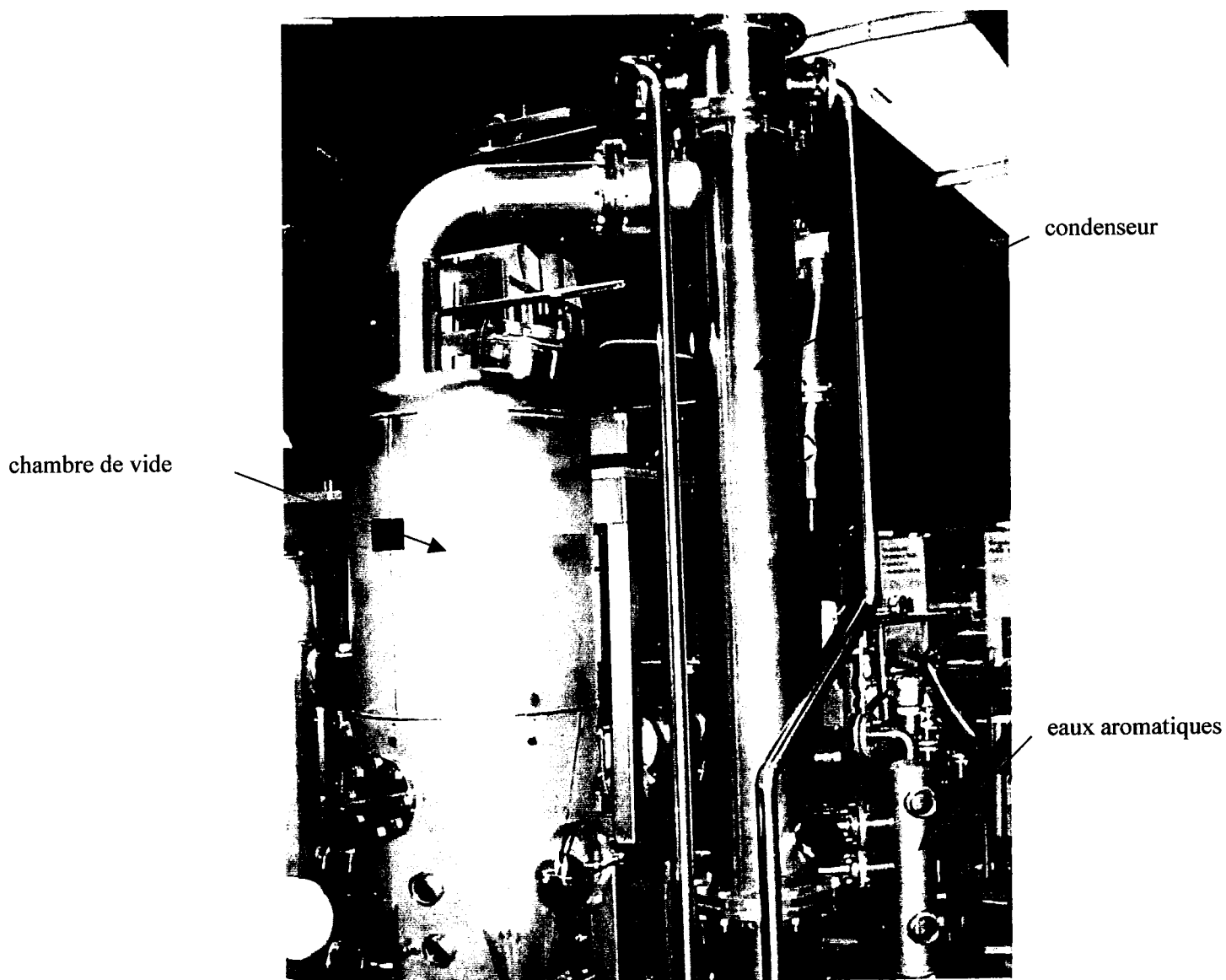
- chambre de chauffe :  $L = 230$  cm;  $l = 40$  cm;  $h = 50$  cm,
- vis à injection de vapeur :  $L = 220$  cm,  $\varnothing = 15$  cm,
- chambre de détente :  $\varnothing = 60$  cm;  $h = 150$  cm; volume = 424 l.



**Photo 5. Chambre de chauffe et trémie d'alimentation du pilote semi-industriel de flash-détente® (Fabbri S.A., France).**



**Photo 6. Vis à injection de vapeur du pilote semi-industriel de flash-détente® (Fabbri S.A., France).**



**Photo 7. Chambre de détente et condenseur du pilote semi-industriel de flash-détente® (Fabbri S.A., France).**

### I.1.3. Raffineuse (Photo 8)

Les produits issus du procédé de flash-détente<sup>®</sup> ont été raffinés sur une raffineuse Auriol (Marmande, France) équipée d'un tamis de taille de maille 1 mm.

### I.1.4. Extracteur à jus (Photo 9)

Les écorces d'orange et de pomelo ont été préparées par extraction des jus sur extracteur Santos<sup>®</sup>. Les fruits sont coupés en deux hémisphères par une lame tranchante, et chaque demi-fruit est pressé automatiquement sur un cône. Les écorces récupérées sont immédiatement traitées par le procédé de flash-détente<sup>®</sup>.

### I.1.5. Presse-agrume

Les citrons et clémentines n'ayant, ni une taille, ni une forme adaptées à l'extraction automatique, les écorces ont été obtenues après section des fruits en deux par pressage manuel sur presse-agrume rotatif.

## I.2. MATERIEL VEGETAL

Les fruits et sous-produits de fruits traités par le procédé de flash-détente<sup>®</sup> avaient les origines suivantes :

#### \*pour la préparation de purées :

- fruit de la passion (*Passiflora edulis* Sims) variété pourpre ; origine Kenya,
- citrons [*Citrus limon* (L.) Burm.] variété Vernas ; origine Espagne,
- mangues (*Mangifera indica* L.) variété Amélie ; origine Mali,

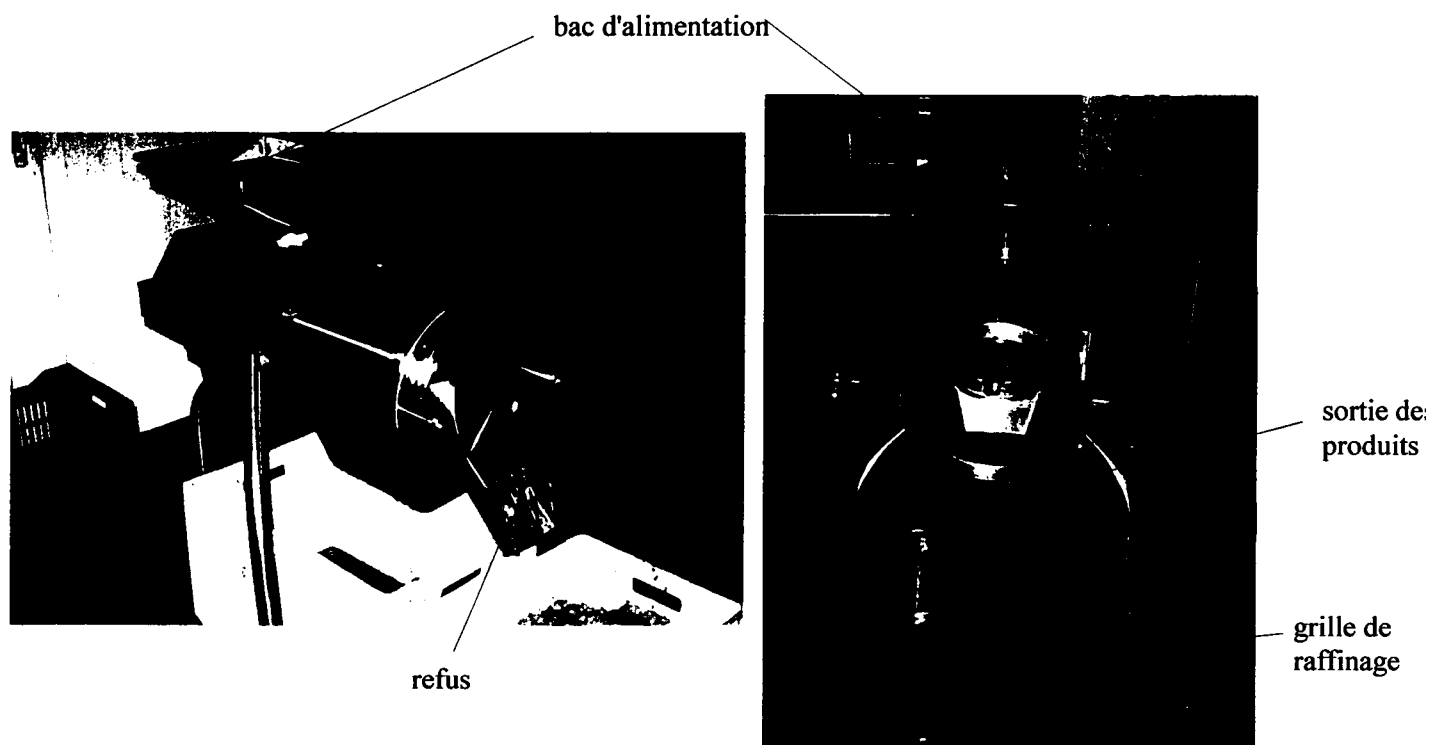
#### \*pour l'obtention d'huiles essentielles :

- citrons [*Citrus limon* (L.) Burm.] variété Primafiori ; origine Espagne,
- oranges (*Citrus sinensis* Osb ), variété Naveline ; origine Espagne
- mandarines (*Citrus reticulata* Blanco) variété Villalate ; origine Espagne,
- pomelos (*Citrus paradisi* MacFayden) variété Ruby Red ; origine Espagne.

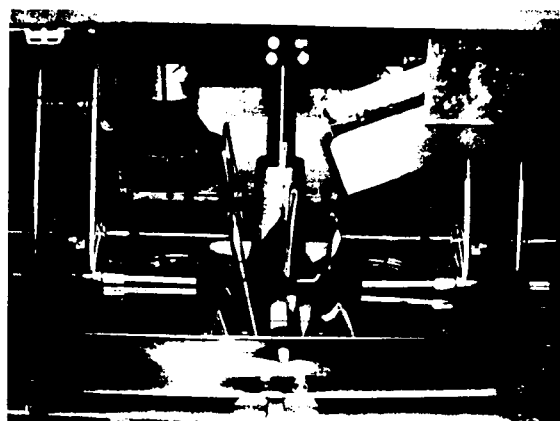
## I.3. MOLECULES DE REFERENCE ET SOLVANTS

Les molécules de référence avaient les origines suivantes :

\*anthocyanes et anthocyanidols : 3-glucoside de cyanidol, 3-rutinoside de cyanidol, 3-glucoside de malvidol (Extrasynthèse, France) ; chlorure de pélargonidine (Sigma, USA),



**Photo 8. Raffineuse Auriol type PH3 (Auriol, Marmande, France).**



**Photos 9. Extracteur de jus d'agrumes (SANTOS, Espagne).**

\*caroténoïdes : *all-trans*  $\beta$ -carotène,  $\beta$ -cryptoxanthine, zéaxanthine, lycopène, lutéine (Extrasynthèse, France),

\*flavonoïdes : narirutine, ériocitrine, néoériocitrine (Extrasynthèse, France) ; naringine, hespéridine (Sigma, USA),

\*limonine (Sigma, USA),

\*composés volatils de référence : du plus haut degré de pureté disponible (Aldrich, Sigma, USA ; Fluka, Suisse).

Les différents solvants mis en œuvre étaient de la meilleure qualité disponible (Aldrich, USA).

## II. MISE EN OEUVRE DU PROCEDE DE FLASH-DETENTE®

**Principe** : les fruits entiers ou leurs sous-produits sont dans un premier temps chauffés par injection de vapeur (blanchiment) dans une **chambre de chauffe** (Figure 41). Lors de cette étape, les **exsudats** dus à la condensation de la vapeur chauffante sont récupérés séparément. Dans un deuxième temps, les fruits étuvés sont brutalement introduits dans une **chambre de vide**. Cette introduction sous vide entraîne une chute immédiate de la température du matériel végétal ainsi que l'évaporation d'une partie de l'eau de constitution des fruits. Cette évaporation brutale provoque un broyage fin du matériel végétal dû à une perte de la cohésion inter-cellulaire ; on obtient une purée semi-finie. Les eaux d'évaporation sont récupérées sous forme d'**eaux aromatiques** par l'intermédiaire d'un condenseur.

### II.1. PREPARATION DES PRODUITS

#### II.1.1. Préparation des purées de fruit de la passion

Ces produits ont été obtenus avec le pilote expérimental (cf. § I.1.1., p. 47). Environ 1,5 kg de fruits entiers sont introduits dans la chambre de chauffe et étuvés en 10 min jusqu'à 85 °C à cœur. Les fruits étuvés sont ensuite subitement introduits dans la chambre de détente à un vide de 30 mBar. L'évaporation immédiate de l'eau de constitution entraîne la désintégration des fruits et permet d'obtenir une purée semi-finie. Cette purée est raffinée à



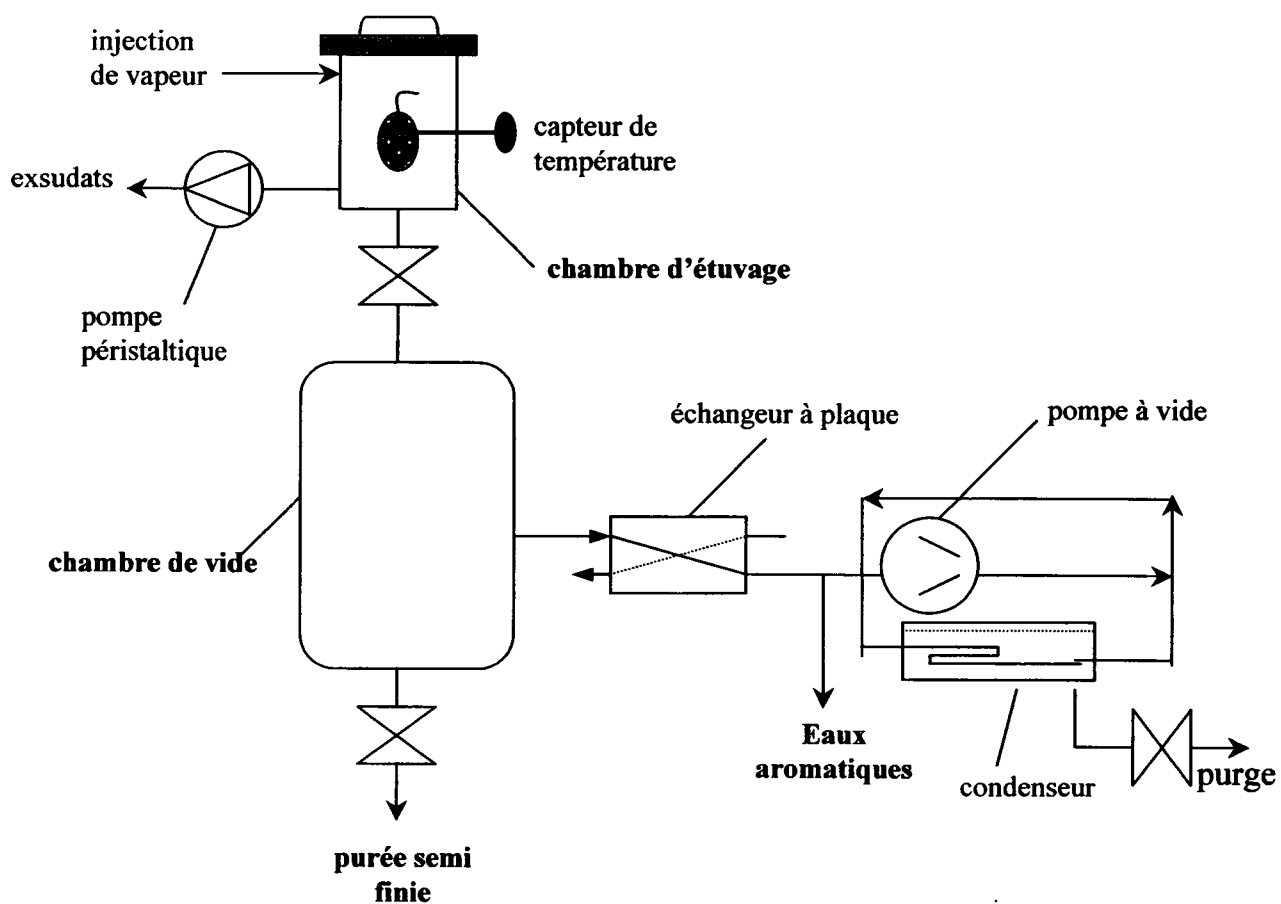


Figure 41. Schéma du pilote flash-détente de laboratoire.

l'aide d'une raffineuse munie d'une grille perforée ( $\varnothing = 1$  mm). Les eaux aromatiques sont recueillies en sortie du condenseur pour analyse et réintroduction éventuelle dans le produit final.

Afin d'étudier l'effet spécifique de la détente sous vide, 3 produits ont été préparés :

- un produit natif ou «*jus natif*» : les fruits sont coupés en 2 et directement raffinés,
- un produit étuvé ou «*purée étuvée*» : les fruits sont simplement étuvés puis raffinés,
- un produit flashé ou «*purée flash-détente*®» : les fruits subissent la séquence complète – étuvage, flashage, et raffinage.

Les produits obtenus sont conservés pour partie à + 4 °C (pour mesures rhéologiques) et pour partie à moins 20°C (autres mesures).

### **II.1.2. Préparation des purées de mangue**

Ces produits ont été obtenus avec le pilote expérimental (cf. § I.1.1., p. 47). Environ 1,5 kg de mangues sont introduites dans la chambre de chauffe et étuvés en 30 min jusqu'à 85 °C à cœur. Les fruits étuvés sont ensuite subitement introduits dans la chambre de détente à un vide de 30 mBar. L'évaporation immédiate de l'eau de constitution entraîne la désintégration des fruits et permet d'obtenir une purée semi-finie. Ces produits sont raffinés par une raffineuse munie d'une grille perforée ( $\varnothing = 1$  mm),

Afin d'étudier l'effet spécifique de la détente sous vide, 2 produits ont été préparés :

- un produit natif ou «*purée native*» : les fruits sont directement raffinés,
- un produit flashé ou «*purée flash-détente*®» : les fruits subissent la séquence complète étuvage, flashage, et raffinage.

### **II.1.3. Préparation des purées pectiques de citron**

Ces produits ont été obtenus avec le pilote expérimental (cf. § I.1.1., p. 47). Les citrons (5 kg) (var. Vernas catégorie I) sont tout d'abord «grattés» (ou abrasés) en surface pendant 10 min dans une parmentière afin d'éliminer la quasi-totalité du flavedo, zone contenant la majorité des huiles essentielles. La diminution sensible de la teneur en huiles essentielles du produit final permet d'éviter la sensation organoleptique de «chaleur en bouche».

Ces fruits sont ensuite traités de façon similaire aux fruits de la passion : 3 produits sont préparés :

- *jus «natif»* : les citrons, coupés en 2 après grattage, sont directement introduits dans la raffineuse munie d'une grille perforée ( $\varnothing = 1$  mm),

- **purée étuvée** : les citrons entiers après grattage sont coupés en 2, étuvés pendant 14 min jusqu'à 85-90°C à cœur, puis raffinés comme précédemment,

- **purée flash-détente<sup>®</sup>** : les citrons entiers après grattage sont étuvés pendant 14 min jusqu'à 85-90°C à cœur puis immédiatement introduits dans la chambre de détente sous vide (30 mBar). Les fruits désintégrés après cette étape sont raffinés comme précédemment.

#### **II.1.4. Extraction d'huiles essentielles d'écorces d'agrumes**

Ces produits ont été obtenus avec le pilote semi-industriel de flash-détente<sup>®</sup> (cf. § I.1.2., p. 47). Les glandes à huiles essentielles contenues dans le flavedo des agrumes sont désintégrées lors du traitement de flash-détente<sup>®</sup>. Les huiles sont vaporisées simultanément à l'eau de constitution des fruits et récupérées par condensation, puis centrifugation.

Des lots de 150 à 200 kg d'écorces sont étuvés jusqu'à obtention d'une température de l'albedo proche de 90°C (temps de convoyage ~ 7 min). L'introduction sous vide des écorces précédemment étuvées provoque l'éclatement des glandes à huiles essentielles, lesquelles sont ensuite condensées et recueillies sous la forme d'une émulsion avec les eaux aromatiques. Ces huiles sont ensuite séparées des eaux aromatiques par décantation à 4°C pendant 24 h à l'abri de la lumière.

Des prélèvements sont effectués à chaque étape du procédé : écorces natives, écorces après pressage, écorces après étuvage, écorces après détente sous vide.

### **III. METHODES ET TECHNIQUES**

#### **III.1. pH**

Le pH des jus et des purées après dilution à l'eau distillée est mesuré sous agitation magnétique avec un pH-mètre Hanna LCD (Singapour).

#### **III.2. Acidité titrable**

**Principe** : l'acidité titrable est déterminée en mesurant la quantité d'ions OH<sup>-</sup> nécessaires pour neutraliser l'ensemble des cations d'acides organiques présents dans la solution. Elle peut être indépendamment exprimée en milliéquivalents pour 100 g de jus ou en g d'acide citrique pour 100 g de produit. La conversion est effectuée en tenant compte de la masse

molaire de l'acide citrique ( $M = 194 \text{ g / mole}$ ) et de la normalité de l'acide citrique (tri-acide).

**Protocole :** 10 g de jus ou de purée sont dilués au  $1/5^{\text{ème}}$  avec de l'eau distillée. La titration est effectuée sous agitation magnétique avec de la soude 0,1N jusqu'à pH 8,1 (Askar et Treptow, 1993c).

### **III.3. Mesure de l'extrait sec soluble (degré Brix)**

**Principe :** la concentration en extrait sec soluble est mesuré par réfractométrie. La déviation de l'angle lumineux est rapporté à la teneur en éléments solubles présents dans le milieu (sucres, acides organiques, alcool...). Les sucres sont très majoritaires dans la plupart des fruits et l'indice réfractométrique est directement converti *par approximation* à la teneur en sucres dans le milieu (1 degré Brix correspond à 10 g de sucres par l).

**Protocole :** 1 g de jus ou de purée est centrifugé à 10000 tr par min pendant 5 min. 200  $\mu\text{l}$  du surnageant sont placés sur la vitre du réfractomètre puis la lecture est effectuée à température ambiante.

### **III.4. Détermination de la matière sèche**

La matière sèche a été déterminée par passage à l'étuve à  $50^\circ\text{C}$  pendant 3 h puis une nuit à  $60^\circ\text{C}$  à l'étuve sous vide.

### **III.5. Dosage des sucres libres par chromatographie ionique**

**Principe :** les sucres sont extraits de leur matrice végétale par de l'éthanol 80 % bouillant, puis analysés par chromatographie ionique sur système Dionex.

**Protocole :** ces dosages ont été effectués par le laboratoire d'analyse du programme Agro-Alimentaire du Département CIRAD-AMIS. L'échantillon est additionné d'éthanol à 80 % puis porté à ébullition douce et sous reflux pendant une 1 h. Après centrifugation, le surnageant est récupéré tandis que le culot subit une deuxième extraction. Les deux surnageants sont réunis, filtrés, concentrés à  $\sim 15\text{-}20 \text{ ml}$ , puis injectés sur système Dionex.

### **III.6. Dosage des acides organiques par chromatographie ionique**

**Principe :** les anions organiques et minéraux sont extraits de leur matrice végétale par une solution d'éthanol acidifié. Les cations sont retenus sur une résine échangeuse de cations. Les anions sont ensuite analysés par chromatographie ionique sur système Dionex.

**Protocole :** ces dosages ont été effectués par le laboratoire d'analyses du programme Agro-Alimentaire du Département CIRAD-AMIS. 500 mg de matière sèche d'échantillon sont additionnés de 50 ml de solution d'acide chlorhydrique 1 N et la suspension est portée à ébullition sous reflux pendant une 1 h. Après centrifugation, le surnageant est ramené à 50 ml par de l'alcool à 20 %. Dans un godet, on additionne à 1 g de résine échangeuse de cations sous forme  $H^+$  (Amberlite IR120) 1 à 5 ml de solution suivant les teneurs attendues et on complète à 10 ml par de l'eau distillée. Après 5 min d'agitation douce, l'extrait obtenu est filtré à 0,45  $\mu m$  et analysé par chromatographie ionique sur système Dionex.

### **III.7. Dosage des protéines**

Les teneurs en protéines ont été déterminées par dosage de l'azote par la technique de micro-Kjeldhal (Bietz, 1974). L'azote organique est oxydé en sulfate d'ammonium par l'acide sulfurique concentré à chaud en présence d'un catalyseur approprié. L'azote ammoniacal formé par addition de phénol en milieu alcalin est dosé par colorimétrie suite à l'addition d'hypochlorite de sodium. La coloration bleue due à la formation d'indophénol est mesurée à 630 nm. La teneur en protéines est obtenue en multipliant la teneur en azote par 6,25.

Ces dosages ont été effectués par le département d'analyse élémentaire du service central d'analyse du C.N.R.S. (Vernaison, France).

### **III.8. Extraction et dosage des anthocyanes**

**Principe :** les anthocyanes sont des composés polaires possédant une grande affinité vis-à-vis des solvants polaires ayant une constante diélectrique ( $\epsilon$ ) importante. L'extraction doit être menée en milieu acide afin de déplacer l'équilibre de dissociation (cf. § IV.1.3., p. 21) et de doser les anthocyanes sous forme cation flavylum.

**Protocole :** 400 mg de jus ou de purée déshydratés de fruit de la passion sont extraits par 3 x 10 ml de méthanol acidifié à 1 % par de l'acide chlorhydrique fumant. Après filtration sur fritté n°4, l'extrait est ramené à sec sous vide à 30 °C avec addition en cours d'évaporation de 2 x 5 ml d'eau afin d'éviter les risques d'hydrolyse. Le résidu sec est repris dans 2 ml de méthanol acidifié à 1 % et l'extrait est filtré sur filtre 0,45  $\mu m$ . Les anthocyanes sont ensuite séparés par C.L.H.P. et dosés en utilisant le 3-glucoside de cyanidol comme étalon externe.

*Conditions C.L.H.P. :*

- injecteur à boucle : vol = 20  $\mu l$ ,

**Tableau 11. Gradient de solvants utilisé pour la séparation des anthocyanes par C.L.H.P. d'après Le Traon, 1998).**

temps (min)	solvant A (%)	solvant B (%)
0	97	3
7	97	3
22	80	20
30	68	32
35	65	35
40	60	40
45	50	50
50	20	80
55	97	3

- pompe : Spectra System P1000XR,
- détecteur : Spectra System UV 3000 ( $\lambda = 510$  nm),
- colonne : Lichrospher 100 RP-18 (5  $\mu$ m) (250 x 4 mm) (Merck) thermostatée à 30 °C,
- logiciel d'acquisition : Spectra System TSP PC1000.

**Solvants** : un gradient de solvants binaire (Tableau 11) à 1 ml/min est utilisé (Letraon-Masson, 1998) :

A : eau/acide formique (98/2, v/v),

B : acétonitrile/eau/acide formique (80/18/2; v/v/v).

Les anthocyanidols, aglycones des anthocyanes, ont été obtenus de la façon suivante : les extraits ont été purifiés sur cartouche Sep-Pak C<sub>18</sub> préconditionnée par 4 ml de méthanol et 8 ml d'eau. 1 ml d'extrait est déposé sur la cartouche, les sucres sont éliminés par lavage par 15 ml d'eau et les anthocyanes glycosilés sont élués par 4 ml de méthanol acidifié (HCl 1 %) (Hong et Wrolstad, 1986). L'extrait est ensuite ramené à sec, hydrolysé par 500  $\mu$ L d'acide trifluoroacétique 2 N pendant 2 h à 120 °C, amené à sec et repris par du méthanol avant injection en C.L.H.P.

### **III.9. Extraction et dosage des caroténoïdes**

**Principe** : les caroténoïdes sont extraits par un mélange de solvants puis les extraits sont analysés par C.L.H.P. Les caroténoïdes étant photosensibles, les extractions sont menées sous lumière rouge.

**Protocole** (Taungbodhitham *et al.*, 1998) : 5 g de jus ou de purée de fruit de la passion sont extraits sous agitation par 35 ml d'éthanol/hexane (4/3, v/v) additionnés de 50 mg de carbonate de magnésium. Le milieu est filtré sur fritté n°4 ; on fait ensuite passer sur le fritté :

- 35 ml d'éthanol/hexane (4/3, v/v) additionnés de 50 mg de carbonate de magnésium,
- 2 x 12,5 ml d'éthanol,
- 12,5 ml d'hexane.

Ces solutions sont ajoutées à l'extrait initial et la phase organique est récupérée par séparation dans une ampoule à décanter. La phase solvant est ensuite lavée avec 2 x 50 ml de chlorure de sodium à 10 % dans l'eau, 3 x 50 ml d'eau, puis ramenée à sec et finalement reprise par 500  $\mu$ l de solvant hexane/chloroforme (9/1, v/v). Les caroténoïdes sont ensuite séparés par C.L.H.P. et dosés en utilisant le  $\beta$ -carotène comme étalon externe. Ils sont

**Tableau 12. Gradient de solvants utilisé pour la séparation des caroténoïdes par c.l.h.p.**

temps (min)	solvant A (%)	solvant B (%)	solvant C (%)	solvant D (%)	débit (ml/min)
0	10	85	2,5	2,5	0,7
10	10	85	2,5	2,5	0,7
40	10	45	22,5	22,5	0,7
60	10	85	2,5	2,5	1,5
65	10	85	2,5	2,5	0,7

A : méthanol, B : acétonitrile, C : dichlorométhane, D : hexane.



aussi dosés par mesure de l'absorption de l'extrait global à 453 nm, maximum d'absorption du  $\beta$ -carotène dans l'hexane.

*Conditions C.L.H.P. :*

- injecteur à boucle : vol = 20  $\mu$ l,
- pompe : Spectra System P1000XR,
- détecteur : Spectra System UV 3000 ( $\lambda$  = 450 nm),
- colonne : Lichrospher 100 RP-18 (5  $\mu$ m) (250 x 4 mm) (Merck) thermostatée à 30°C,
- logiciel d'acquisition : Spectra System TSP PC1000.

*Solvants* : Un gradient de solvants quaternaire (Tableau 12) a été utilisé (Khachik, 1989) :

- A : méthanol,
- B : acétonitrile,
- C : dichlorométhane,
- D : hexane.

### **III.10. Extraction et dosage des flavonoïdes**

**Principe** : les flavonoïdes contenus dans les purées de citron sont extraits par utilisation d'un solvant polaire en milieu oxydant. Les composés amérisants contenus dans les extraits sont séparés et quantifiés par C.L.H.P.

**Protocole** : 100 mg de jus ou de purée de citron déshydratés sont extraits pendant 1 h par 3 x 1 ml du mélange méthanol/diméthylsulfoxyde (1/1, v/v). Le volume final est amené à 5 ml avec du méthanol. L'extrait est filtré sur filtre 0,45  $\mu$ m puis injecté en C.L.H.P. (Kawaii *et al.*, 1999). Les flavonoïdes sont ensuite séparés par C.L.H.P. et dosés en utilisant l'héspéridine et l'ériocitrine comme étalons externes.

*Conditions C.L.H.P. :*

- injecteur à boucle : vol = 20  $\mu$ l,
- pompe : Spectra System P1000XR,
- détecteur : Spectra System UV 3000 ( $\lambda$  = 280 nm),
- colonne : Lichrospher 100 RP-18 (5  $\mu$ m) (250 x 4 mm) (Merck) thermostatée à 30°C,
- logiciel d'acquisition : Spectra System TSP PC1000.

*Solvants* : Un gradient de solvants isocratique ternaire à 1 ml/min a été utilisé (Rousseff *et al.*, 1987) :

- A : eau (79,5 %),
- B : acétonitrile (20 %),

C : acide formique (0,5 %).

### **III.11. Extraction et dosage de la limonine**

**Principe** : la limonoate A-lactone est convertie en limonine par acidification du mélange, puis la limonine est extraite par un solvant de polarité moyenne. L'extrait est ensuite analysé par C.L.H.P.

**Protocole** : 5 g de jus ou de purée sont additionnés de 25 ml d'eau et le mélange est ramené à pH 2 par addition d'acide chlorhydrique 2 N. La limonine est extraite par 60 ml d'acétate d'éthyle pendant 15 min (Hasegawa *et al.*, 1991). La phase solvant est ensuite récupérée par centrifugation pendant 8 min à 10000 tr/min puis ramenée à sec. L'extrait sec est repris par 1 ml d'acétonitrile et la limonine est enfin dosée par C.L.H.P. en utilisant la limonine comme étalon externe.

*Conditions C.L.H.P.* :

- injecteur à boucle : vol = 20  $\mu$ l,
- pompe : Spectra System P1000XR,
- détecteur : Spectra System UV 3000 ( $\lambda$  = 207 nm),
- colonne : Lichrospher 100 RP-18 (5  $\mu$ m) (250 x 4 mm) (Merck) thermostatée à 30°C,
- logiciel d'acquisition : Spectra System TSP PC1000.

*Solvants* : Un gradient de solvants ternaire en mode isocratique à 0,5 ml/min est utilisé (Shaw et Wilson, 1984) :

- A : acétonitrile (17,5 %),
- B : tétrahydrofurane (17,5 %),
- C : eau (65 %).

### **III.12. Préparation des matériels insolubles dans l'alcool (M.I.A.)**

**Principe** : la méthode de préparation est basée sur l'insolubilité des constituants polysaccharidiques pariétaux dans l'éthanol à 80 % (v/v) (Selvendran, 1975). Le matériel pariétal peut alors être séparé des constituants cytoplasmiques et vacuolaires qui sont solubles dans ce milieu.

Ce traitement par l'éthanol 80 % bouillant permet :

- par le traitement thermique : d'inhiber les activités enzymatiques endogènes (pectine-méthylestérases, polygalacturonases) aptes à dégrader les polysaccharides pariétaux,

- d'éliminer les constituants de faibles masses moléculaires comme les sucres (saccharose, fructose...), les acides organiques (acide tartrique, acide citrique...) si leur concentration n'est pas trop importante et les pigments (anthocyanes, ...),

- de précipiter les polysaccharides pariétaux mais aussi d'éviter la solubilisation des pectines spontanément solubles dans l'eau (pectines faiblement liées à la paroi).

L'insoluble est filtré sur fritté puis déshydraté par différents solvants de volatilité croissante afin de le purifier des lipides et des pigments résiduels.

**Protocole** : 100 g de matériel végétal sont additionnés de 400 ml d'éthanol absolu bouillant. Le mélange parfaitement homogénéisé est maintenu ½ h à ébullition. Après filtration sur fritté n°3, le précipité est successivement lavé par deux volumes d'éthanol absolu, 2 volumes d'acétone et 1 volume d'éther. Le précipité est enfin totalement déshydraté par passage une nuit à l'étuve sous vide à 55°C.

### **III.13. Désamidonnage enzymatique du matériel insoluble dans l'alcool (M.I.A.)**

**Principe** : le désamidonnage des M.I.A. de fruit de la passion est effectué enzymatiquement selon le procédé décrit par Brillouet *et al.* (1988). Une  $\alpha$ -amylase thermostable hydrolyse les liaisons  $\alpha$ -(1→4) des chaînes de glucose pour libérer des maltodextrines.

**Protocole** : 10 g de M.I.A. sont broyés dans l'azote liquide à l'aide d'un broyeur à bille oscillant (Dangoumill 300) pendant 5 min à vitesse maximale. Le broyat est ensuite dispersé dans 120 ml de diméthylsulfoxyde à 90 % et agité pendant 30 min à 100°C. 240 ml de tampon acétate bouillant (pH 5,0) sont ensuite ajoutés. On rajoute ensuite 200 µl d' $\alpha$ -amylase thermostable de *Bacillus licheniformis* (type XII-A ; 382 µKat/ml, pH 6,9, 20°C, Sigma Chemical Co., USA); après 15 min d'incubation à 100°C, le mélange est refroidi à 40 °C puis 1 ml d'amyloglucosidase d'*Aspergillus niger* (AMG 400L de type LP ; 13 µKat/mL, pH 4,3, 25°C; Novo-Nordisk, Danemark) est ajouté. Après 2 h d'incubation à 40°C sous agitation permanente, le mélange est centrifugé pendant 10 min à 18500 g. Après addition de 4 volumes d'éthanol, le M.I.A. désamidonné est récupéré comme précédemment (cf. § III.12., p. 56).

### **III.14. Extraction des pectines en conditions non-dénaturantes**

**Principe** : une partie des polysaccharides pectiques faiblement liés à la paroi peut être solubilisée par utilisation de solvants appropriés. Si l'eau ou les solutions tamponnées en règle générale sont de mauvais solvants des pectines, elles permettent cependant de limiter

au maximum la dégradation des polysaccharides extraits. L'eau utilisée pour les extractions est ramenée à pH 4 correspondant au pH de stabilité maximale des pectines.

**Protocole :** 1 g de MIA est mis en suspension sous agitation permanente dans 50 ml d'eau distillée acidifiée à pH 4 (acide nitrique 0,1 N) pendant 45 min à 20°C. Le milieu est centrifugé 10 min à 18500 tr/min puis le culot est soigneusement redispersé dans 25 ml d'eau acidifiée (pH 4). L'échantillon est centrifugé une deuxième fois dans les mêmes conditions, puis les 2 surnageants sont réunis et filtrés sur fritté. Les pectines solubilisées sont précipitées par addition de 4 volumes d'éthanol absolu puis le précipité obtenu est filtré sur fritté n°4 et abondamment lavé à l'éthanol absolu. Après redissolution dans un minimum d'eau distillée, le milieu est congelé à - 48°C et enfin lyophilisé (lyophilisateur USIFROID SM.H.15., France) pendant 24 h. Le lyophilisat est pesé et conservé dans un dessiccateur sous vide sur silicagel.

### **III.15. Extraction des pectines en milieu acide à chaud**

Le principe et le protocole restent identiques à la méthode d'extraction en conditions non dénaturantes mais les pectines sont dans ce cas extraites à 100 °C pendant 30 min par l'eau acidifiée à pH 1,5 par de l'acide chlorhydrique 1 N. Ces conditions d'extraction permettent d'accroître très nettement les rendements d'extraction mais sont cependant dénaturantes et entraînent certains bouleversements au niveau de l'organisation polysaccharidique.

### **III.16. Dosage des acides uroniques**

**Principe :** les polysaccharides du matériel végétal sont hydrolysés par de l'acide sulfurique concentré (Ahmed et Labavitch, 1977). Par ajout de *meta*-hydroxydiphényle (MHDP) (Blumenkrantz et Asboe-Hansen, 1973), les acides uroniques ainsi libérés forment un complexe rose qui sera dosé par colorimétrie. Cette réaction présente une spécificité particulière vis-à-vis des acides uroniques puisque les oses neutres ne forment pas de complexe avec le MHDP. Ce dosage ne permet cependant pas de distinguer l'acide galacturonique de l'acide glucuronique (en très faible concentration chez les végétaux) ; la teneur en acides uroniques est donc assimilée à celle de l'acide galacturonique.

**Protocole :** 5 mg de MIA ou de pectines solubles sont préhydrolysés dans 2 ml d'acide sulfurique (36 N) à 4°C sous agitation permanente. Après dissolution quasi-totale du matériel végétal, le milieu d'hydrolyse est amené à 20 ml avec de l'eau distillée. 400 µl d'essai ou de solution étalon sont incubés pendant 10 min à 100 °C en présence de 2,4 ml de tétraborate de sodium à 12,5 mM dans l'acide sulfurique 36 N. Après refroidissement

dans un bain d'eau glacée, 40 µl d'une solution de MHDP à 0,15 % dans de la soude à 125 mM sont ajoutés. Après exactement 10 min d'incubation à température ambiante, la lecture est effectuée à 520 nm.

Des blancs sont réalisés car les oses neutres développent dans ces conditions une coloration brunâtre : le MHDP est alors remplacé par de la soude 125 mM pour chaque échantillon. Une gamme étalon d'acide galacturonique (0 à 100 µg/ml) est préalablement préparée. Les résultats sont exprimés en acide anhydrogalacturonique en appliquant un facteur multiplicatif égal à 0,907 correspondant à la perte d'une molécule d'eau.

### III.17. Dosage des polysaccharides neutres

#### *Dosage des polysaccharides neutres non-cellulosiques*

**Principe** : les liaisons glycosidiques des polysaccharides sont hydrolysés par l'acide trifluoroacétique 2 N (Albersheim *et al.*, 1967). Les oses neutres ainsi libérés sont réduits en alditols (Blakeney *et al.*, 1983), acétylés en acétates d'alditol, et analysés par C.P.G.

**Protocole** : 5 mg de M.I.A. ou de pectines solubles sont *hydrolysés* par 500 µl d'acide trifluoroacétique 2 N pendant 2 h à 120 °C. L'acide est ensuite évaporé sous courant d'air à 40 °C. 250 µl d'étalon interne (solution d'inositol à 1 mg/ml) sont ensuite rajoutés puis l'échantillon est à nouveau ramené à sec. Les échantillons sont *réduits* par 500 µl de borohydrure de sodium à 20 mg/ml dans l'ammoniaque 2 M pendant 2 h à 60 °C. Le borohydrure résiduel est détruit par 500 µl d'acétone, puis les échantillons sont à nouveau ramenés à sec et *acétylés* par ajouts successifs de 100 µl d'acétate d'éthyle, 1,5 ml d'anhydride acétique et 50 µl d'acide perchlorique. Après 15 min de réaction, l'excès d'anhydride acétique est détruit par 5 ml d'eau puis on rajoute 50 µl de 1- méthyl imidazole. Les acétates d'alditol sont ensuite *extraits* par 500 µl de chloroforme. Après décantation, la phase aqueuse supérieure est éliminée et la phase solvant inférieure est stockée à -20 °C.

Les acétates d'alditol sont *injectés* sur un chromatographe en phase gazeuse muni d'une colonne en phase greffée HP-225 ME Siloxane (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm) en condition isotherme à 210°C. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont de 250°C et le gaz vecteur est l'hydrogène à 1 ml/min. 2 µl d'échantillon sont injectés et les oses sont dosés par référence à l'aire du pic d'étalon interne. Trois classes d'oses sont dosés par ce procédé, les hexoses, les pentoses et les méthylpentoses. Les résultats sont donc exprimés

en appliquant un facteur multiplicatif correspondant à la perte d'une molécule d'eau : 0,9 pour les hexoses, 0,88 pour les pentoses et 0,89 pour les méthylepentoses.

### ***Dosage des polysaccharides neutres totaux***

**Principe** : la totalité des liaisons glycosidiques, c'est-à-dire celles présentes dans la cellulose et les polysaccharides neutres non-cellulosiques, est hydrolysée par l'acide sulfurique concentré (Saeman *et al.*, 1954; Hoebler *et al.*, 1989). L'utilisation d'acide concentré permet dans ce cas de rompre le réseau cellulosique cristallin rendant la cellulose hydrolysable.

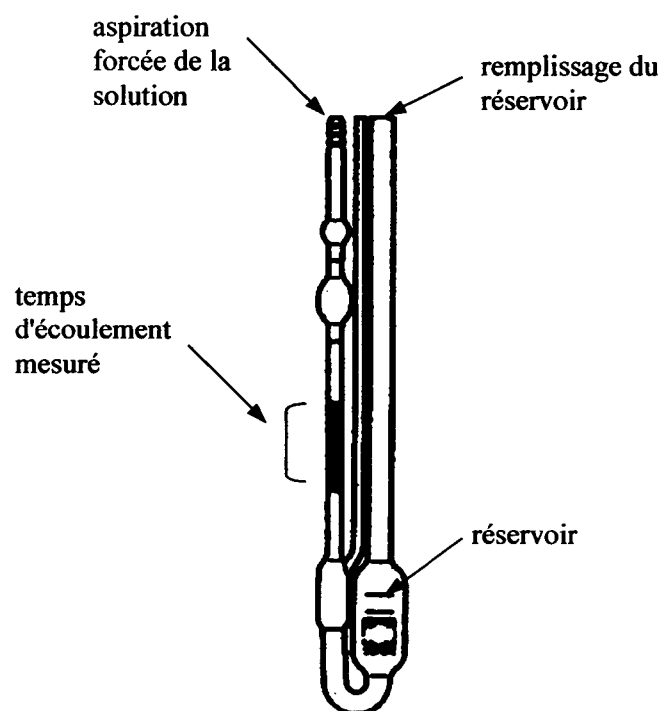
La teneur en glucose cellulosique est donc calculée par différence entre la teneur totale en glucose obtenue suite à l'hydrolyse complète des polysaccharides par l'acide sulfurique concentré et la teneur en glucose non-cellulosique déterminée par hydrolyse à l'acide trifluoroacétique.

**Protocole** : 5 mg de M.I.A. sont préhydrolysés par 150 µl d'acide sulfurique à 72 % (p/p) pendant 30 min à température ambiante. La concentration en acide sulfurique dans les échantillons est ramenée à 2 N par addition de 1,55 ml d'eau et l'hydrolyse est poursuivie pendant 2 h à 100°C. Les échantillons sont finalement neutralisés par saturation à l'hydroxyde de baryum et centrifugés 10 min à 10000 tr/min. Les surnageants sont évaporés sous courant d'air à 40 °C et soumis aux étapes de réduction et d'acétylation.

### **III.18. Dosage des esters méthyliques**

**Principe** : les groupements esters méthyliques portés par le carbone en position 6 de l'acide galacturonique sont saponifiés. Le méthanol libéré est ensuite oxydé en formaldéhyde par l'alcool oxydase (EC 1.1.3.13) à pH 7,5. Le formaldéhyde réagit ensuite avec une cétone, la pentan-2,4-dione, pour former un complexe coloré jaune, la 3,5-diacétyl 1,4-diméthyl pentan-2,4-dione. L'intensité colorante est mesurée par spectrométrie d'absorption à 412 nm, maximum d'absorption du complexe formé (Klavons et Bennett, 1986).

**Protocole** : 5 mg de MIA ou de pectine soluble sont saponifiés par 10 ml de soude 0,5 N à température ambiante pendant 30 min. Les échantillons sont ramenés à pH 7,5 par addition de quelques gouttes d'acide orthophosphorique concentré. 500 µl de cette solution sont alors incubés avec 500 µl d'alcool oxydase (16 nkat/ml) pendant 15 min à 25 °C. La réaction colorée est initiée par l'ajout de 1 ml de pentan-2,4-dione à 20 mM dilué dans l'acide acétique 50 mM contenant de l'acétate d'ammonium 2 M. Ce composé réagit



**Figure 42. Schéma du viscosimètre capillaire Ubbelohde (d'après Askar et Treptow, 1993).**

avec le formaldéhyde pour former un complexe jaune en 15 min à 60 °C. La densité optique est mesurée après refroidissement à 412 nm contre un blanc traité de manière identique mais dont l'enzyme a été préalablement dénaturée par 10 min d'ébullition. Une gamme étalon de méthanol de 0 à 20 µg/ml est réalisée pour chaque dosage.

### III.19. Détermination de la viscosité intrinsèque des pectines

**Principe :** la viscosité  $\eta$  (Pa.s<sup>-1</sup>) représente la résistance qu'oppose un fluide à une contrainte qu'on lui impose. La caractéristique rhéologique majeure des pectines est leur capacité à augmenter la viscosité d'une solution même à de très faibles concentrations. Un solvant de force ionique suffisante sera nécessaire afin de limiter au maximum les répulsions électrostatiques entre les chaînes de pectines. Le comportement rhéologique des pectines sera alors similaire à celui de polymères neutres (Owens *et al.*, 1946).

Les temps d'écoulement du solvant pur ( $t_s$ ) et des solutions pectiques ( $t_i$ ) de concentrations décroissantes sont mesurés. A partir du temps d'écoulement des solutions de pectines, trois caractéristiques peuvent être calculées (Fishman *et al.*, 1989) :

- viscosité relative :  $\eta_{rel} = t_i/t_s$ ,
- viscosité spécifique :  $\eta_{spé} = \eta_{rel} - 1$ ,
- viscosité réduite :  $\eta_{red} = \eta_{spé} \times c^{-1}$  (ml/g)
- viscosité inhérente :  $\eta_{inh} = (\ln \eta_{rel}) \times c^{-1}$  (g/ml),

avec  $c$  étant la concentration du soluté dans le solvant,  $t_i$  = temps d'écoulement du soluté (s),  $t_s$  = temps d'écoulement du solvant (s).

Les droites de régression des viscosités réduite et inhérente sont ensuite tracées en fonction de la concentration en polymères. La viscosité intrinsèque ( $\eta_{int}$  en ml/g) est déterminée par extrapolation de ces deux droites à concentration nulle.

**Protocole :** les temps d'écoulement des solutions de pectines diluées dans du chlorure de sodium à 0,155 M ont été mesurées avec un viscosimètre capillaire micro-Ubbelohde (Figure 42) de SCHOTT GERÄTE (Allemagne) à 25 °C. Quatre concentrations (~ 1 à 4 mg/ml) sont obtenues par dilutions successives de la solution mère avec le solvant pur. Trois répétitions sont effectuées pour chaque échantillon.



**Tableau 13. Masses moléculaires en poids et viscosités intrinsèques des pullulanes étalons.**

pullulane	masse moléculaire x 10 <sup>-4</sup>	viscosité (cm <sup>3</sup> /g)
P800	85,3	186,5
P400	38,0	115,5
P200	18,6	70,4
P100	10,0	45,9
P50	4,8	28,6
P20	2,37	18,1
P10	1,22	11,9
P5	0,58	7,9

### **III.20. Détermination de la masse moléculaire viscosimétrique moyenne des pectines par viscosimétrie**

**Principe** : d'après Owens *et al.* (1946), la viscosité intrinsèque est fonction de la longueur des chaînes de polymères et une estimation de la masse moléculaire peut être obtenue en utilisant l'équation de Mark-Houwink :

$$\eta_{\text{int}} = a \times M_v^b$$

$M_v$  est la masse moléculaire viscosimétrique moyenne du polymère,  $a$  et  $b$  des constantes déterminées sur des polymères dont la masse moléculaire est déjà connue. L'équation adaptée pour les pectines d'agrumes dans une solution de NaCl à 0,155 mM à 25 °C peut s'écrire :

$$\eta_{\text{int}} = 1,4 \times 10^{-4} \times M_v^{1,34}$$

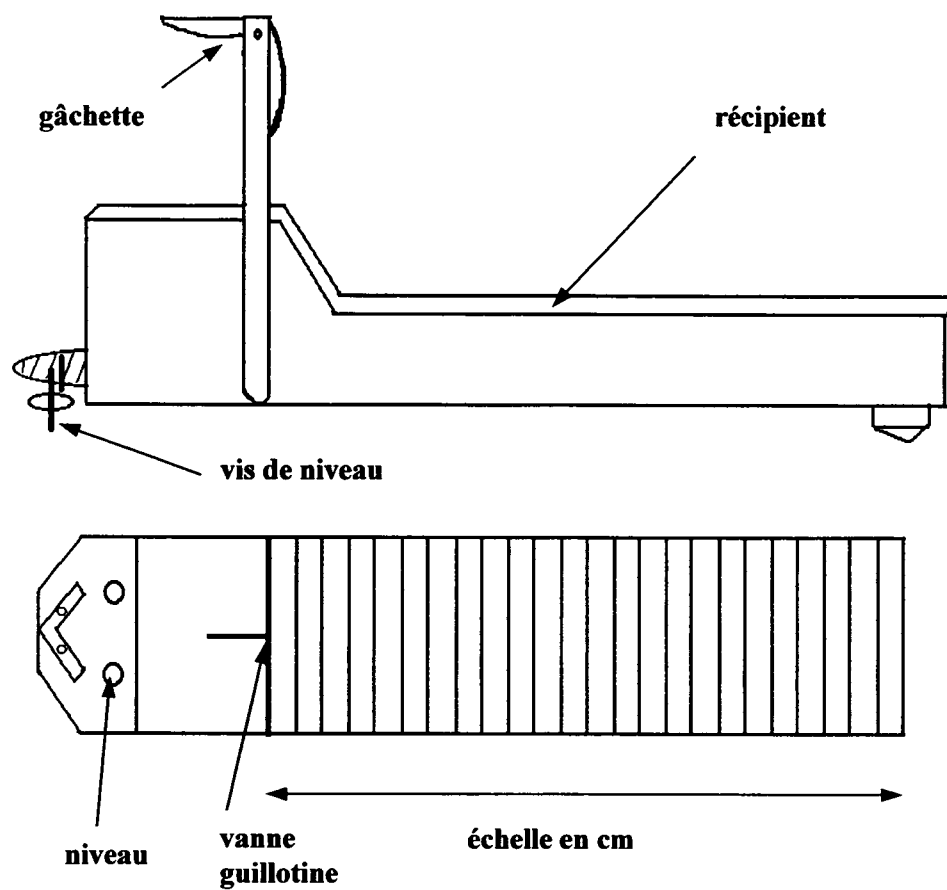
La viscosité intrinsèque de la solution ayant été précédemment déterminée (cf. § III.19., p. 61), la masse moléculaire peut donc être déterminée.

### **III.21. Détermination de la masse moléculaire moyenne en poids des substances pectiques par calibration universelle**

**Principe** : le volume hydrodynamique des pectines est fonction du produit de la masse moléculaire en poids par la viscosité intrinsèque. De plus, la loi de calibration universelle d'Einstein a permis de montrer qu'il existait une relation linéaire entre le temps d'élution des polymères sur une colonne stérique et le logarithme népérien du produit de la viscosité intrinsèque par la masse moléculaire en poids du polymère.

Un solvant de force ionique suffisante sera utilisé afin d'annuler les répulsions électrostatiques entre les chaînes de polymères pectiques. La séparation ne dépendra plus alors que de la masse moléculaire des polysaccharides (Pellerin et Brillouet, 1992).

**Protocole** : 1 mg de pectine soluble est solubilisé dans 250 µl de nitrate de lithium à 100 mM puis centrifugé pendant 4 min à 10000 tr/min. 20 µl de cette solution sont injectés en chromatographie liquide d'exclusion stérique et la séparation est effectuée sur une colonne Shodex Ohpak SB-804 HQ (8 x 300 mm). Les polymères de tailles variables sont élués par du nitrate de lithium à 100 mM à un débit de 0,45 ml/min puis détectés par un réfractomètre (Shodex RI-71) thermostaté à 25 °C. La calibration de la colonne est effectuée par des solutions de pullulane de viscosités intrinsèques et de masses moléculaires en poids connues (Tableau 13).



**Figure 43. Schéma du consistomètre de Bostwick.**

Les masses moléculaires moyennes en poids ont été déterminées en utilisant la loi de calibration universelle :  $\ln (M_w \times \eta) = 34,743 - (1,205 \times t_r)$  avec  $t_r$  = temps d'élution au maximum du pic (Grubisic *et al.*, 1967).

### III.22. Mesure de la consistance et de la viscosité des jus et des purées

#### *Mesure de la consistance d'une purée*

**Principe** : la consistance d'une purée est évaluée avec un consistomètre de Bostwick (Figure 43) mesurant la distance parcourue en 30 s et à 20 °C par un fluide visqueux sur une surface horizontale sous l'effet de son propre poids (Askar et Treptow, 1993b).

**Protocole** : 100 g de purée sont introduits dans le bac de réserve puis la porte à guillotine est ouverte. La distance d'écoulement est mesurée sur une réglette graduée après 30 s d'écoulement.

#### *Mesure de la viscosité apparente ( $\eta$ ) et détermination du seuil d'écoulement ( $\tau_0$ )*

**Principe** : la viscosité représente la résistance qu'oppose un fluide à une contrainte qu'on lui impose. Afin de mesurer cette contrainte, deux dispositifs instrumentaux ont été utilisés :

- le premier utilisé pour les jus et les purées de moyenne viscosité (mangue), consiste à placer le fluide entre deux cylindres coaxiaux. En faisant tourner le cylindre interne, on mesure le couple permettant de calculer la contrainte de cisaillement ( $\tau$ ),
- le deuxième utilisé pour les purées de viscosité élevée (fruit de la passion) consiste en une hélice à pas verticaux introduite dans un récipient contenant le produit à analyser. La mesure du couple nécessaire pour faire tourner le mobile à une vitesse donnée permet de déterminer la contrainte de cisaillement du produit ( $\tau$ ).

La viscosité apparente peut être déduite de la contrainte de cisaillement par l'équation suivante :

$$\eta = (f \times Md) / (M \times n)$$

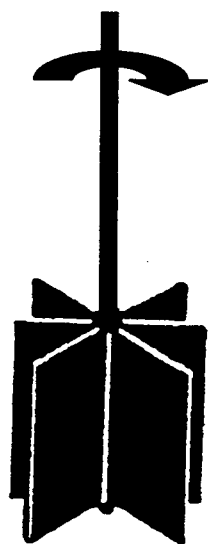
avec  $f$  et  $M$  des constantes liées au mobile.

La contrainte de cisaillement est déduite de la viscosité apparente par l'équation de Newton :

$$\tau = \eta \times (dy/dt)$$

avec  $\tau$ , tension de cisaillement (Pa);  $\eta$ , viscosité apparente (Pa.s);  $(dy/dt)$ , vitesse de cisaillement ( $s^{-1}$ ).

A



B

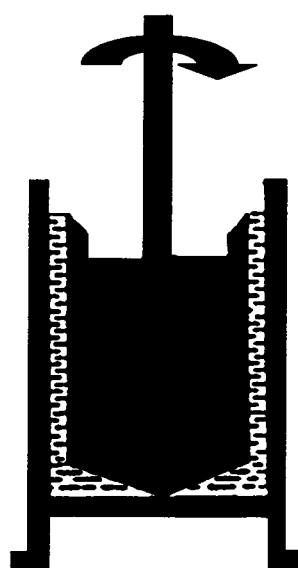


Figure 44. Modules de rotation FL-100 (A) et MV-DIN (B)  
(d'après Haake Incorporation, Saddle Brook, NJ, USA).

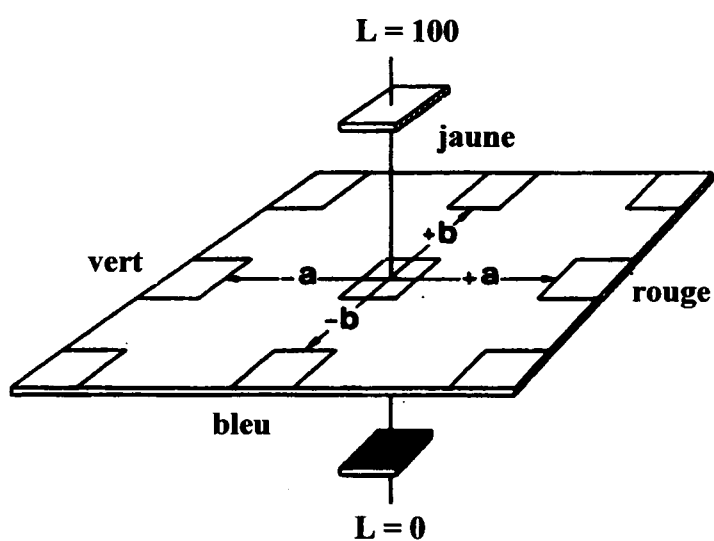


Figure 45. Diagramme de corrélation entre les valeurs  $L$ ,  $a$ ,  $b$  et les couleurs associées (d'après Askar et Treptow, 1993a).

Le seuil d'écoulement ( $\tau_0$ ) des produits a été déterminé par extrapolation de la contrainte de cisaillement lorsque la vitesse du mobile tend vers zéro.

**Protocole** : Les mesures ont été réalisées au CIRAD-SAR avec un viscosimètre Haake VT-500 (Haake Incorporation, Saddle Brook, NJ, USA).

(1) cas des purées de fruit de la passion : la contrainte de cisaillement de la purée est mesurée à 25 °C dans un bécher de 50 ml en utilisant le module FL 100 (Figure 44,  $f = 564$ ;  $M = 0,209$ ). La viscosité apparente est mesurée à  $2,09 \text{ s}^{-1}$  et le seuil d'écoulement est déterminé en mettant en équation la contrainte de cisaillement contre la vitesse de cisaillement du mobile (de 0 à  $50 \text{ s}^{-1}$ ).

(2) cas des autres jus et purées : le viscosimètre est équipé d'un module MV-DIN (Figure 44 ;  $f = 61,4$ ,  $M = 1,29$ ). La viscosité apparente est mesurée à  $100 \text{ s}^{-1}$  et le seuil d'écoulement est déterminé en mettant en équation la contrainte de cisaillement contre la vitesse de cisaillement (de 0 à  $100 \text{ s}^{-1}$ ).

### III.23. Mesure de la couleur par chromamétrie

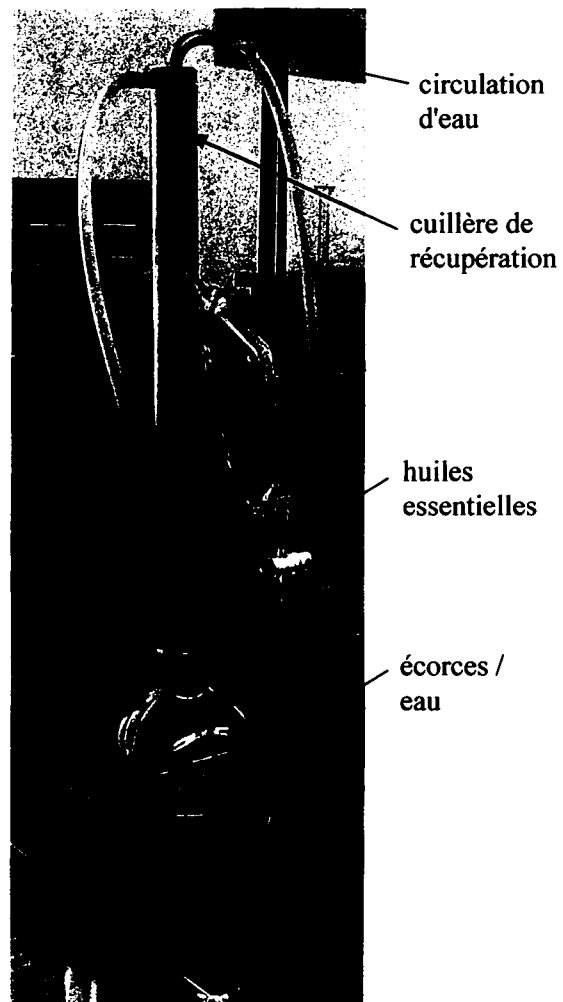
**Principe** : la couleur a été mesurée en utilisant un colorimètre (Minolta CR-A70, Japon). La couleur est alors convertie en indices exprimant la réflexion de la lumière sur la surface du produit à analyser. Le système Hunter (L,a,b) a été adopté dans lequel des filtres de différentes couleurs fournissent une approximation des valeurs de couleurs (x,y,z). Les valeurs a et b élevées indiquent respectivement un produit de couleur verte et jaune intense (Figure 45). Enfin, une valeur L élevée indique un produit clair et lumineux.

**Protocole** : 40 g de jus ou de purée de fruit sont introduits dans un tube à essai, lequel est placé dans un support hermétique à la lumière. Trois séries de mesures sont effectuées par échantillon.

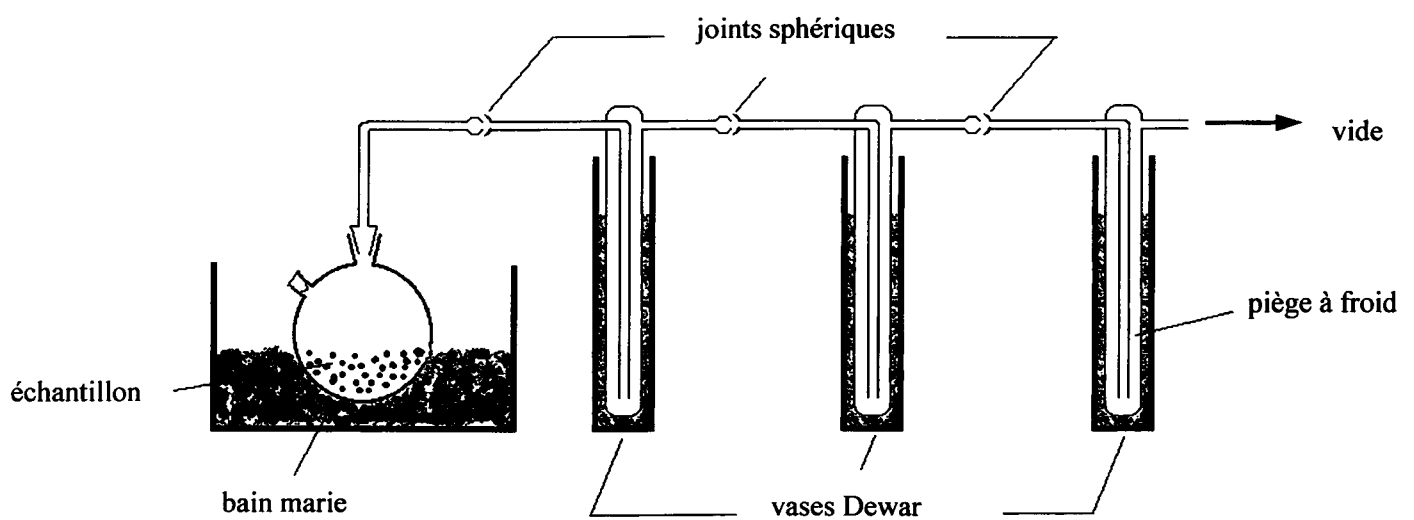
### III.24. Hydrodistillation sur appareil de type Clevenger (Photo 10)

**Principe** : les huiles essentielles contenues dans les écorces d'agrumes sont entraînées par la vapeur d'eau, condensées en haut de la paroi refroidie par un circuit d'eau et recueillies par une cuillère de récupération.

**Protocole** : l'hydrodistillation est menée pendant 3 h sur 200 g d'écorces d'agrumes broyées dans 500 ml d'eau distillée. Le volume d'huile essentielle recueilli est converti en masse (densité moyenne des huiles = 0,85).



**Photo 10. Appareil d'hydrodistillation Clevenger.**



**Figure 46. Schéma du système d'extraction de l'espace de tête sous vide (d'après Werkhoff *et al.*, 1998).**

### III.25. Extraction de l'espace de tête sous vide

**Principe** : la distillation est menée sous vide de manière à diminuer sensiblement le point d'ébullition de l'eau. Les arômes sont «piégés» dans trois pièges successifs refroidis à différentes températures (Figure 46) (Forss et Holloway, 1967).

**Protocole** : 50 g d'échantillon additionnés de 500 ml d'eau et de 160 µg d'étalon interne (butanoate d'isobutyle ou *n*-hexanol) sont amenés à pH 7 avec de l'hydroxyde de sodium 1 N afin d'éviter les phénomènes d'hydrolyse acide à chaud (Engel et Tressl, 1983). L'extraction est menée pendant 2 h sous vide poussé (~ 0,5 kPa) et les condensats sont récupérés dans les pièges suivants :

- eau glacée : 0°C,
- acétone/azote liquide : ~ - 80°C,
- azote liquide : ~ -196°C.

Ils sont ensuite réunis et extraits sous agitation pendant 30 min avec 100 ml de mélange azéotropique pentane/dichlorométhane (2/1, v/v). Après séparation par gravité, la phase solvant est séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée jusqu'à 2 ml par utilisation d'une colonne Vigreux (25 cm) à 37°C.

### III.26. Distillation / extraction simultanée selon Likens et Nickerson (1964) (Photo 11)

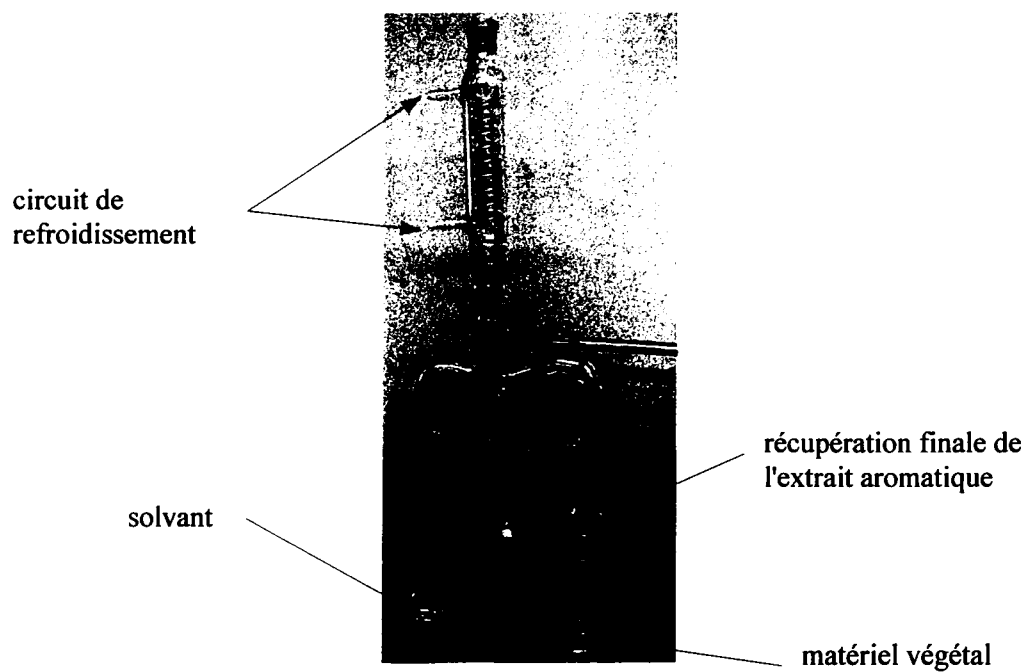
**Principe** : les composés aromatiques sont entraînés à la vapeur et mis en contact avec le solvant sous forme gazeuse. La densité du solvant utilisée est supérieure à celle de la phase aqueuse à extraire. Les deux phases sont condensées et régénérées tout au long de la distillation.

**Protocole** : 40 g d'échantillon additionnés de 100 ml d'eau distillée et de 130 µg d'étalon interne (butanoate d'isobutyle ou *n*-hexanol) sont finement broyés et amenés à pH 7 avec de l'hydroxyde de sodium 1 N. Le volume est ramené à 250 ml avec de l'eau et l'échantillon est extrait pendant 2 h par 15 ml de mélange azéotropique pentane/dichlorométhane (2/1, v/v) à pression atmosphérique (Likens et Nickerson, 1964). Après séparation par gravité, la phase solvant est séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée à 2 ml par utilisation d'une colonne Vigreux (25 cm) à 37°C.

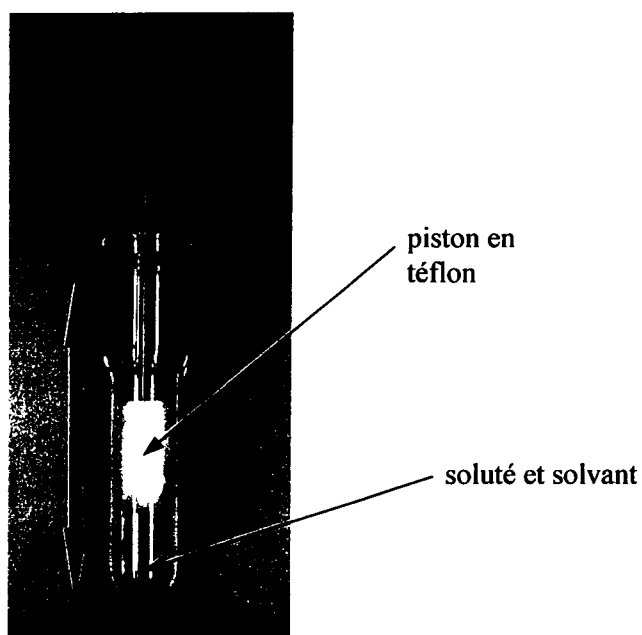
### III.27. Extraction directe par un azéotrope

**Principe** : les échantillons sont mis en contact direct avec le solvant et les cellules sont broyées par action mécanique.





**Photo 11. Système de distillation/extraction simultanée  
(d'après Likens et Nickerson, 1964).**



**Photo 12. Potter Elvehjem.**

**Protocole :** 5 g d'échantillon additionnés de 20 ml d'eau, de 60 µg d'étalon interne (butanoate d'isobutyle) et de 30 ml de mélange azéotropique pentane/dichlorométhane (2/1, v/v) sont homogénéisés et broyés à l'aide d'un Potter Elvehjem (Photo 12) pendant 5 min à température ambiante. Après séparation par centrifugation 5 min à 9000 g, la phase solvant est séchée sur sulfate de sodium anhydre puis concentrée à 2 ml par utilisation d'une colonne Vigreux (25 cm) à 37°C.

### **III.28. Séparation-identification des composés d'arôme**

#### ***Chromatographie en phase gazeuse***

Les extraits sont analysés par chromatographie en phase gazeuse dans les conditions suivantes :

- chromatographe Varian 3380,
- détecteur à ionisation de flamme (FID),
- injecteur on-column refroidi au CO<sub>2</sub>
- colonne à phase apolaire DB-Wax, (30 m x 0,32 mm; épaisseur de phase 0,25 µm),  
ou colonne à phase polaire DB-1, (30 m x 0,32 mm; épaisseur de phase 0,25 µm).
- température du four : 40°C pendant 3 min puis 3°C/min jusqu'à 245°C et enfin 20 min à 245°C,
- température de l'injecteur on-column : de 20°C à 245°C à 180°C/min,
- température du détecteur : 245°C,
- gaz vecteur : H<sub>2</sub> à 2 ml/min,

Le volume d'extrait injecté est 2 µl. Les coefficients de réponse par rapport à l'étalon interne (butanoate d'isobutyle ou *n*-hexanol) sont supposés égaux à 1 pour tous les composés. Les indices de rétention linéaire sont calculés à partir d'un mélange de *n*-alcane (C<sub>5</sub>-C<sub>22</sub>). Ne sont pris en compte que les constituants dont les temps de rétention sont inférieurs à 56 min; au delà de cette limite sont élués des composés non distillables comme les acides gras à longues chaînes.

#### ***Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse***

Un chromatographe en phase gazeuse Varian 3300 équipé d'une colonne DB-Wax ou d'une colonne DB-1 couplé à un spectromètre de masse (Fison Trio-1000) fonctionnant en mode impact électronique positif a été utilisé. Les spectres de masse sont enregistrés toutes les secondes entre 40 et 600 u.m.a..

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- température de la source : 200°C,

- énergie : 70 eV,
- courant d'émission du filament : 1 mA,
- température du four : 40°C pendant 3 min puis 3°C/min jusqu'à 220°C et enfin 20 min à 220°C,
- température de l'injecteur on-column : de 20°C à 245°C à 180°C/min,
- température du détecteur : 245°C,
- gaz vecteur : He à 1,1 ml/min.

Les composés d'arôme sont identifiés sur la base de leurs indices de rétention linéaire sur les deux colonnes (Jennings et Shibamoto, 1980), de leurs spectres de masse (Wiley 275.L), mais également par injection et co-injection de molécules de référence.

### **III.29. Microscopie photonique**

#### ***Fixation des tissus***

Les explants sont immergés dans le fixateur (voir Annexe II, p. 136) puis stockés pendant 15 à 30 min sous vide et à 4°C pendant 24 h. Après fixation, les tissus sont conservés dans de l'éthanol à 70° et stockés à 4°C.

#### ***Déshydratation***

Après fixation, les explants sont successivement placés pendant 30 min dans de l'éthanol à 95° et après renouvellement du bain, dans de l'éthanol 95° pendant 1 h. Les explants sont ensuite successivement placés dans 3 bains d'éthanol pendant ½ h, 1 h et 1 nuit.

Remarque: la déshydratation peut être poursuivie si les objets sont très volumineux ou très imperméables.

#### ***Imprégnation-inclusion***

Dès la fin de la déshydratation, les explants sont placés dans un bain composé du milieu d'imprégnation (voir Annexe II, p. 136) et d'éthanol (v/v) pendant 2 h, puis immergés dans le milieu d'imprégnation pur à 4°C pendant 24 h.

Remarque: Afin de faciliter l'imprégnation, les bains d'imprégnation contenant les explants sont placés sous vide pendant 15 min à chaque étape du protocole. Les objets bien imprégnés apparaissent translucides et tombent au fond du bain.

Après 24 h d'imprégnation, on renouvelle le bain d'imprégnation (15 ml) auquel on rajoute 1 ml d'accélérateur ; on agite le milieu pour initier la polymérisation. Après 1 h de durcissement, les inclusions sont placées à 37°C jusqu'au durcissement total de la résine.

Remarque : l'agitation entraîne la polymérisation du milieu d'inclusion qui devient visqueux après 30 min. L'explant est immergé et orienté avant la prise de la résine. Il est

conseillé de surveiller sous la loupe binoculaire la bonne orientation de l'objet. La réaction étant exothermique, il y a création de mouvements de convection et donc possibilité de déplacement de l'explant au cours du durcissement.

### ***Réalisation et coloration des coupes***

Des coupes d'explants de 3  $\mu\text{m}$  d'épaisseur sont réalisées par un microtome Historange (Leica). Les deux colorants, réactif de Schiff et naphthol blue black mettent en évidence respectivement les polysaccharides et les protéines (Fischer, 1968). La préparation des réactifs est détaillée en Annexe II (p. 136).

Les explants sont oxydés à l'acide périodique pendant 5 min, lavés à l'eau courante puis à l'eau distillée, colorés par le réactif de Schiff à l'obscurité pendant 10 min et lavés dans un bain d'eau sulfureuse puis à l'eau courante jusqu'à obtention d'un milieu incolore. Les explants portés à 60°C sont ensuite colorés au Naphthol blue black préalablement porté à 60°C pendant 5 min puis lavés rapidement à l'eau courante. Après régression par de l'acide acétique à 7 % dans l'eau distillée sous contrôle microscopique, les parois reprennent leur coloration rouge due au réactif de Schiff. Les explants sont enfin séchés et montés.

Remarque : les polysaccharides (*amyloplastes*, *polysaccharides pariétaux*) sont révélés par une coloration rouge, les *nucléoles* et les *noyaux* par une coloration bleu-vert et les *réserves protéiques* par une coloration bleu-noir.

## ***Résultats et Discussion***

## I. LES PUREES DU FRUIT DE LA PASSION POURPRE (*Passiflora edulis* Sims)

### I.1. PREPARATION DES JUS ET PUREES

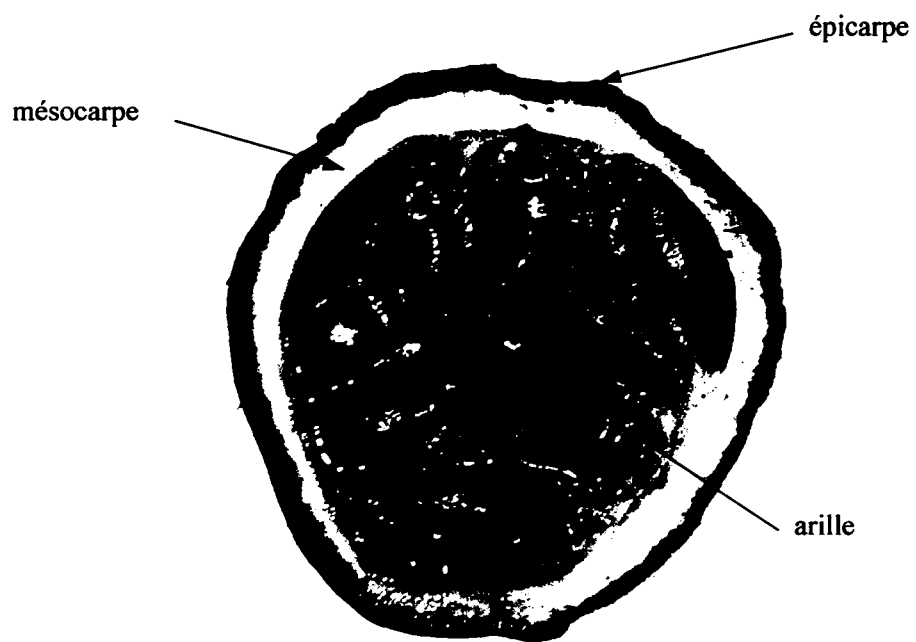
Trois types de produits ont été préparés sur le pilote expérimental (cf. § I.1.1., p. 47) à partir de fruits de la passion pourpre (*Passiflora edulis* Sims) (cf. § I.2., p. 48) afin d'intégrer au mieux les différents paramètres du procédé de flash-détente<sup>®</sup> mais aussi de manière à étudier l'influence de chacune des étapes technologiques (étuvage, «flashage», raffinage) sur la qualité du produit final. A chaque étape du procédé, des fruits ont été prélevés, pesés et leur température a été mesurée.

Le *jus «natif»*, simplement obtenu par section du fruit en deux puis raffinage, présentera des caractéristiques proches de celles d'un produit traditionnel. En effet, la méthode d'extraction du jus de la passion la plus commune utilisant un cône à extracteur convergent (cf. § I.3.2., p. 6) consiste à éclater les fruits par rotation contre une grille perforée. Ce procédé présente des rendements d'extraction d'environ 25 % de la masse initiale de fruits. Notons que l'étape de raffinage ne dégrade pas la peau du fruit (épicarpe et mésocarpe) et n'influe donc pas sur les caractéristiques du produit obtenu ; elle permet d'éliminer les pépins, l'arille (c'est-à-dire la membrane reliant les sacs à jus) et la peau.

La *purée étuvée* : il s'agit de fruit étuvés puis raffinés. Cette étape permet de scinder les effets spécifiques de la flash-détente<sup>®</sup>. En effet, ce procédé intégrant une étape d'étuvage puis une étape de détente (introduction sous vide), ce produit intermédiaire nous permettra à posteriori de préciser les effets spécifiques de la détente sous vide.

La *purée flash-détente*<sup>®</sup> : les fruits après étuvage, sont immédiatement introduits dans la chambre de vide. La purée semi-finie ainsi obtenue est ensuite raffinée.

La (*purée flash-détente*<sup>®</sup> + *eaux aromatiques*) : les eaux aromatiques récupérées séparément lors de l'étape de détente sont réintroduites dans la purée flash-détente<sup>®</sup> à hauteur de 10 % de la masse de fruit traités. Cette formulation nous permet d'évaluer les qualités organoleptiques et rhéologiques d'un produit reconstitué.



**Photo 13. Coupe transversale d'un fruit de la passion  
pourpre (*Passiflora edulis* Sims.).**

## I.2. RENDEMENTS ET BILANS

### I.2.1. Rendements

Afin d'évaluer l'impact des différentes étapes du traitement technologique (étuvage, détente, raffinage), il nous a semblé opportun de déterminer au préalable les répartitions massiques de chacune des parties du fruit obtenues par dissection manuelle (Tableau 14, Photo 13). Ainsi, si les sacs à jus représentent environ la moitié de la masse totale du fruit (53 %), la peau en représente plus du tiers. Notons que le mésocarpe, partie dégradée lors du procédé de flash-détente® représente  $\sim 1/4$  de la masse du fruit.

**Tableau 14. Répartition des masses au sein d'un fruit de la passion<sup>a</sup>.**

		masse (g)
peau	épicarpe	8
peau	mésocarpe	27
peau	endocarpe	3
arille	sacs à jus	53
arille	pépins	9

<sup>a</sup>Base 100 g.

Le plus faible rendement obtenu est logiquement celui du jus «natif» (26 %, Tableau 15). Cette valeur est proche de celle obtenue par Casimir *et al.* (1981) confirmant ainsi que le raffinage ne dégrade pas la peau des fruits. L'extraction traditionnelle du jus ne fournit donc que la moitié du jus disponible puisque, comme mentionné ci-dessus, les sacs à jus représentent environ la moitié de la masse totale du fruit (53 %) ; une partie du jus n'est pas accessible à l'extraction, en partie par absorption par le mésocarpe.

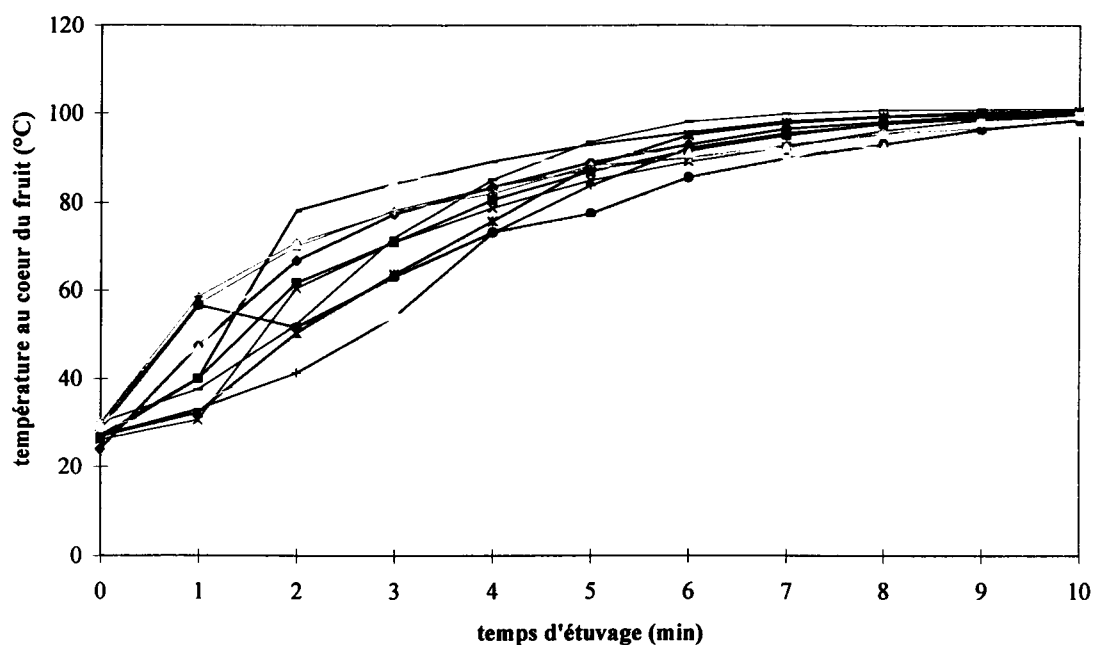
**Tableau 15. Rendements en jus et purées.**

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente®	purée flash-détente® + eaux aromatiques
rendements <sup>a</sup>	26	48	49	60

<sup>a</sup>%/masse initiale de fruits.

Les purées étuvée et flash-détente® sont produites avec des rendements similaires et quasiment doubles de celui en jus «natif». Après réintroduction des eaux aromatiques, le rendement atteint 60 %. Donc, les traitements successifs d'étuvage puis de détente sous





**Figure 47. Evolution de la température au cœur du fruit de la passion en fonction du temps d'étuvage.**

**Tableau 16. Bilans matière des 2 étapes du procédé de flash-détente sur la base de 1 kg de fruits (d'après Brat *et al.*, 2001).**

	étuvage	détente
<i>matériel de départ</i>		
matière humide (g)	1000	954
matière sèche (g)	265	255
<i>matériel traité</i>		
matière humide (g)	954	864
matière sèche (g)	255	241
matière sèche perdue (g)	10	14
<i>exsudats</i>		
volume (ml)	227	
matière sèche (g)	14	
<i>eaux aromatiques</i>		
volume (ml)		106
matière sèche (g)		0

vide ramollissent et désintègrent le mésocarpe qui est en partie introduit dans le jus lors de l'étape de raffinage (voir Tableau 15, p. 70).

La faible différence de rendement entre la purée étuvée et la purée flash-détente<sup>®</sup> s'explique par l'évaporation d'eau lors de l'étape de détente correspondant à ~ 10 % de la masse totale de fruits traités. Le rendement le plus élevé (60 %) est donc logiquement atteint après réintroduction des eaux aromatiques dans la purée flash-détente<sup>®</sup>. Le rendement final de ce produit est donc plus de 2 fois supérieur à celui d'un jus traditionnel.

### **I.2.2. Bilan matière et bilan thermodynamique**

#### ***Bilan matière***

Ce bilan est présenté sur la base de 1 kg de fruits traités.

Etape d'étuvage (ou blanchiment) : les fruits sont amenés à 95 °C à cœur par injection directe de vapeur alimentée par un générateur de vapeur. Cette mise en température nécessite un temps d'étuvage d'environ 10 min (Figure 47) pour des fruits de la passion ayant une masse unitaire moyenne de ~ 30 g.

Au cours de ce traitement, une partie de la vapeur introduite dans la chambre de chauffe se condense sur les fruits et sur les parois de la chambre de chauffe. Pour 1 kg de fruit, 227 ml d'exsudats sont récupérés (Tableau 16). Ils contiennent principalement des sucres (14 g de matière sèche) provenant du lessivage des fruits.

La perte de matière sèche sur les fruits au cours de cette étape est égale à 10 g (Tableau 16). La quasi totalité des pertes de matière sèche est donc récupérée dans les exsudats.

Etape de détente : les fruits précédemment étuvés sont brutalement introduits dans la chambre de détente sous vide (~ 30 mBar) par l'intermédiaire d'une vanne pneumatique (cf. § I.1., p. 47). Cette introduction sous vide provoque l'évaporation d'une partie de l'eau de constitution des fruits et une chute instantanée de la température du matériel végétal (de 95 à 27 °C).

Lors de l'étape de détente, une perte de 14 g de matière sèche, soit 90 g de matière fraîche, est mesurée entre les fruits après étuvage et après détente sous vide (Tableau 16). Les eaux aromatiques récupérées lors de cette étape (10,6 % de la matière fraîche initiale) ont une matière sèche nulle et ne peuvent donc pas expliquer ces pertes. Elles sont en fait attribuées à une récupération incomplète du matériel végétal à la fin du procédé. Des quantités initiales de fruits plus importantes permettraient certainement de diminuer

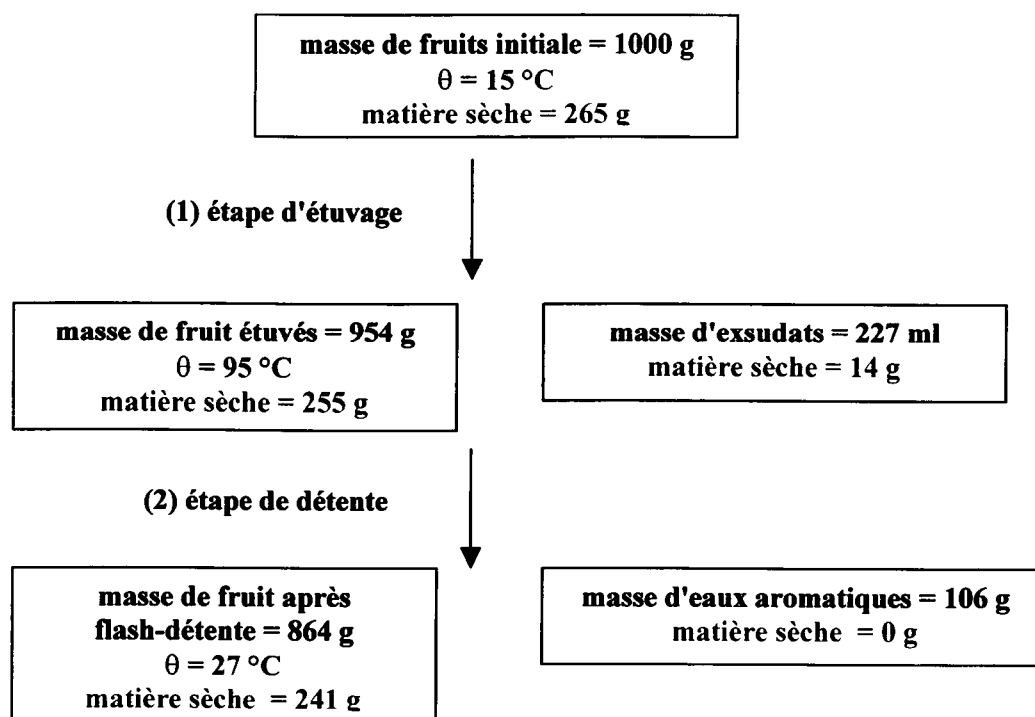


Figure 48. Diagramme massique et thermique du procédé de flash-détente.

Tableau 17. Paramètres thermodynamiques de transformation lors du procédé de flash-détente.

	symbole (unité)	valeur
<i>fruits étuvés</i>		
masse	$m_{Et}$ (kg)	0,954
température	$\theta_{Et}$ (°C)	95
chaleur spécifique	$Cp_{Et}$ (kJ/kg.°C)	3,80
enthalpie	$H^e_{Et}$ (kJ/kg)	
énergie	$Q_{Et}$ (kJ)	
<i>fruits flash-détente</i>		
masse	$m_{FD}$ (kg)	0,864
température	$\theta_{FD}$ (°C)	27
chaleur spécifique	$Cp_{FD}$ (kJ/kg.°C)	3,76
enthalpie	$H^e_{FD}$ (kJ/kg)	
énergie	$Q_{FD}$ (kJ)	
<i>eaux aromatiques</i>		
masse	$m_{EA}$ (kg)	0,106
enthalpie de vapeur d'eau à 30 mBar	$H^e_{EA}$	2550,4
énergie	$Q_{EA}$ (kJ)	

sensiblement ces pertes. La Figure 48 récapitule ce bilan matière sur la base de 1 kg de fruits.

### **Bilan thermodynamique**

Nous vérifions dans un premier temps l'adiabaticité de l'ensemble du système (chaleur apportée = chaleur émise) en utilisant les données du bilan matière (Tableau 17). Après confirmation de cette hypothèse, nous appliquerons ce théorème à la détermination du volume d'eaux aromatiques théoriques.

Dans l'hypothèse d'un système adiabatique, la chaleur apportée lors de l'étape d'étuvage ( $Q_{Et}$ ) est donc scindée en 2 parties : l'énergie résiduelle du matériel végétal après l'étape de détente sous vide ( $Q_{FD}$ ) et l'énergie de vaporisation des eaux aromatiques ( $Q_{EA}$ ) :

$$Q_{Et} = Q_{FD} + Q_{EA}$$

Sachant que l'énergie est le produit de la masse par l'enthalpie, on a donc :

$$m_{Et} \times H^e_{Et} = (m_{FD} \times H^e_{FD}) + (m_{EA} \times H^e_{EA})$$

Les valeurs d'enthalpie sont obtenues par le produit de la chaleur spécifique du composé par la température du milieu :  $H^e = C_p \times \theta$

Application numérique :

$$Q_{Et} = Q_{FD} + Q_{EA}$$

$$\text{ou } m_{Et} \times H^e_{Et} = (m_{FD} \times H^e_{FD}) + (m_{EA} \times H^e_{EA})$$

$$\text{soit } 0,954 \times 3,80 \times 95 = (0,864 \times 3,76 \times 27) + (0,106 \times 2550,4)$$

$$\boxed{344,4 \text{ kJ} \sim 358,0 \text{ kJ}}$$

L'erreur est inférieure à 5 % confirmant ainsi que l'énergie apportée par la vapeur d'eau lors de l'étape d'étuvage est approximativement égale à la somme des énergies absorbées par les fruits lors de l'étape de détente et par l'eau lors de la vaporisation. **Le système peut donc être considéré comme adiabatique.**

La masse théorique d'eaux aromatiques ( $m_{EAth}$ ) peut donc être calculée en utilisant l'adiabaticité du système :

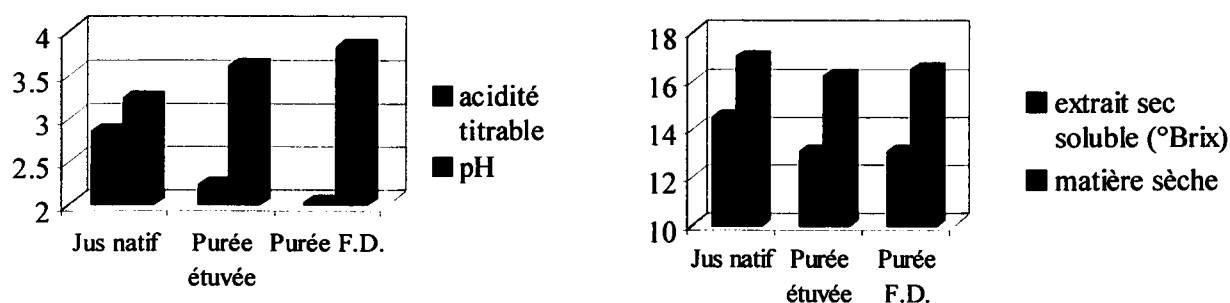
$$m_{EAth} = [(m_{Et} \times H^e_{Et}) - (m_{FD} \times H^e_{FD})] / H^e_{EA}$$

$$\boxed{m_{EAth} = 101 \text{ ml}}$$

**Tableau 18. Caractéristiques physico-chimiques des jus et purées de fruit de la passion.**

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente	purée F.D. + eaux aromatiques
matière sèche <sup>a</sup>	17,02	16,23	16,47	14,94
pH	3,22	3,60	3,81	3,80
acidité titrable <sup>b</sup>	2,84	2,22	2,02	1,84
extrait sec soluble (°Brix)	14,51	13,02	13,05	11,84
glucose <sup>a</sup>	3,01	1,85	1,53	- <sup>d</sup>
fructose <sup>a</sup>	2,85	1,89	1,51	-
saccharose <sup>a</sup>	3,70	2,30	2,08	-
acide glutarique <sup>c</sup>	0,041	0,044	0,027	-
acide malique <sup>c</sup>	1,011	0,623	0,677	-
acide tartrique <sup>c</sup>	0,026	0,094	0,116	-
acide oxalique <sup>c</sup> et ascorbique <sup>c</sup>	0,022	0,048	0,055	-
acide citrique <sup>c</sup>	3,22	2,80	2,61	-
acide iso-citrique <sup>c</sup>	0,034	0,012	0,011	-

<sup>a</sup>%/matière fraîche. <sup>b</sup>% d'acide citrique/100g matière fraîche. <sup>c</sup>g d'anion /100 g matière fraîche. <sup>d</sup>non déterminé.



**Figure 49. Caractéristiques physico-chimiques des jus et purées de fruit de la passion.**

Sur la base de 1 kg de fruit, le volume d'eaux aromatiques effectivement récupéré est égal à **106 ml** (Tableau 16) alors que le volume théorique s'élève à **101 ml**, confirmant en ce sens la bonne efficacité du système de condensation. La quantité d'eau évaporée lors de la détente est donc égale à environ 10 % de la masse de fruits initialement introduite.

### I.3. CARACTERISTIQUES DES PRODUITS

#### I.3.1. Caractéristiques physico-chimiques

L'étuvage par injection de vapeur d'eau entraîne une légère augmentation de la teneur en eau des produits étuvés et flash-détente® et donc une faible diminution de la matière sèche en comparaison du jus «natif» (Tableau 18). La réintroduction des eaux aromatiques recueillies lors de la détente (~ 10 % de la masse de matière fraîche initialement introduite) entraîne logiquement une diminution de la matière sèche du produit final.

Par rapport au jus «natif», la purée étuvée et plus encore la purée flash-détente® présentent des pH supérieurs et à l'inverse des acidités titrables plus faibles (Tableau 18 et Figure 49). Cette évolution est directement corrélée à l'incorporation dans le jus d'une partie du mésocarpe du fruit après raffinage des purées étuvée et flash-détente®, ce qui est reflété par l'augmentation sensible du rendement d'obtention des purées/jus (26 → 49 % ; Tableau 15, p. 70). En effet, le pH et l'acidité titrable d'un broyat de mésocarpe sont respectivement de 4,82 et à 0,60 g d'acide citrique/100 g de matière fraîche (Brat *et al.*, 2001a) ; cette partie du fruit est beaucoup moins acide que le jus lui-même.

L'analyse qualitative et quantitative des acides organiques (Tableau 18) confirme la plus faible acidité titrable de la purée étuvée et plus encore de la purée flash-détente® par rapport au jus «natif». Hormis les acides tartrique et oxalique probablement plus concentrés dans le mésocarpe et dont les concentrations s'accroissent sous l'effet des traitements, les autres acides organiques dont l'acide citrique, acide très majoritaire, voient leurs concentrations diminuer, confirmant ainsi la baisse d'acidité titrable.

La diminution de l'extrait sec soluble dans la purée étuvée par rapport au jus «natif». (Figure 49) traduit une baisse de la teneur en sucres suite à l'introduction d'une partie du mésocarpe qui présente une teneur en sucres (12 °Brix) plus faible que celle du jus. Puisqu'après flash-détente®, une plus forte proportion de mésocarpe a été effectivement introduite dans la purée, nous aurions dû observer une chute supplémentaire par rapport à

**Tableau 19. Teneurs et compositions des M.I.A.**

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente
M.I.A. <sup>a</sup>	3,2	4,8	6,3
amidon <sup>b</sup>	80,2	53,1	37,2
M.I.A. désamidonné <sup>a</sup>	0,6	2,3	3,9
acides uroniques <sup>c,d</sup>	4,2	22,6	25,0
polysaccharides neutres non-cellulosiques <sup>c,e</sup>	9,3	14,8	16,8
cellulose <sup>c,f</sup>	5,0	23,4	35,5
protéines (N x 6,25) <sup>c</sup>	69,0	26,0	16,3
acides uroniques <sup>g</sup>	20,5	34,3	29,7
rhamnose <sup>g</sup>	1,3	1,3	1,1
fucose <sup>g</sup>	1,2	1,1	1,1
arabinose <sup>g</sup>	10,4	4,7	4,0
xylose <sup>g</sup>	7,2	8,5	9,8
mannose <sup>g</sup>	3,7	1,3	1,2
galactose <sup>g</sup>	23,3	8,2	6,1
glucose non-cellulosique <sup>g</sup>	5,9	2,0	1,3
glucose cellulosique <sup>g</sup>	26,5	38,6	45,8

<sup>a</sup>%/matière fraîche. <sup>b</sup>%/matière sèche du MIA. <sup>c</sup>%/matière sèche du MIA désamidonné. <sup>d</sup>Exprimés en équivalent acide anhydrogalacturonique. <sup>e</sup>Oses neutres obtenus par hydrolyse à l'acide dilué et CPG des acétates d'alditol puis exprimés par la somme des sucres anhydres. <sup>f</sup>Glucose obtenu par différence entre l'hydrolyse Saeman et l'hydrolyse ménagée. <sup>g</sup>Exprimés en pourcentage molaire des constituants monosaccharidiques.

la purée étuvée, ce qui n'est pas le cas ; suite à l'effet de détente sous vide (évaporation d'environ 10 % de l'eau), la concentration de ce produit efface partiellement cette tendance. L'analyse des sucres constitutifs de ces trois produits (Tableau 18) confirme cette diminution : les teneurs en glucose, fructose et saccharose dans la purée flash-détente® sont presque 2 fois inférieures à celles du jus «natif».

### **I.3.2. Les constituants polysaccharidiques des produits**

#### ***Matériels Insolubles dans l'Alcool (M.I.A.)***

Les parois cellulaires pectocellulosiques (assimilées aux M.I.A.) ont été préparées à partir des différents produits et analysés pour leurs constituants polysaccharidiques et protéiques (cf. § III.12., p. 56). Les teneurs et compositions sont indiquées dans le Tableau 19.

Le jus «natif» de fruit de la passion, étant essentiellement constitué d'une phase liquide, présente, comme attendu, une faible teneur en M.I.A. Cette teneur augmente de la purée étuvée (+ 50 %/jus «natif») à la purée flash-détente® (+ 97 %). Cet accroissement des teneurs en parois cellulaires s'explique par l'incorporation progressive d'une partie du mésocarpe lors du raffinage des purées étuvée et flash-détente® : l'étuvage fragilise cette portion du fruit, et plus encore la détente sous vide qui affaiblit considérablement la cohésion cellulaire (cf. § I.4., p. 90) rendant ainsi possible le passage d'une fraction du mésocarpe dans les purées finies. Il faut noter que ces M.I.A. contiennent de l'amidon, constituant présent dans le fruit de la passion à maturité (Pruthi, 1963) ; cet amidon serait exclusivement localisé dans l'arille (Photo 17, p. 91) puisque la teneur en amidon des M.I.A. décroît en sens inversement proportionnel à la teneur en M.I.A. des produits. Après désamidonnage enzymatique, la teneur en M.I.A. du jus «natif» est plus de 5 fois diminuée en raison de la forte concentration en amidon dans les sacs à jus du fruit.

Même après désamidonnage, la purée flash-détente® présente une teneur en M.I.A. 6 fois supérieure à celle du jus «natif» et presque 2 fois supérieure à celle de la purée étuvée. Cette augmentation sensible montre à nouveau l'effet spécifique de la détente sous vide par rapport à l'étape d'étuvage et bien sur vis-à-vis d'un traitement traditionnel.

Le M.I.A. du jus natif présente une très forte teneur en protéines (69 %) ; il ne s'agit cependant pas de protéines pariétales mais d'une contamination due à des protéines solubles présentes à plus de 2 % dans le jus (Purseglove, 1974) et co-précipitées dans l'éthanol bouillant à 80 % lors de la préparation des M.I.A. La diminution de la teneur en



**Tableau 20. Teneurs et compositions des polysaccharides solubles.**

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente
polysaccharides solubles <sup>a</sup> après désamidonnage	0,1	0,6	0,9
acides uroniques <sup>b,c</sup>	28,0	63,2	68,3
polysaccharides neutres non-cellulosiques <sup>b,d</sup>	25,8	8,5	6,6
protéines (N x 6,25) <sup>b</sup>	-	12,4	10,7
méthanol <sup>b</sup>	2,0 (40,1) <sup>e</sup>	9,9 (86,5)	9,9 (79,7)
acides uroniques <sup>f</sup>	48,7	86,4	89,9
rhamnose <sup>f</sup>	1,5	1,0	1,3
fucose <sup>f</sup>	0,5	0,1	0,2
arabinose <sup>f</sup>	9,8	2,8	2,0
xylose <sup>f</sup>	3,2	1,7	0,8
mannose <sup>f</sup>	5,9	1,0	0,9
galactose <sup>f</sup>	25,8	5,6	3,7
glucose <sup>f</sup>	4,5	1,2	1,2

<sup>a</sup>%/matière fraîche. <sup>b</sup>%/matière sèche des polysaccharides solubles. <sup>c</sup>Exprimés en équivalent acide anhydrogalacturonique. <sup>d</sup>Oses neutres obtenus par hydrolyse à l'acide dilué et CPG des acétates d'alditol puis exprimés par la somme des sucres anhydres. <sup>e</sup>Les valeurs entre parenthèses expriment le degré de méthylestérification des acides uroniques. <sup>f</sup>Exprimés en pourcentage molaire des constituants monosaccharidiques.

protéines dans les purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> est inversement proportionnelle à la teneur en cellulose. Cette évolution est directement corrélée à l'incorporation d'une fraction du mésocarpe, zone sclérenchymateuse (cf. § I.2.1., p. 70) présentant comme tout sclérenchyme de faibles teneurs en protéines et des teneurs très élevées en cellulose.

La composition polysaccharidique relative du M.I.A. de jus «natif» révèle une répartition relative très classique avec des polymères d'acides uroniques (substances pectiques) et de glucose cellulosique (cellulose) comme composés majoritaires et des proportions décroissantes de galactose, arabinose, xylose et glucose non-cellulosique.

Les M.I.A. des purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> présentent au contraire des compositions très différentes avec une nette augmentation des teneurs en acides uroniques, cellulose et polysaccharides neutres non cellulosiques. Par rapport au M.I.A. du jus, les proportions d'arabinose et de galactose diminuent sensiblement. Les parois cellulaires constitutives du mésocarpe partiellement incorporé dans les purées sont donc plus riches en substances pectiques et cellulose.

#### *Les polysaccharides solubles*

Les polysaccharides solubles faiblement liés aux parois cellulaires ont été extraits des M.I.A. désamidonnés à température ambiante et à pH 4,0 (pH de stabilité optimale des substances pectiques) afin de limiter au maximum les dégradations lors de l'extraction. Les constituants polysaccharidiques et protéiques ont été analysés (cf. § III.16, p. 58 ; III.17., p.59). Les teneurs et compositions sont indiqués dans le Tableau 20.

Parallèlement à l'accroissement des teneurs en M.I.A., la teneur en polysaccharides solubles augmente du jus «natif», à la purée étuvée, et à la purée flash-détente<sup>®</sup>. Notons que les teneurs en polysaccharides solubles des M.I.A. désamidonnés des purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> sont similaires avec respectivement 26 et 23 %. L'augmentation de la teneur en polysaccharides solubles est donc uniquement corrélée à l'augmentation de la teneur en M.I.A. Le procédé de flash-détente<sup>®</sup> entraîne donc un accroissement de la teneur en parois cellulaires mais n'accroît pas la solubilité des polysaccharides pariétaux dans l'eau.

Après désamidonnage et en accord avec les compositions des M.I.A. des trois produits, les polysaccharides solubles extraits du M.I.A. de jus «natif» présentent une teneur relativement faible en acides uroniques et des proportions relatives élevées en galactose et arabinose. A l'inverse, les polysaccharides solubles issus des purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> présentent des teneurs très élevées en acides uroniques alors que des baisses

sensibles en arabinose et en galactose mais aussi en xylose sont notées dans ces produits ; de par leurs compositions, ces polysaccharides peuvent être caractérisés comme étant des pectines présentant un fort degré de méthylestérification

Deux hypothèses peuvent être avancées quant à ces changements de composition :

- les pectines solubles provenant du mésocarpe et incorporées avec le jus ont une composition biochimique radicalement différente de celles provenant des parois cellulaires de l'arille. Elles présentent des teneurs élevées en acides uroniques et de faibles proportions en arabinose et en galactose,

- l'effet de détente sous vide pourrait provoquer une rupture partielle des zones hérissées des pectines solubles (de types arabinogalactanes I et II), entraînant non seulement une meilleure accessibilité des chaînes d'acides galacturoniques mais aussi une solubilisation partielle des chaînes latérales neutres.

#### *Viscosité intrinsèque et masse moléculaire des pectines solubles*

Le temps d'écoulement ( $t_i$ ) des solutions pectiques de concentrations croissantes ainsi que celui du solvant pur ( $t_s$ ) ont été mesurés à l'aide d'un viscosimètre capillaire micro-Ubbelohde à 25°C. Les masses moléculaires viscosimétriques moyennes ( $M_v$ ) ont été calculées en utilisant l'équation d'Owens (cf. § III.20., p.62).

La viscosité intrinsèque ( $\eta_{int}$ ) des pectines solubles issues du M.I.A. désamidonné de jus «natif» n'a pu être mesurée en raison de la trop faible taille moléculaire de ces polymères entraînant une viscosité intrinsèque difficilement quantifiable.

Les viscosités intrinsèques des pectines extraites des purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> sont similaires (Tableau 21). De même les masses moléculaires viscosimétriques moyennes ( $M_v$ ) sont proches. Ces observations sont en bon accord avec les compositions de ces pectines qui sont elles aussi très proches (Tableau 20, p. 75).

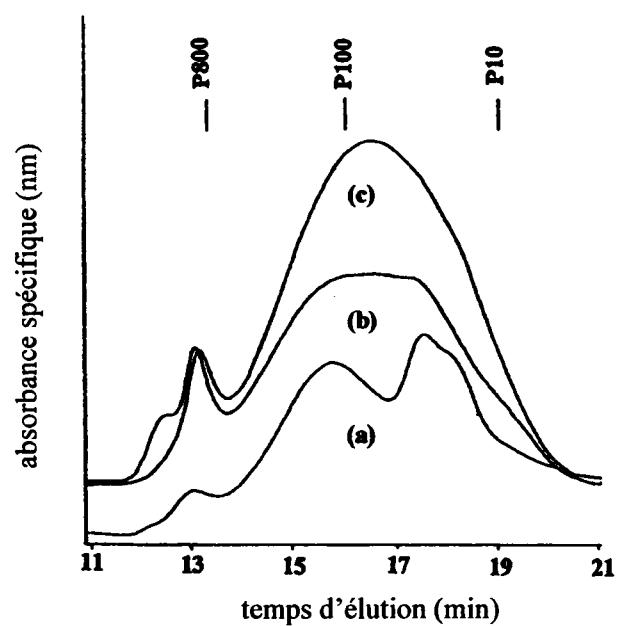
**Tableau 21. Viscosités intrinsèques et masses moléculaires des pectines solubles.**

pectines solubles	$\eta_{int}$ (ml/g)	$M_v^a$ (da)	$M_w^b$ (da)
purée étuvée	111	25300	31300
purée flash-détente <sup>®</sup>	127	27800	31300

<sup>a</sup> Masse moléculaire viscosimétrique moyenne déterminée par l'équation d'Owens.

<sup>b</sup> Masse moléculaire moyenne en poids déterminée par calibration universelle.

Nous avons aussi déterminé la masse moléculaire moyenne en poids ( $M_w$ ) des pectines solubles par calibration universelle. Une colonne de tamisage moléculaire haute



**Figure 50. Profil d'élution des polysaccharides solubles de fruit de la passion en chromatographie d'exclusion stérique : (a) jus natif, (b) purée étuvée, (c) purée flash-détente.**

Temps d'élution des pullulanes standards : P10 Mw = 12200, P100 100000, P800 853000.

performance Shodex Ohpak SB-804 HQ a été étalonnée à l'aide de pullulanes de masses moléculaires ( $M_w$ ) et de viscosités intrinsèques ( $\eta_{int}$ ) connues. Puis des solutions de pectines ont été injectées sur cette même colonne (Figure 50) et le temps de rétention au maximum de variation de l'indice de réfraction a été mesuré. Les pectines issues des purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> présentent des maxima identiques ( $t_r = 16,80$  min). Puisque deux populations étaient présentes dans les pectines issues du jus «natif», nous n'avons pu déterminer leur masse moléculaire. Vu l'identité des temps d'élution et la similitude des viscosités intrinsèques des pectines issues des purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup>, l'application de l'équation de calibration universelle fournit des  $M_w$  identiques ce qui confirme les valeurs de  $M_v$ . Les pectines solubles faiblement liées aux parois cellulaires sont similaires tant dans la purée étuvée que dans la purée flash-détente<sup>®</sup>.

Des différences s'établissent donc au niveau de la teneur en pectines solubles (respectivement 0,6 et 0,9 %/matière fraîche) mais pas dans le type de pectine. Celles-ci proviennent majoritairement des parois cellulaires du mésocarpe des fruits intégrés lors du raffinage de ces purées.

### I.3.3. Caractéristiques rhéologiques des produits

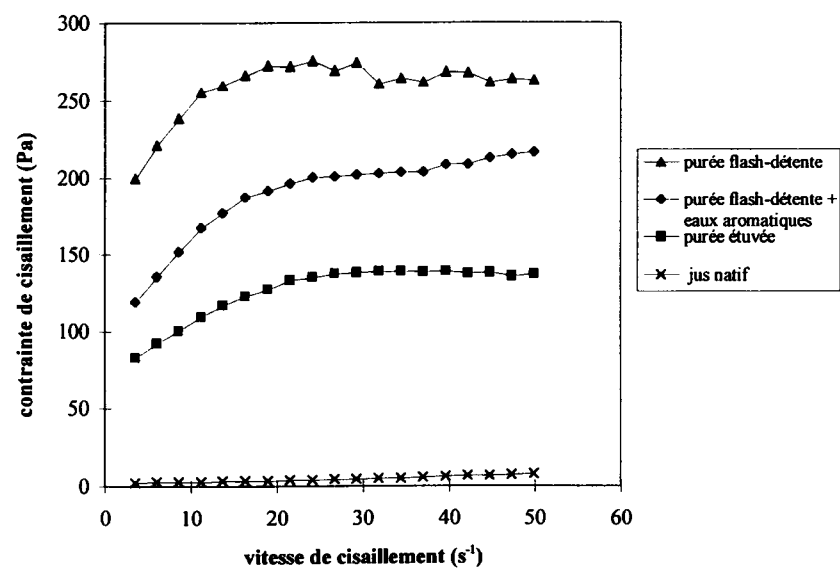
Seule la consistance des purées a pu être déterminée en utilisant un consistomètre de Bostwick (Tableau 22). En effet, cette mesure, propre à l'étude des purées, n'est pas utilisable pour des jus, ceux-ci n'ayant pas de consistance en raison d'une trop faible teneur en parois cellulaires. Les viscosités apparentes (Tableau 22) ont été déterminées avec un viscosimètre Haake (VT 500) (cf. § III.22., p. 63).

**Tableau 22. Caractéristiques rhéologiques des produits.**

	jus «natif»	purée étuvée	purée flash-détente <sup>®</sup>	purée flash-détente <sup>®</sup> + eaux aromatiques
consistance (cm en 30 s)	-	6,0	1,7	3,7
viscosité apparente (Pa.s)	$2,4 \pm 0,3^a$	$33,0 \pm 1,4$	$54,8 \pm 4,1$	$45,2 \pm 1,5$
seuil d'écoulement (Pa)	$2,1 \pm 0,3$	$72,8 \pm 2,1$	$188,7 \pm 11,7$	$103,6 \pm 5,2$

<sup>a</sup>Intervalles de confiance déterminés à  $p < 0,05$ .

La consistance de la purée flash-détente<sup>®</sup> est plus de 3 fois supérieure à celle de la purée étuvée, ce produit ne parcourant que 1,7 cm en 30 s sur une surface plane et sous l'effet de son propre poids (cf. § III.22., p. 63). Cette très nette augmentation ne peut être expliquée par la perte d'environ 10 % d'eau (effet de concentration) lors de la détente sous vide



**Figure 51. Evolution de la contrainte de cisaillement (Pa) en fonction de la vitesse de cisaillement (s<sup>-1</sup>) dans les jus et purées de fruit de la passion.**

consécutive à l'étuvage. En effet, même après réintroduction des eaux aromatiques à hauteur de 10 % de la masse de matière fraîche initiale, la consistance du produit (3,7 cm/30 s) reste très supérieure à celle de la purée étuvée.

Les viscosités apparentes des jus et purées mesurées à une vitesse de cisaillement égale à  $2,09 \text{ s}^{-1}$  avec le module FL 100 croissent dans le même sens que la consistance (Tableau 22). La viscosité apparente (54,8 Pa.s) de la purée flash-détente<sup>®</sup> est presque 2 fois supérieure à celle du produit étuvé et plus de 20 fois supérieure à celle du jus natif. A nouveau, l'évaporation de 10 % de la masse totale des fruits ne peut expliquer à elle seule ce comportement, la purée flash-détente<sup>®</sup> additionnée des eaux aromatiques restant nettement plus visqueuse que la purée étuvée (Figure 51).

Ces produits ont les caractéristiques rhéologiques suivantes :

- ils ne sont pas thixotropiques, la viscosité apparente restant constante au cours du temps à une vitesse de cisaillement donnée,
- ils n'ont pas un comportement Newtonien, la tension de cisaillement n'évoluant pas linéairement avec la vitesse de cisaillement. Il s'agit de pseudo-plastiques à comportement rhéofluidifiant,

Deux modèles mathématiques ont été testés afin, non seulement de décrire le comportement de ces fluides, mais aussi de déterminer leur seuil d'écoulement par extrapolation à vitesse de cisaillement nulle :

- le modèle de Casson  $\tau^{0,5} = K (\dot{\gamma}/dt)^{0,5} + \tau_0^{0,5}$ ,
- le modèle de Herschel-Bulkley  $\tau = K (\dot{\gamma}/dt)^n + \tau_0$ .

Ces deux modèles ne décrivant pas correctement le comportement rhéologique de ces produits, le seuil d'écoulement a donc été estimé par extrapolation de la tangente à la courbe contre l'axe de la contrainte de cisaillement. Le seuil d'écoulement des quatre produits suit rigoureusement celui de la consistance et de la viscosité. La purée flash-détente<sup>®</sup> après réintroduction des eaux aromatiques a un seuil d'écoulement de 40 % supérieur à celui de la purée étuvée (103,6 contre 72,8 Pa.s).

Deux paramètres susceptibles d'influencer la rhéologie particulière de ces produits ont été étudiés La teneur en matériel insoluble dans l'alcool (= parois cellulaires) et les teneurs et structure de l'amidon (sous forme de granules ou empesé après l'étape d'étuvage) sont en effet deux paramètres ayant une influence primordiale sur le comportement rhéologique d'un produit.

Les trois produits présentant des teneurs variables en matériel pariétal (M.I.A.) et en amidon (empesé lors de l'étuvage), des dispersions modèles ont été préparées à partir de matériels insolubles dans l'alcool (précédemment obtenus à partir des jus et purées) dispersés dans de l'eau distillée de même degré Brix que le produit référence. De même, afin d'estimer l'impact de l'amidon sur les propriétés rhéologiques des produits, des dispersions modèles ont été préparées à partir de matériels insolubles dans l'alcool ayant subi un désamidonnage enzymatique dispersés à des niveaux identiques à ce qu'ils auraient été dans les produits de départ. Les viscosités apparentes des différentes dispersions modèles ont été mesurées (Tableau 23) et comparées à celles des produits eux-mêmes (Tableau 22, p. 77).

**Tableau 23. Caractéristiques rhéologiques des dispersions modèles.**

	dispersions modèles		
	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente®
matériel insoluble dans l'alcool (%/M.H.)	3,2	4,8	6,3
viscosité apparente (Pa.s)	2,4 ± 0,3	19,1 ± 0,8	51,0 ± 3,7
matériel insoluble dans l'alcool après désamidonnage(%/M.H.)	0,6	2,3	3,9
viscosité apparente (Pa.s)	-	6,5 ± 0,4	38,2 ± 2,4

<sup>a</sup>Intervalles de confiance déterminés à  $p < 0,05$ .

Les résultats montrent le rôle de :

- *la teneur en parois cellulaires dans le milieu* : hormis pour la dispersion modèle de M.I.A. de purée étuvée, une bonne correspondance est observée entre les viscosités apparentes du jus «natif» et de la purée flash-détente® et de leurs dispersions modèles. Nous confirmons ici la corrélation entre la teneur en M.I.A. et la viscosité apparente d'un milieu. La purée flash-détente®, qui présente la plus forte teneur en M.I.A. (6,3 %/matière fraîche), a effectivement la viscosité apparente la plus élevée (50 à 55 Pa.s sur produit ou dispersion modèle),

- *la teneur en amidon et sa structure (granules ou amidon empesé)* : l'amidon présent dans l'arille du fruit a été empesé lors de l'étape d'étuvage et se retrouve donc sous cette forme dans les purées étuvée et flash-détente®. Ce biopolymère a, de par sa structure, une influence directe sur la viscosité du milieu. Selon le produit considéré, on peut estimer les



rôles de l'amidon et des parois cellulaires en examinant les viscosités des dispersions modèles préparées à partir de M.I.A. désamidonnés :

- \* pour le jus «natif», la viscosité apparente n'est plus mesurable (Tableau 23). Il semble que dans ce cas, la viscosité du jus «natif» serait donc due essentiellement à la présence d'amidon ; la très faible teneur en parois du jus ne peut expliquer sa viscosité.
- \* la viscosité de la purée flash-détente® est au contraire majoritairement due à la teneur en parois cellulaires et dans une moindre mesure à la présence d'amidon empesé. En effet, même après désamidonnage, le milieu reconstitué conserve plus des  $\frac{3}{4}$  de sa viscosité initiale (38,2/51,0 Pa.s).
- \* pour la purée étuvée, on se trouve dans une situation intermédiaire : après désamidonnage, la viscosité apparente de la dispersion modèle chute de 66 % à 80 % selon que l'on se rapporte au produit ou à sa solution modèle (Tableau 23, p. 79).

De plus, il est possible que la perte de cohésion cellulaire engendrée par la détente sous vide (cf. § I.4.3., p. 91), qui est peu visible dans la purée étuvée, explique aussi en partie la forte viscosité de la purée flash-détente®. En effet, l'accroissement de la distance intercellulaire au sein du mésocarpe par rupture du ciment pectique augmenterait la surface spécifique des cellules et donc la viscosité du milieu.

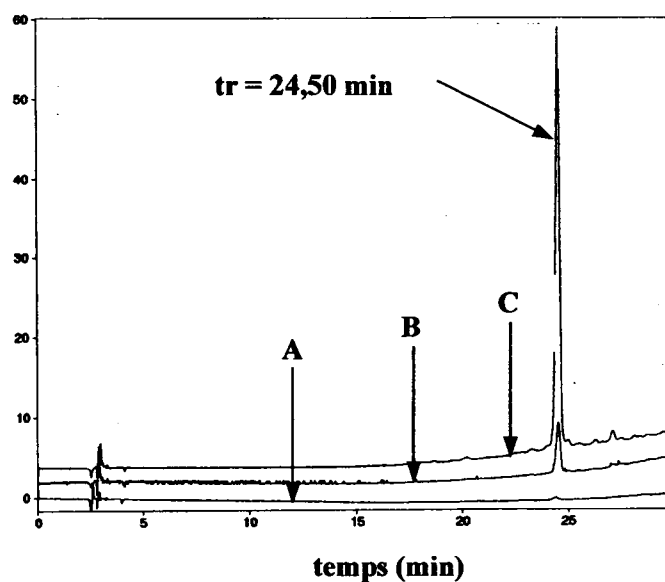
#### **I.3.4. La couleur des produits**

##### ***Caractérisation de la couleur par chromamétrie***

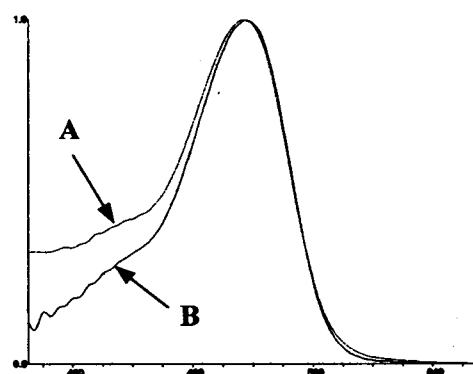
Le fruit de la passion porte la dénomination pourpre en raison de la couche anthocyanée de couleur pourpre située sur la face externe du mésocarpe. Tout comme dans la variété jaune (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), le jus fruit de la passion pourpre est de couleur jaune orangé intense (Photo 14, A) avec une valeur de l'indice de couleur b égale à 31,38.

L'étape d'étuvage provoque tout d'abord un ramollissement partiel mais, surtout, l'étape de détente désagrège totalement la couche anthocyanée. Cette zone pourpre sera intégrée au jus de couleur jaune lors de l'étape de raffinage.

La couleur pourpre des purées et donc l'indice de couleur a sont proportionnels à la quantité de mésocarpe introduite dans le jus suite aux trois étapes successives que sont l'étuvage, la détente sous vide puis le raffinage. La purée flash-détente® ayant une couleur pourpre intense (Photo 14, C) présente un indice de couleur a 3 fois plus important que le jus natif (Tableau 24). La purée étuvée est un produit intermédiaire de couleur rouge (Photo 14, B) ayant une teneur en anthocyanes plus faible que la purée flash-détente®.



**Figure 52.** Chromatogramme C.L.H.P. des anthocyanes de jus et purées de fruit de la passion (A) jus natif, (B) purée étuvée, (C) purée flash-détente.



**Figure 53.** Spectres d'absorption de l'anthocyane majoritaire des extraits de purées de fruit de la passion (A,  $\lambda_{\text{max}} = 514 \text{ nm}$ ) et du 3-glucoside de cyanidol. (B,  $\lambda_{\text{max}} = 515 \text{ nm}$ ).

Tableau 24. Caractéristiques chromatiques des produits.

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente®
L	54,3	35,9	32,9
a	5,2	12,9	16,5
b	31,4	10,4	8,9

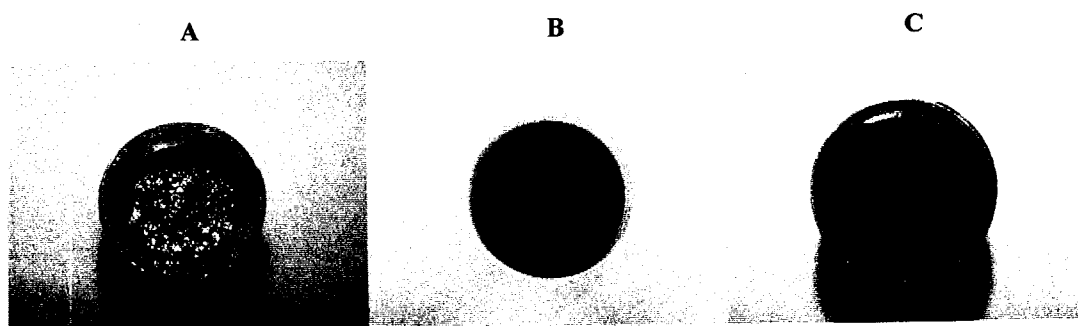


Photo 14. Jus «natif» de fruit de la passion (A), et purées étuvée (B) et flash-détente® (C).

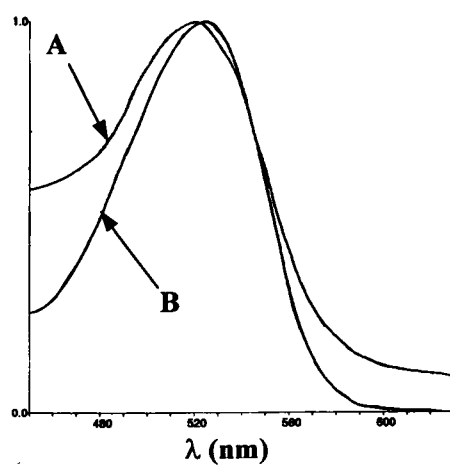
A l'inverse, les valeurs b et L respectivement proportionnelles à la couleur jaune et à la luminosité du produit décroissent dans le produit étuvé puis dans la purée flash-détente® pour atteindre respectivement 32,9 et 8,9.

### *Les anthocyanes*

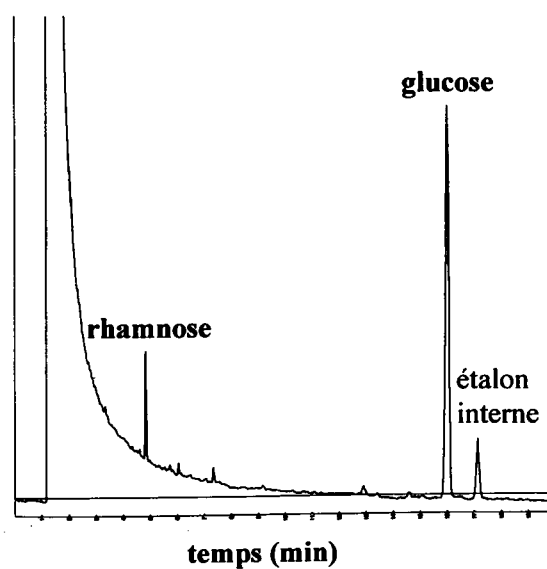
Comme indiqué précédemment, la couleur spécifique des purées de fruit de la passion est attribué à la présence d'anthocyanes. Cependant, l'identification de ces composés dans le fruit de la passion a fait l'objet d'une controverse. Pruthi *et al.* (1961) ont identifié le 3-glucoside de pelargonidol comme étant l'anthocyane majoritaire dans la peau du fruit de la passion pourpre (*Passiflora edulis* Sims) alors que Kidoy *et al.* (1997) ont identifié le 3-glucoside de cyanidol comme composé majoritaire à plus de 97 %.

L'analyse du profil chromatographique des jus «natif» et purées de fruit montre clairement la forte prédominance d'un anthocyane (Figure 52). L'identification de ce composé a été effectuée comme suit :

- injection en chromatographie liquide haute performance des deux étalons (3-glucoside de cyanidol et 3-glucoside de pelargonidol) puis co-injection avec les extraits,
- détermination des maxima d'absorption du composé majoritaire dans les trois extraits, des deux étalons et comparaison aux valeurs de la littérature,



**Figure 54. Spectres d'absorption de l'anthocyanidol majoritaire des extraits de purées de fruit de la passion (A,  $\lambda_{\text{max}} = 521 \text{ nm}$ ) et du cyanidol étalon (B,  $\lambda_{\text{max}} = 524 \text{ nm}$ ).**



**Figure 55. Chromatogramme C.P.G. des oses (acétates d'alditol) constitutifs des anthocyanes de la purée flash-détente de fruit de la passion.**

- hydrolyse en milieu acide du mélange d'anthocyanes et des molécules de référence scindant les molécules en deux parties distinctes : l'anthocyanidol et la partie glucidique,
- injection en C.L.H.P. des anthocyanidols après hydrolyse,
- analyse en chromatographie en phase gazeuse des oses (sous forme d'acétates d'alditol) constitutifs de la partie glucidique de l'anthocyane (cf. § III.17., p.59).

Par injection des étalons puis co-injection avec les extraits, le pic d'anthocyane majoritaire présente un temps de rétention identique à celui du **3-glucoside de cyanidol** (24,50 min). Le spectre d'absorption du composé est présenté simultanément à celui du 3-glucoside de cyanidol étalon (Figure 53). Les deux spectres montrent des maxima d'absorption proches (515 et 514 nm).

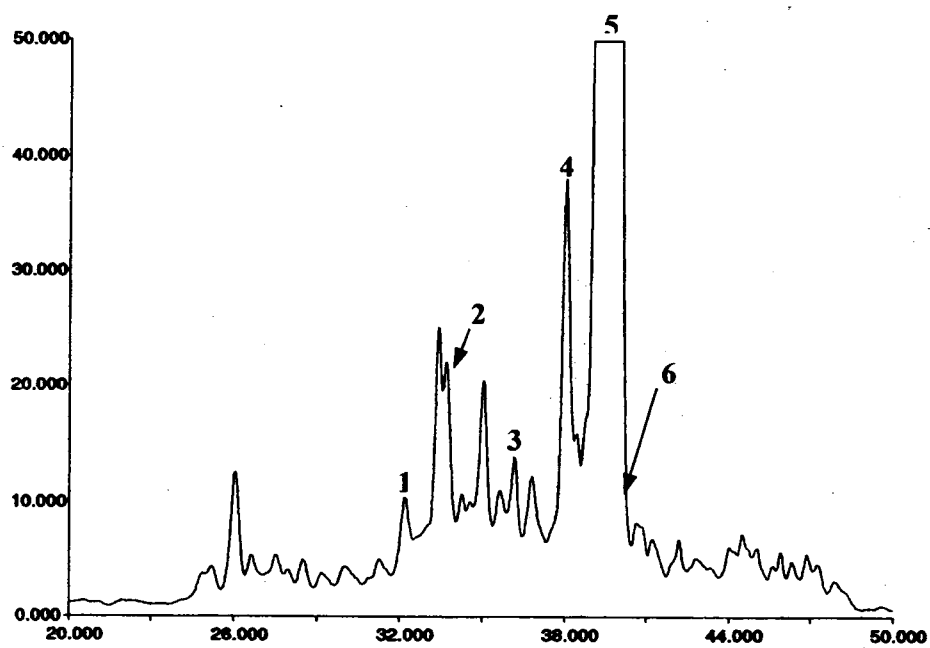
La Figure 54 présente les spectres d'absorption de l'aglycone majoritaire (A,  $\lambda_{\max} = 521$  nm) et du cyanidol étalon (B,  $\lambda_{\max} = 524$  nm) obtenu par hydrolyse acide du 3-glucoside de cyanidol étalon et de l'extrait (cf. § III.8., p. 53). Les deux aglycones ont des maxima d'absorption très proches.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse des oses (sous forme d'acétates d'alditol) libérés par hydrolyse acide montre la présence de plus de 90 % de glucose (en pourcentage molaire) mais aussi des traces de rhamnose (Figure 55). Ce résultat laisse supposer que l'essentiel des anthocyanes des peaux de fruit de la passion est constitué de glucosides avec cependant des traces d'anthocyanes sous forme de rutinoside [ $\alpha$ -D-rhamnosyl-(1→6)-D-glucose] et/ou rhamnoside.

**Tableau 25. Caractéristiques du composé inconnu et du 3-glucoside de cyanidol.**

		composé inconnu	3-glucoside de cyanidol
anthocyane	temps de rétention (min)	24,50	24,52
	$\lambda_{\max}$ (nm)	514	515
anthocyanidol	temps de rétention (min)	30,58	30,48
	$\lambda_{\max}$ (nm)	521	524

L'analyse de l'ensemble des résultats tant au niveau des anthocyanes que des aglycones (Tableau 25) nous permet d'identifier l'anthocyane majoritaire comme étant le **3-glucoside de cyanidol**. Ce composé représente plus de 95 % des anthocyanes présents dans les extraits de fruit de la passion.



**Figure 56. Chromatogramme c.l.h.p. des caroténoïdes de purée flash-détente de fruit de la passion.**

La quantification de ce composé a été effectuée par étalonnage externe en c.l.h.p. La concentration en 3-glucoside de cyanidol a été déterminée par mesure de l'absorption spécifique des extraits en se référant au coefficient d'extinction molaire du 3-glucoside de cyanidol dans le méthanol/HCl (1 %) - ( $\epsilon$ ) à 515 nm = 29600.

Le jus «natif» est pratiquement dépourvu d'anthocyanes. Conformément aux mesures chromamétriques et à l'appréciation visuelle des couleurs des deux purées (Tableau 24 et Photo 14, p. 81), la concentration en 3-glucoside de cyanidol de la purée flash-détente<sup>®</sup> est ~ 10 fois plus élevée que celle de la purée étuvée (Tableau 26).

**Tableau 26. Teneurs (mg/kg) en 3-glucoside de cyanidol des jus et purées de fruit de la passion.**

jus «natif»	0,1
purée étuvée	1,6
purée flash-détente <sup>®</sup>	13,0

L'incorporation de mésocarpe riche en anthocyanes est donc bien supérieure suite à la détente par rapport au simple étuvage. Nous montrons donc une fois de plus l'effet spécifique de la détente dans le procédé technologique.

### ***Les caroténoïdes***

Les répartitions qualitative et quantitative des caroténoïdes dans un jus et plus encore dans les purées de fruit de la passion restent peu connues.

Les caroténoïdes ont été identifiés par c.l.h.p. (Figure 56) et deux méthodes de quantification ont été utilisées (cf. § III.9., p. 54). La méthode par étalonnage externe en c.l.h.p. donne en effet des résultats très différents de la simple mesure de l'absorption spécifique des extraits.

Les esters de caroténoïdes, libérés après saponification, n'ont pas été recherchés. L'identification des composés a été effectuée par injection des composés étalons et par co-injection avec les extraits. Les spectres d'absorption spécifiques des différents composés ont été comparés avec la littérature (Tableau 27, p. 84).

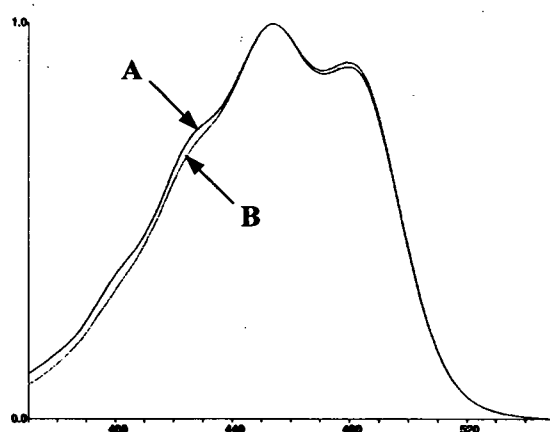


Figure 57. Spectres d'absorption du *all-trans*- $\beta$ -carotène (A,  $\lambda_{\text{max}} = 454 \text{ nm}$ ) et du composé identifié comme tel (B,  $\lambda_{\text{max}} = 454 \text{ nm}$ ).

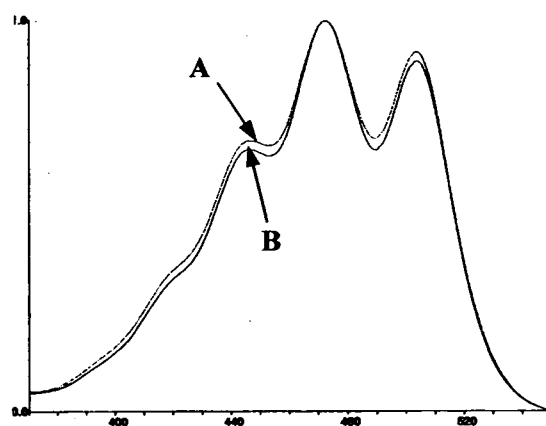


Figure 58. Spectres d'absorption du *all-trans*-lycopène (A,  $\lambda_{\text{max}} = 472 \text{ nm}$ ) et du composé identifié comme tel (B,  $\lambda_{\text{max}} = 472 \text{ nm}$ ).



**Tableau 27. Maxima d'absorption ( $\lambda_{\max}$ ) des différents caroténoïdes détectés dans les extraits de fruit de la passion.**

pic n°		littérature (nm) <sup>a</sup>	extrait de fruit de la passion
1	<i>all-trans</i> -lycopène	447/474/504	445/472/502
2	carotène non identifié	-	379/400/426
3	carotène non identifié	-	380/402/423
4	$\zeta$ -carotène	380/400/424	382/403/427
5	<i>all-trans</i> - $\beta$ -carotène	425/450/478	428/453/480
6	neo- $\beta$ -carotène A et/ou	425/448/474	427/450/473
	neo- $\beta$ -carotène B	423/446/472	

<sup>a</sup>d'après Roussef *et al.* (1992).

Les composés extraits présentent des spectres d'absorption typiques de caroténoïdes avec trois maxima entre 400 et 500 nm. Le Tableau 27 présentent les différents maxima d'absorption des composés identifiés. Ces valeurs connaissent néanmoins des variations minimales en fonction du solvant d'extraction et de la phase mobile utilisée en C.L.H.P. Les Figures 57 et 58 présentent les spectres d'absorption obtenus en C.L.H.P. des étalons *all-trans*- $\beta$ -carotène et *all-trans*-lycopène, ainsi que ceux des deux composés identifiés comme tels.

Les teneurs en caroténoïdes des jus et purées de fruit de la passion sont présentées dans le Tableaux 28 (p. 85). Ces teneurs ont été mesurées et exprimées de deux façons :

- en mesurant la densité optique des extraits au maximum d'absorption puis en se référant aux coefficients d'extinction ( $E^{1\%}$ ) du *all-trans*- $\beta$ -carotène (2592 à 453 nm ; Taungbodhitham *et al.*, 1998),

- en sommant les aires de tous les pics de caroténoïdes détectés en C.L.H.P. et en rapportant la somme de ces aires à une gamme étalon de *all-trans*- $\beta$ -carotène (caroténoïde majeur chez le fruit de la passion).

*Remarque* : les caroténoïdes non identifiés sont exprimés en équivalents *all-trans*- $\beta$ -carotène.

Tableau 28. Teneurs<sup>a</sup> en caroténoïdes dans les jus et purées de fruit de la passion.

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente <sup>®</sup>
caroténoïdes totaux <sup>b</sup> (DO 453 nm)	962	957	1085
caroténoïdes totaux <sup>b</sup> (C.L.H.P.)	557	600	705
<i>all-trans</i> - $\beta$ -carotène	392 (70) <sup>c</sup>	460 (76)	533 (78)
<i>all-trans</i> - $\zeta$ -carotène	23	33	27
<i>all-trans</i> -lycopène	36	19	20
néo- $\beta$ -carotène A et B	77	55	90
caroténoïdes non identifiés <sup>b</sup>	29	33	35

<sup>a</sup>  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  de matière fraîche. <sup>b</sup> Expression en équivalents *all-trans*- $\beta$ -carotène. <sup>c</sup> Les valeurs entre parenthèses sont les pourcentages de *all-trans*- $\beta$ -carotène par rapport aux caroténoïdes totaux déterminés par C.L.H.P.

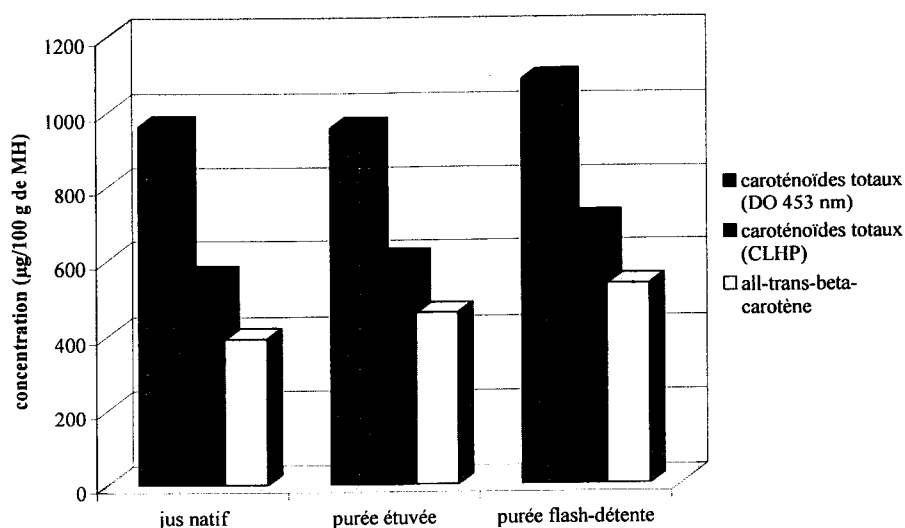
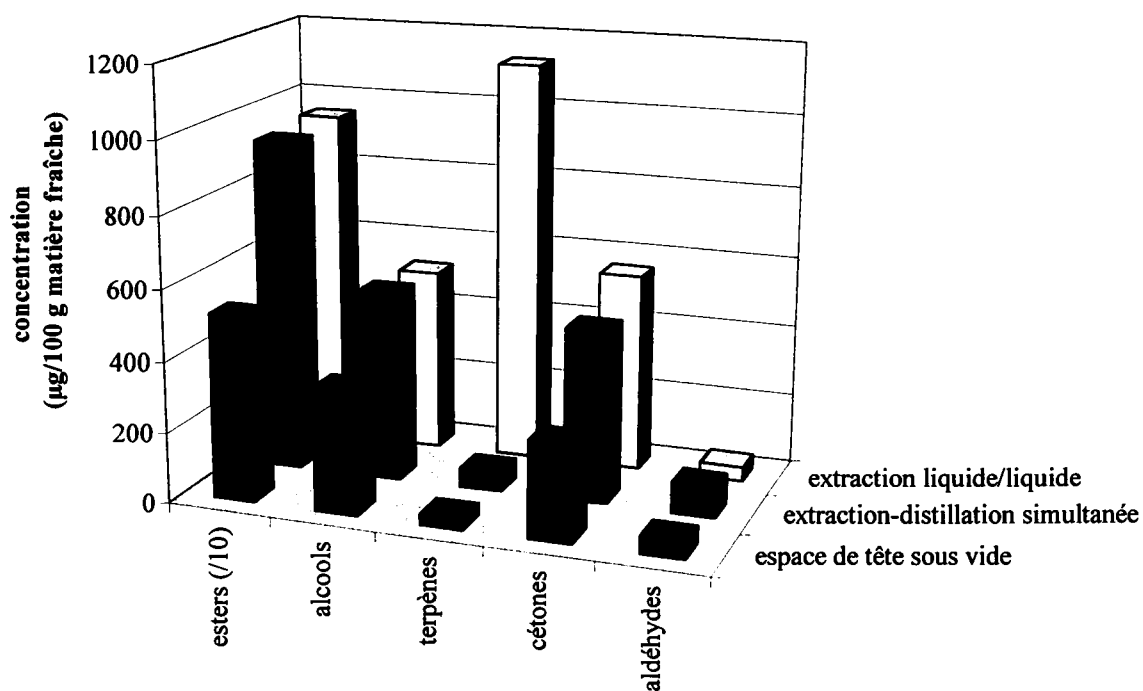


Figure 59. Teneurs en caroténoïdes dans les jus et purées de fruit de la passion.

On note une très nette différence de concentration entre les deux méthodes de dosage (mesure de l'absorption et C.L.H.P., Figure 59). Les résultats obtenus à partir des mesures de l'absorption à 453 nm sont surévalués, probablement à cause de la présence d'impuretés absorbant en partie à cette longueur d'onde.

Quel que soit le produit concerné, le *all-trans*- $\beta$ -carotène est le caroténoïde majeur du fruit de la passion pourpre avec de 70 à 78 % des caroténoïdes totaux. Les teneurs en



**Figure 60. Concentrations des différentes classes de composés volatils dans les jus et purées de fruit de la passion selon la technique d'extraction.**

**Tableau 29. Concentrations<sup>a</sup> des différentes classes de composés volatils dans les jus et purées de fruit de la passion selon la technique d'extraction.**

	esters	alcools	terpènes	cétones	aldéhydes
espace de tête sous vide	5210	350	30	270	45
extraction-distillation simultanée	9325	535	55	485	85
extraction liquide/liquide	9485	520	1130	560	40

<sup>a</sup>µg/100g de matière fraîche.

caroténoïdes totaux (C.L.H.P.) des trois produits sont proches, montrant ainsi que l'écorce du fruit aurait une teneur proche de celle de l'arille : en effet, compte tenu des rendements en ces produits, dans les purées le jus serait dilué deux fois par apport d'une partie de l'enveloppe externe (cf. § I.2.1., p. 70).

### **I.3.5. Les composés volatils des produits**

#### ***Comparaison de techniques d'extraction***

Le jus de fruit de la passion présente une odeur fruitée particulièrement agréable et typiquement tropicale. Ces caractéristiques olfactives sont attribuées à la présence de plus de 294 composés identifiés parmi lesquels les esters d'acides gras sont majoritaires. Ces esters mais aussi les aldéhydes et les alcools aliphatiques et terpéniques, jouent un rôle primordial dans la définition olfactive de l'arôme «passion».

Trois méthodes d'extraction fondamentalement différentes ont donc été testées sur le jus «natif» de fruit de la passion afin d'identifier la méthode la plus adaptée à la définition du profil aromatique. Les résultats sont présentés dans les Figure 60 et Tableau 29. Rappelons que :

- *l'extraction liquide-liquide (ELL)* consiste à broyer les cellules végétales dans le solvant d'extraction. Les molécules aromatiques sont différemment extraites selon leur affinité vis-à-vis du solvant et donc leur polarité. Cette technique, permet non seulement d'appréhender la fraction volatile mais aussi l'ensemble des composés dont la tension de vapeur à pression atmosphérique n'est pas suffisante pour les rendre directement volatils mais qui cependant jouent un rôle essentiel dans la définition du profil aromatique du produit.

- *l'extraction de l'espace de tête sous vide (ETV)* : il s'agit d'un système dynamique dans lequel la distillation est menée sous vide de manière à augmenter la volatilité des composés aromatiques et à diminuer sensiblement le point d'ébullition de l'eau. Les arômes sont «piégés» selon leur volatilité dans trois pièges successifs refroidis à différentes températures (Werkhoff *et al.*, 1998) (cf. § III.25., p. 65). Les arômes condensés dans les pièges sont réunis puis extraits par un mélange de solvants de polarité moyenne [pentane/dichlorométhane (2/1, v/v)]. Ce type d'extraction permet d'analyser la fraction volatile de la purée mais ne permet pas d'analyser quantitativement certains composés aromatiques comme les mono- et sesquiterpènes, étroitement liés à la matrice polysaccharidique et jouant cependant un rôle prépondérant.

**Tableau 30. Concentrations des composés d'arôme du jus de fruit de la passion natif selon le mode d'extraction.**

composés	ED <sup>b</sup>	DES <sup>c</sup>	ETV <sup>d</sup>	identification <sup>e</sup>
hexanal	20	40	5	1
butanoate d'éthyle	980	440	470	1
4-hydroxy 4-méthyle pentan-2-one	40	5	tr	2
(Z)-hex-3-èn-1-ol	50	60	20	2
hexanol	70	90	40	1
heptan-2-one	50	10	10	2
heptan-2-ol	10	10	10	1
hexanoate de méthyle	tr	5	tr	2
3-hydroxy butanoate d'éthyle	50	10	5	1
benzaldéhyde	10	5	30	2
$\alpha$ -pinène	10	tr	tr	1
camphène	tr	tr	tr	1
butanoate de butyle	140	60	60	1
hexanoate d'éthyle	270	140	130	1
acétate de (Z)-hex-3-ènyle	90	60	60	1
acétate d'hexyle	70	40	30	1
1-phényl acetaldéhyde	10	40	10	2
<i>p</i> -cymène	10	60	0	1
2-méthyl butanoate de butyle	10	20	tr	2
limonène	1070	30	5	1
hexanoate d'isopropyle	20	5	tr	2
(E)-ocimène	30	5	5	1
3-hydroxy hexanoate de méthyl	5	10	5	2
octan ol-1	20	30	tr	2
oxyde de (Z)-linalol	10	10	tr	2
$\alpha$ -terpinolène	tr	tr	tr	1
hexanoate de propyle	140	50	20	2
linalol	60	80	20	1
acétate d'heptyle	10	5	10	2
$\beta$ -farnésène	20	20	20	1

**Tableau 30. Suite.**

acétate de phényle	40	20	10	2
butanoate de (Z)-hex-3-ène	600	620	460	1
hexanoate de butyle	200	410	140	2
butanoate d'hexyle	1740	1650	1150	2
octanoate-1 d'éthyle	20	20	50	2
acétate d'octyle	10	10	5	2
butanoate de 2-heptyle	400	430	230	2
hexanoate de pentyle	50	20	10	1
nérol	tr	5	tr	1
géraniol	50	40	10	1
butanoate d'heptyle	30	20	10	2
$\alpha$ -terpinéol	260	300	250	2
méthyl butanoate de phényle	120	100	80	2
3-hydroxy hexanoate d'éthyle	40	10	10	1
acétate de dec-9-ène	220	160	90	2
hexanoate de (Z)-hex-3-ène	810	950	530	2
hexanoate d'hexyle	2120	2550	1100	1
butanoate d'octyle	360	420	190	2
hexanoate de 2-heptyle	510	580	220	2
octanoate de pentyle	70	110	40	2
octanoate de 2-pentyle	40	10	10	2
$\beta$ -ionone	370	440	260	1
hexanoate d'heptyle	80	10	5	2
octanoate d'hexyle	240	320	80	2
<b><math>\Sigma</math> concentrations</b>	<b>11745</b>	<b>10485</b>	<b>5905</b>	

<sup>a</sup>µg/100g de matière fraîche. <sup>b</sup>Extraction directe par un azéotrope. <sup>c</sup>Distillation/extraction simultanée. <sup>d</sup>Extraction de l'espace de tête sous vide. <sup>e</sup>Type d'identification : 1 = indice de rétention linéaire et spectre de masse du composé de référence; 2 = indice de rétention linéaire et spectre de masse similaire aux données bibliographiques. <sup>f</sup>tr = traces (< 5 µg/100 g).

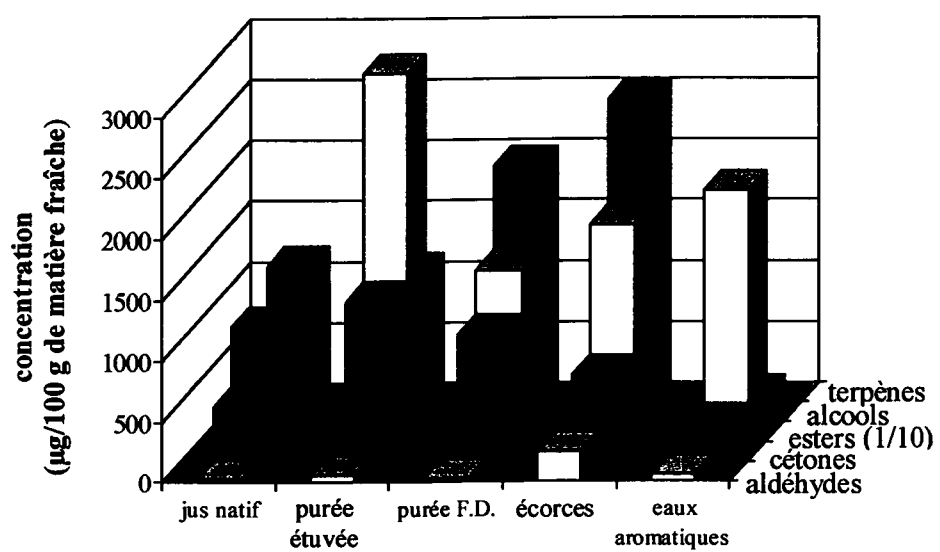
- la distillation/extraction simultanée selon Likens et Nickerson (1964) (DES) : la distillation est menée en présence d'un mélange de solvants dont la densité est supérieure à celle de la phase aqueuse à extraire. Les composés aromatiques entraînés à la vapeur sont mis en contact avec le mélange azéotropique [pentane/dichlorométhane (2/1, v/v)] sous forme gazeuse (cf. § III.26., p. 65). Cette distillation est menée à 100 °C pendant 2 h et engendre donc des phénomènes d'oxydation thermique pouvant procurer à l'extrait une note de cuit.

Parmi les 54 composés identifiés et ce, quelle que soit la technique d'extraction utilisée, les esters d'acides et particulièrement l'hexanoate d'hexyle, le butanoate d'hexyle, le butanoate de (Z)-hex-3-ène et l'hexanoate de (Z)-hex-3-ène représentent les composés majoritaires (Tableau 30) comme précédemment observé par Werkhoff *et al.* (1998).

Pour la majorité des composés volatils (esters, alcools, cétones), l'extraction liquide-liquide et la distillation-extraction simultanée donnent des résultats similaires ; certains esters comme le butanoate d'éthyle, le butanoate de butyle, l'hexanoate d'éthyle, l'hexanoate de propyle, et surtout les monoterpènes comme le limonène, le (Z)-ocimène et l' $\alpha$ -pinène sont cependant beaucoup moins bien extraits par la distillation-extraction simultanée. La concentration du limonène est en effet 30 fois supérieure dans l'extrait liquide-liquide en comparaison de la distillation-extraction simultanée et plus de 200 fois comparée à l'extraction de l'espace de tête sous vide.

L'extraction liquide-liquide permet en effet d'extraire les terpènes «piégés» par les polysaccharides pariétaux de la pulpe contrairement aux deux autres techniques d'extraction. Le limonène représente ainsi plus de 9 % des composés volatils totaux de l'extrait liquide-liquide tandis qu'il ne représente que 0,2 % de l'extrait de l'espace de tête sous vide comme précédemment mentionné par Werkhoff *et al.* (1998).

Si l'extraction par espace de tête sous vide autorise une faible température d'extraction (~ 40°C) comparée à la distillation-extraction simultanée, cette technique fournit cependant les rendements les plus faibles avec notamment près de la moitié des esters et des cétones extraits par rapport à l'extraction liquide-liquide (Figure 60). Enfin, l'extraction-distillation simultanée, bien que fournissant des résultats proches de l'extraction liquide-liquide (hormis pour les terpènes), nécessite un traitement thermique de longue durée susceptible de dégrader les composés aromatiques les plus sensibles et ne peut donc être utilisé.



**Figure 61. Concentrations des composés d'arôme des jus, purées, et écorces de fruit de la passion et des eaux aromatiques.**



L'extraction liquide-liquide avec le mélange de solvants [pentane/dichlorométhane (2/1, v/v)] a donc été préférée aux deux autres techniques.

### **Composés volatils dans les produits** (Tableau 31, Figure 61)

Le procédé de flash-détente<sup>®</sup> incluant deux étapes, l'étuvage puis la détente sous vide, la purée étuvée a été analysée séparément de la purée flash-détente<sup>®</sup>. De même, afin de juger de l'influence du taux d'incorporation d'une partie du mésocarpe sur les qualités organoleptiques des deux purées, nous avons extrait et analysé séparément les composés volatils de l'écorce.

Les eaux aromatiques récupérées lors du traitement des fruits ont de même été analysées séparément afin de juger du potentiel aromatique de ce produit mais aussi de l'effet après réincorporation dans la purée flash-détente<sup>®</sup>.

#### La purée étuvée

En comparaison du jus «natif», la purée étuvée présente une concentration en composés volatils totaux très nettement supérieure (15850 contre 11745 µg/100 g).

Les esters sont présents en quantités très importantes dans les deux cas mais montrent une répartition relative assez différente. Les cinq esters principaux dans la purée étuvée sont : l'hexanoate d'hexyle, l'hexanoate de 2-heptyle, le butanoate d'hexyle, le butanoate de 2-heptyle et le butanoate d'octyle. Si, comme précédemment mentionné par Werkhoff *et al.* (1998), l'hexanoate d'hexyle est aussi l'ester majoritaire dans le jus «natif», le butanoate d'hexyle avec 1740 µg/100 g est le second ester le plus abondant.

Ce changement de répartition relative des esters dans la purée étuvée/jus «natif» peut être corrélée à l'incorporation d'une partie du mésocarpe augmentant ainsi le rendement en purée de 100 % (cf. Tableau 15, p. 70). Ainsi, les très nettes diminutions en butanoate-1 d'éthyle, acétate de dec-9-ényle et en hexanoate de (Z)-hex-3-ényle dans la purée étuvée/jus «natif» sont expliquées par la dilution du jus «natif» par le mésocarpe (= écorce), cette partie du fruit possédant en effet des teneurs nulles ou très faibles en ces composés. Ce phénomène de dilution ne peut cependant expliquer la très nette diminution du butanoate d'éthyle dans la purée étuvée (520 µg/100 g) alors que le jus «natif» et l'écorce en possèdent justement des teneurs élevées (respectivement 970 et 610 µg/100 g).

Globalement, les alcools aliphatiques voient leurs concentrations très fortement augmenter dans la purée étuvée. Dans certains cas, cet accroissement peut être expliqué par la richesse de l'écorce en ces composés [ex. heptan-2-ol] ; dans d'autres cas

**Tableau 31 : Concentrations<sup>a</sup> des composés d'arôme des jus, purées, et écorces de fruit de la passion et des eaux aromatiques.**

		jus natif	purée étuvée	purée flash-détente	écorces	eaux aromatiques
hydrocarbures	$\alpha$ -pinène	10	5	10	5	210
	camphène	0	5	0	0	0
	<i>p</i> -cymène	10	50	50	6	80
	limonène	1060	910	1740	30	2100
	( <i>E</i> )-ocimène	30	40	90	10	50
	$\alpha$ -terpinolène	0	10	10		30
	$\beta$ -farnesène	20	60	50	10	30
aldéhydes	hexanal	20	20	5	0	30
	benzaldéhyde	10	10	10	30	140
	phenylacétaldéhyde	10	30	20	40	90
cétones	4-hydroxy 4-méthyl pentan-2-one	40	60	70	0	0
	heptan-2-one	50	60	70	90	60
	$\beta$ -ionone	370	110	220	20	110
alcools	( <i>Z</i> )-hex-3-énol	50	290	120	200	30
	hexanol	70	1330	570	550	230
	heptan-2-ol	10	60	40	130	60
	octanol	20	140	80	50	50
terpénols	oxyde de ( <i>Z</i> )-linalol	10	10	20	10	20
	linalol	60	610	180	690	240
	nérol	0	40	10	40	520
	géraniol	60	190	120	150	370
	$\alpha$ -terpinéol	260	200	110	90	100
esters	butanoate d'éthyle	970	520	70	610	0
	hexanoate d'éthyle	0	10	10	0	0
	3-hydroxy butanoate d'éthyle	50	140	130	10	30
	butanoate de butyle	140	60	20	20	80
	hexanoate d'éthyle	270	240	70	70	130
	acétate de ( <i>Z</i> )-hex-3-ényle	90	90	70	60	100
	acétate d'hexyle	70	110	50	30	270

**Tableau 31. Suite.**

2-méthyl butanoate de butyle	10	70	20	10	0
hexanoate d'isopropyle	20	100	20	10	60
3-hydroxy hexanoate de méthyle	5	30	10	5	20
hexanoate de propyle	140	260	290	110	110
acétate d'heptyle	10	20	10	20	100
acétate de phényle	40	170	80	170	130
butanoate de (Z)-hex-3-ène	600	250	120	40	920
hexanoate de butyle	200	150	110	5	0
butanoate d'hexyle	1740	1520	1010	50	80
octanoate d'éthyle	30	40	30	10	100
acétate d'octyle	10	30	30	0	20
butanoate de 2-heptyle	400	1070	630	20	160
hexanoate de pentyle	50	220	170	10	260
butanoate d'heptyle	30	40	30	0	0
2-méthyl butanoate de phényle	130	20	20	10	140
3-hydroxy hexanoate d'éthyle	40	130	100	0	1840
acétate de dec-9-ène	220	80	90	0	0
hexanoate de (Z)-hex-3-ène	820	520	470	10	80
hexanoate d'hexyle	2120	2540	2580	30	160
butanoate d'octyle	360	570	550	20	60
hexanoate de 2-heptyle	510	1750	1280	40	200
octanoate de pentyle	70	130	110	20	30
octanoate d'isopentyle	40	80	60	0	90
hexanoate d'heptyle	80	80	50	10	270
octanoate d'hexyle	240	550	540	5	140
<b>Σ concentrations</b>	<b>11745</b>	<b>15850</b>	<b>12495</b>	<b>3650</b>	<b>10080</b>

<sup>a</sup>µg/100g de matière fraîche.

l'augmentation constatée ne peut être expliquée par la dilution, l'écorce étant relativement pauvre en ces composés [ex. hexanol, octanol]. Ce phénomène pourrait être lié à une hydrolyse de certains esters en milieu acide (pH du jus 3,22) et à chaud (85-90°C). La sensibilité des esters au traitement thermique d'étuvage semble, de plus, inversement proportionnelle à la longueur de la chaîne estérifiée et donc à la volatilité de ces composés. Ainsi, les acétates à chaîne courte [acétates d'hexyle, de (Z)-hex-3-ène, d'heptyle ou d'octyle] ne semblent que très peu influencés par le traitement thermique.

De même que les alcools aliphatiques, les alcools monoterpéniques voient leurs concentrations fortement augmenter dans la purée étuvée avec cependant un comportement très hétérogène. En effet, si l'effet de dilution du jus «natif» par le mésocarpe explique les augmentations sensibles en géraniol et nérol (respectivement + 130 et + 40 µg/100 g), l'évolution de la teneur en linalol, plus de 10 fois multipliée dans la purée étuvée, pourrait provenir de l'hydrolyse en milieu acide à chaud d'une partie des précurseurs glycosidiques du linalol. Ces précurseurs sont en effet particulièrement abondants dans le fruit de la passion (Chassagne, 1996). Notons aussi que l'hydrolyse acide d'un précurseur glycosidique du 3,7-diméthyle oct-1-ène-3,7-diol, présent dans un extrait chloroformique de jus de fruit de la passion jaune, serait aussi susceptible de participer à l'augmentation de la teneur en linalol, le diméthyle-3,7 oct-1-ène-3,7-diol pouvant être, dans ces conditions, converti en linalol (Engel et Tressl, 1983).

Notons que la purée étuvée présente une teneur en  $\beta$ -ionone plus de 3 fois inférieure à celle du jus natif (370 µg/100 g).

#### La purée flash-détente®

La purée flash-détente® présente une teneur en composés volatils totaux inférieure à celle de la purée étuvée (12495 contre 15850 µg/100 g). Cette diminution est partiellement corrélée avec l'évaporation d'une partie de l'eau de constitution des fruits lors de l'étape de détente sous vide. En effet, ces eaux aromatiques particulièrement riches en composés volatils représentent ~ 10 % de la masse totale de fruits traités.

Les teneurs en composés volatils dans les eaux aromatiques sont très variables et n'expliquent pas toujours les pertes observées dans la purée flash-détente®. Ainsi, certains alcools, comme l'hexanol, le linalol et le géraniol, connaissent une chute importante dans la purée flash-détente® et sont en partie retrouvés dans les eaux aromatiques ; de même pour certains esters [ex. acétates d'hexyle et de phényle, butanoate de (Z)-hex-3-ène].

**Tableau 32. Test d'analyse sensorielle ANOVA à 5 % sur les jus et les purées de fruit de la passion.**

	moyenne	écart-type	groupe
jus natif	7,42	2,02	A
purée étuvée	4,17	2,17	B
purée flash-détente + eaux aromatiques	5,25	2,62	B

Cependant, certains composés sont en très fortes concentrations dans ces eaux [ex. limonène, 3-hydroxy hexanoate d'éthyle] et ne peuvent provenir de la purée étuvée où ils sont plus faiblement représentés. Ce phénomène reste inexpliqué.

Le bilan aromatique reste néanmoins très bon puisque plus de 90 % des composés volatils présents dans la purée étuvée sont récupérés dans la purée flash-détente® après réintroduction proportionnelle des eaux aromatiques (Tableau 31).

### **I.3.6. Approche sensorielle**

Le jus et les deux purées de fruit de la passion présentant des profils aromatiques singulièrement différents, un plan d'analyse sensorielle a été mené avec un jury de douze personnes non entraînées à la dégustation.

Le procédé de flash-détente® permettant la récupération de ~ 10 % de la masse de fruits traités sous forme d'eaux aromatiques, celles-ci ont été ajoutées à la purée flash-détente® en proportion équivalente.

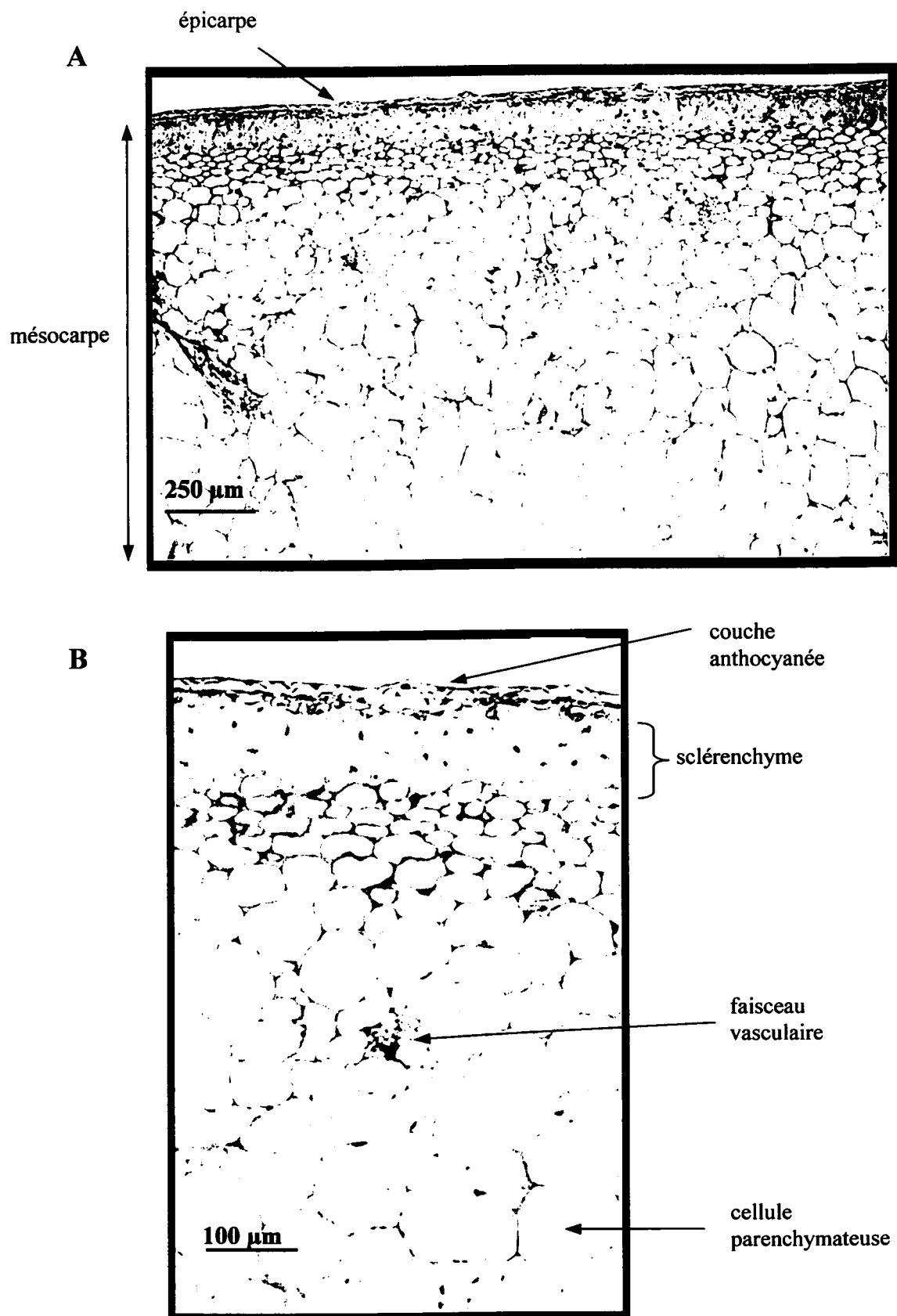
Les résultats du test ANOVA à 5 % d'incertitude montre clairement l'apparition de deux groupes (Tableau 32). Le jus de la passion «natif» n'ayant subi aucun traitement thermique apparaît nettement plus fruité. Les purées étuvée et flash-détente® (additionnée des eaux aromatiques) ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre mais sont toutes deux différentes du jus «natif».

## **I.4. ETUDE HISTOLOGIQUE DES PRODUITS**

### **I.4.1. Fruit de la passion «natif»**

Les polysaccharides (*amyloplastes*, *polysaccharides pariétaux*) sont révélés par une coloration *rouge*, les *nucléoles* et les *noyaux* par une coloration *bleu-vert* et les *réserves protéiques* par une coloration *bleu-noir*.

La coloration des polysaccharides pariétaux permet d'observer la bonne cohésion des cellules parenchymateuses du mésocarpe de fruit de la passion «natif» (Photo 15, A). La zone sclérenchymateuse constituée de cellules hexagonales organisées transversalement montre, de même, l'étroitesse des espaces intercellulaires. La couche anthocyanée située sur la face externe du mésocarpe n'est pas ou peu dégradée par la coupe. A un plus fort grossissement (Photo 15, B), on observe les noyaux de couleur bleu-vert ainsi que les vaisseaux.



**Photo 15. Vue générale d'une section d'écorce de fruit de la passion natif après coloration au réactif de Schiff/Naphtol Blue Black (A, grossissement 58 fois; B, grossissement 145 fois).**

#### **I.4.2. Fruit de la passion après étuvage**

Les fruits de la passion ont été étuvés pendant 10 min à 90 °C conformément au traitement thermique appliqué aux fruits lors de la première étape du procédé de flash-détente®. Une très nette perte de cohésion cellulaire peut être observée au niveau du parenchyme avec, cependant, la persistance de cellules intactes (Photos 16, A, B). La présence de nombreuses taches noires est probablement due à la coagulation d'éléments protéiques. L'épicarpe, constitué de cellules sclérenchymateuses et épidermiques, reste compact avec une cohésion cellulaire quasi intacte. De même, l'endocarpe, partie de l'écorce du fruit reliée à l'arille, n'est pas dégradé (Photo 17, A). Notons enfin que les granules d'amidon ont été empesés suite au traitement thermique (Photo 17, B).

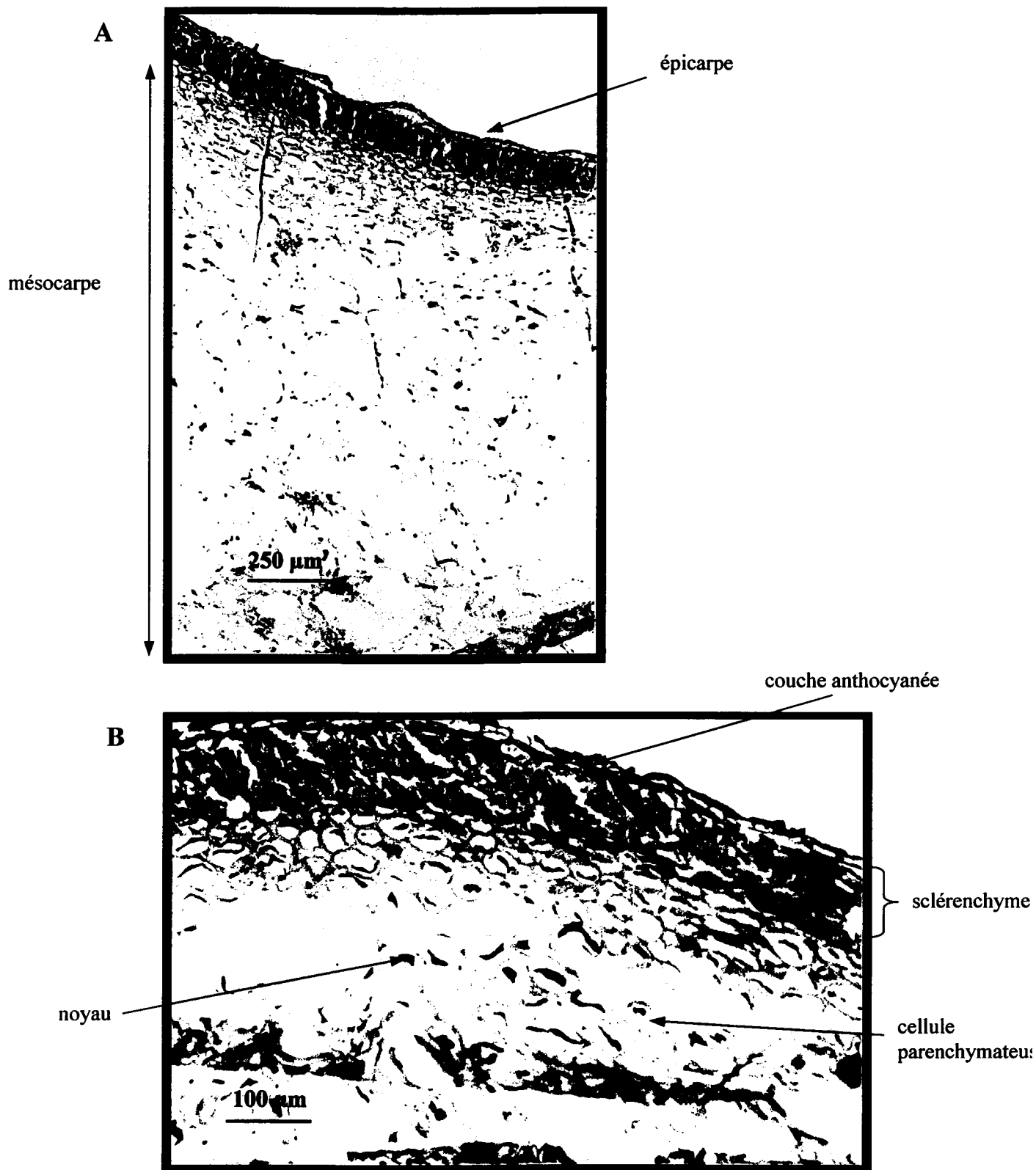
#### **I.4.3. Fruit de la passion après flash-détente®**

De nombreux bouleversements dus aux effets conjugués de l'étuvage puis de la détente sont mis en évidence (Photos 18, A, B) :

- coagulation des éléments protéiques suite à l'étape d'étuvage,
- perte totale de la cohésion cellulaire au niveau du parenchyme mais aussi du sclérenchyme suite à l'évaporation brutale d'une partie de l'eau intra et intercellulaire,
- éclatement d'une partie des cellules parenchymateuses, l'évaporation d'une partie du contenu vacuolaire provoquant la rupture d'une fraction des parois cellulaires,
- changement sensible de couleur au niveau du sclérenchyme en comparaison des deux témoins «natif» et étuvé. L'étape de détente responsable de la perte de la cohésion cellulaire facilite l'accès du colorant,
- perte de la structure hexagonale des cellules constitutives du sclérenchyme avec création de micro-canaux intercellulaires (Cogat, 1989),
- expansion du mésocarpe entraînant une augmentation de l'épaisseur et de la distance intercellulaire moyenne dans la zone sclérenchymateuse.

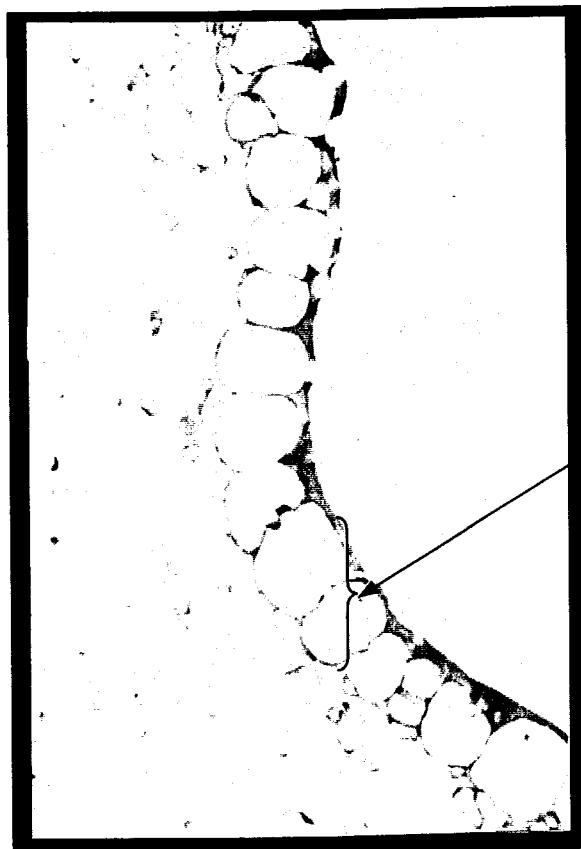
Les effets histologiques du procédé flash-détente® sur l'écorce de fruit de la passion sont ici clairement démontrés. La perte de cohésion cellulaire engendrée par ce procédé, est directement corrélée à la couleur rouge-pourpre intense des purées de fruit de la passion. En effet, le mésocarpe et plus particulièrement la zone anthocyanée pourpre située sur la face externe du mésocarpe, sont dégradés par le procédé de flash-détente® puis intégrés au jus lors de l'étape de raffinage (cf. § I.2.1., p. 70). Ces bouleversements histologiques





**Photo 16.** Vue générale d'une section d'écorce de fruit de la passion étuvé après coloration au réactif de Schiff/Naphtol Blue Black (A, grossissement 58 fois; B, grossissement 145 fois).

A



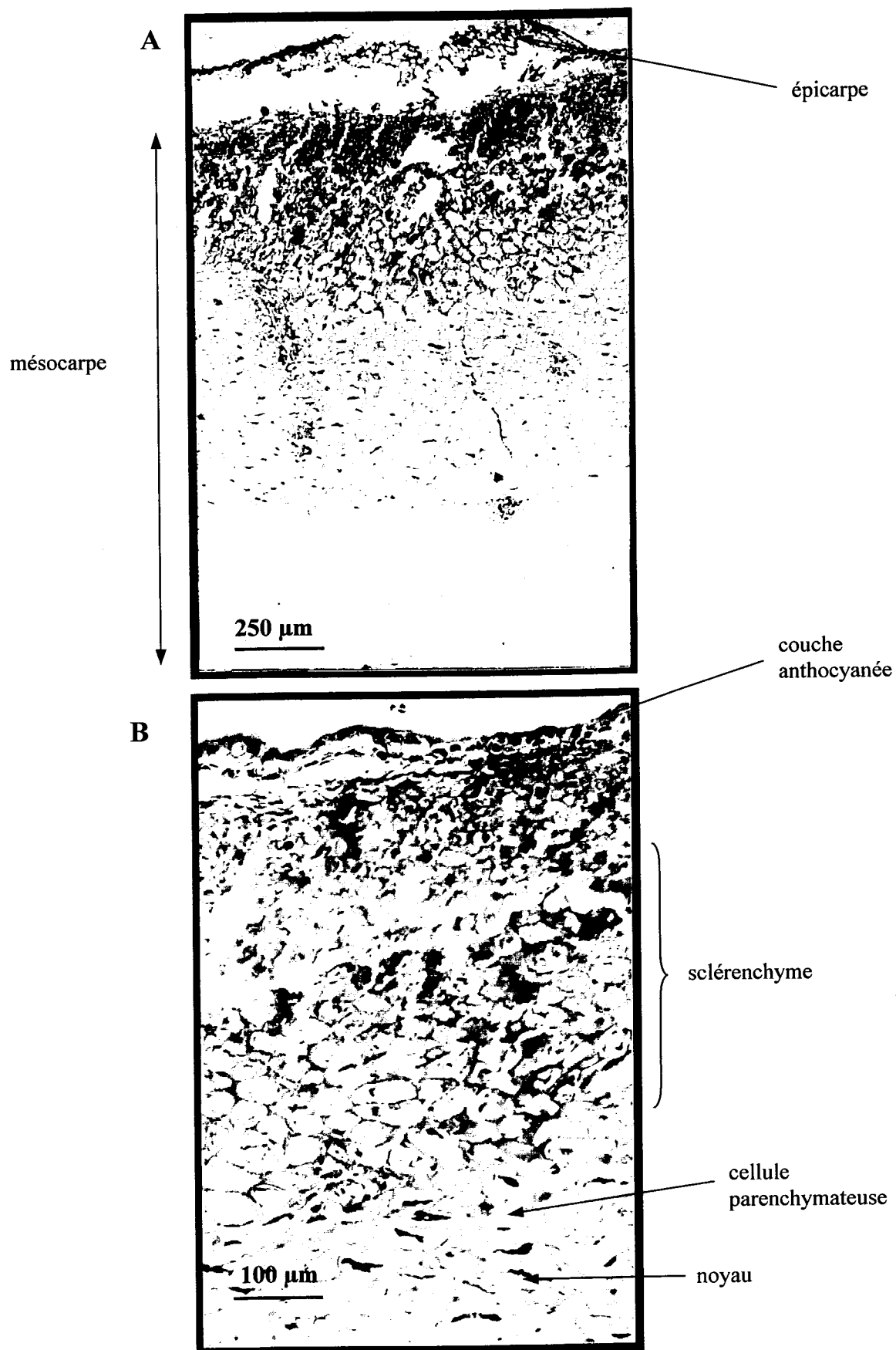
endocarpe

B

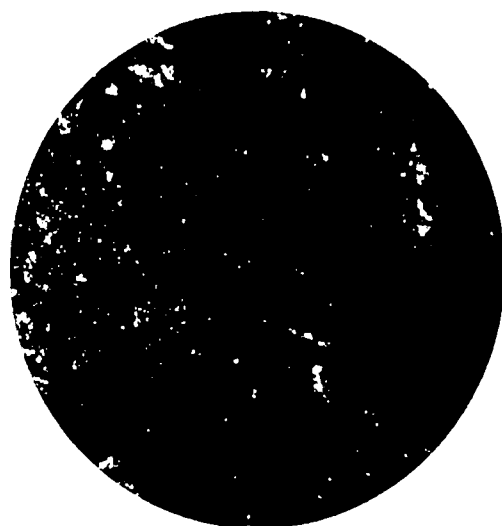


granule d'amidon  
empesé

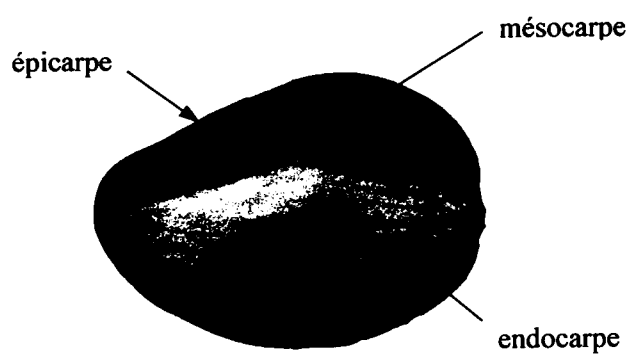
**Photo 17. Vues de l'endocarpe de fruit de la passion étuvé (A) et d'un granule d'amidon empesée (B) après coloration au réactif de Schiff/Naphtol Blue Black (grossissement 145 fois).**



**Photo 18. Vue générale d'une section d'écorce de fruit de la passion flash-détente après coloration au réactif de Schiff/Naphtol Blue Black (A, grossissement 58 fois; B, grossissement 145 fois).**



**Photo 19. Purée flash-détente<sup>®</sup> de mangue (cv. Amélie) avant raffinage.**



**Photo 20. Coupe longitudinale d'une mangue.**

confèrent aux purées des caractéristiques rhéologiques très différentes de celle de purées traditionnelles (cf. § I.3.3., p. 77).

## II. LES PUREES DE MANGUE (*Mangifera indica* L., var. Amélie)

### II.1. PREPARATION DES PUREES

Trois types de purées ont été préparés :

- la *purée «native»* obtenue par raffinage traditionnel du fruit entier,
- la *purée flash-détente*<sup>®</sup> obtenue par le procédé de flash-détente<sup>®</sup> (étuvage à 90 °C à cœur) suivi d'un raffinage traditionnel. La Photo 19 présente la purée flash-détente<sup>®</sup> avant raffinage.
- la *purée (flash-détente*<sup>®</sup> *+ eaux aromatiques)* : la purée flash-détente<sup>®</sup> est additionnée de ses eaux aromatiques à hauteur de 10 % de la masse initiale de fruit.

Cette étude sur une drupe (Photo 20) va nous permettre d'appréhender les effets du procédé de flash-détente<sup>®</sup> sur un fruit dont seul le mésocarpe est consommé. Une attention toute particulière sera portée aux bouleversements rhéologiques mais aussi à l'évolution de la couleur des produits.

#### II.1.1. Rendements

Tableau 33. Rendements<sup>a</sup> en purées.

purée native	purée flash-détente <sup>®</sup>	purée flash-détente <sup>®</sup> + eaux aromatiques
60	59	65
<sup>a</sup> %/masse initiale de fruits.		

En raison de la structure particulière de ce fruit, un raffinage traditionnel précédé ou non d'une détente sous vide conduisent dans les deux cas au broyage quasi total du mésocarpe, et donc à des rendements très proches (Tableau 33). En effet, le mésocarpe, zone parenchymateuse, représente la partie consommable du fruit alors que l'endocarpe, zone

**Tableau 34. Teneurs et composition des M.I.A..**

	purée native	purée flash-détente
M.I.A. <sup>a</sup>	1,9	2,7
polysaccharides solubles <sup>a</sup>	0,5	0,9
acides uroniques <sup>b,c</sup>	22,3	22,5
méthanol <sup>b</sup>	4,3	5,0
polysaccharides neutres non-cellulosiques <sup>b,d</sup>	31,0	35,8
cellulose <sup>b,e</sup>	8,4	7,6
protéines (N x 6,25) <sup>b</sup>	15,6	11,7
acides uroniques <sup>f</sup>	38,8	37,0
rhamnose <sup>f</sup>	1,2	1,2
fucose <sup>f</sup>	1,3	1,4
arabinose <sup>f</sup>	16,8	19,1
xylose <sup>f</sup>	6,8	7,1
mannose <sup>f</sup>	5,0	4,5
galactose <sup>f</sup>	11,0	11,9
glucose non-cellulosique <sup>f</sup>	3,3	4,3
glucose cellulosique <sup>f</sup>	15,8	13,5

<sup>a</sup>%/matière fraîche. <sup>b</sup>%/matière sèche du MIA. <sup>c</sup>Exprimés en équivalent acides anhydrogalacturoniques. <sup>d</sup>Oses neutres obtenus par hydrolyse à l'acide dilué et CPG des acétates d'alditol puis exprimés par la somme des sucres anhydres. <sup>e</sup>Glucose obtenu par différence entre l'hydrolyse Saeman et l'hydrolyse ménagée. <sup>f</sup>Exprimés en pourcentage molaire des constituants monosaccharidiques.

sclérenchymateuse, très fibreuse et fortement lignifiée, et l'épicarpe très ferme, ne sont pas dégradés lors des étapes de détente et de raffinage (Brat *et al.*, 2001b).

Après réintroduction des eaux aromatiques (~ 10 % de la matière fraîche initiale), le rendement augmente logiquement pour atteindre 65 % du poids des fruits traités.

## II.2. CARACTERISTIQUES DES PRODUITS

### II.2.1. Caractéristiques physico-chimiques

L'accroissement des teneurs en matière sèche et extrait sec soluble dans la purée de mangue flash-détente® (Tableau 35) sont principalement corrélés à l'évaporation de ~ 10 % de l'eau de constitution des fruits lors de l'étape de détente sous vide.

**Tableau 35. Caractéristiques physico-chimiques des produits.**

	purée «native»	purée flash-détente®
matière sèche <sup>a</sup>	13,6	15,4
extrait sec soluble (°Brix) <sup>a</sup>	12,2	13,2
pH	4,2	4,1
acidité titrable <sup>b</sup>	53,1	45,1

<sup>a</sup>%/matière fraîche. <sup>b</sup>mg d'acide citrique/100 g.

La diminution de l'acidité titrable est essentiellement due au lessivage de la peau des fruits lors de l'étape d'étuvage du procédé de flash-détente®. En effet, les exsudats obtenus lors du blanchiment des fruits contiennent des acides organiques issus de l'épicarpe du fruit.

### II.2.2. Les constituants polysaccharidiques des produits

Les teneurs et compositions en parois cellulaires (M.I.A.) des purées (Tableau 34) ont été déterminées ; les polysaccharides solubles faiblement liés aux parois ont été extraits à température ambiante à pH 4,0.

La purée flash-détente® présente une teneur en M.I.A. supérieure à celle de la purée «native». De même, la teneur en polysaccharides solubles est, proportionnellement à la teneur en M.I.A., supérieure dans la purée flash-détente® ; exprimée en % de la matière sèche des M.I.A., la teneur en ces polysaccharides solubles est plus élevée dans la purée flash-détente® (33 %) que dans la purée «native» (26 %).

L'accroissement des teneurs en parois cellulaires et en polysaccharides solubles dans la purée flash-détente<sup>®</sup> peut être attribué :

- à un broyage plus intense de la zone parenchymateuse proche de l'épicarpe lors de la détente sous vide, augmentant ainsi la teneur en parois cellulaires du milieu,
- à une diminution de la teneur en eau dans la purée flash-détente<sup>®</sup>,
- à la désorganisation cellulaire occasionnée par la flash-détente<sup>®</sup> permettant une meilleure extractabilité des polysaccharides faiblement liés aux parois.

Le raffinage traditionnel ou le procédé de flash-détente<sup>®</sup> ayant abouti au broyage quasi intégral du mésocarpe, les compositions des parois des deux purées sont très similaires avec des teneurs élevées en polymères d'acides uroniques et en polysaccharides neutres non cellulosiques dont les oses constitutifs sont par ordre décroissant l'arabinose, le galactose, le xylose et le mannose. Les teneurs en cellulose sont similaires, ce qui confirme la non destruction de l'épicarpe lors du procédé.

### **II.2.3. Caractéristiques rhéologiques des produits**

La purée flash-détente<sup>®</sup> (Tableau 36) est plus consistante (4,5/8,5 cm) et beaucoup plus visqueuse (1,1 Pa.s/0,4 Pa.s) que la purée «native». Cette différence ne peut être complètement attribuée à l'évaporation de 10 % de la matière fraîche lors de l'étape de détente sous vide, le produit restant plus visqueux et plus consistant qu'une purée traditionnelle, même après réintroduction des eaux aromatiques en proportion équivalente dans la purée flash-détente<sup>®</sup>.

**Tableau 36. Caractéristiques rhéologiques des produits.**

	purée native	purée flash-détente <sup>®</sup>	purée flash-détente <sup>®</sup> + eaux aromatiques
consistance de Bostwick (cm en 30 s)	8,5	4,5	6,0
viscosité apparente (Pa.s)	0,4	1,1	0,9
seuil d'écoulement (Pa)	5,7	15,9	12,2

Comme déjà observé sur les purées de fruit de la passion (cf. § I.3.3., p. 77), le léger accroissement des teneurs en M.I.A. (2,7 %/1,9%) et en ses polysaccharides solubles (0,9 %/0,5 %) de la purée flash-détente<sup>®</sup> entraîne une augmentation sensible de la consistance et de la viscosité de cette purée par rapport à la purée «native». Cependant, la très nette



augmentation de viscosité de la purée flash-détente<sup>®</sup> ( $\sim \times 2$  / purée «native») doit être aussi corrélée à la désorganisation cellulaire engendrée par le procédé. En effet, cette viscosité fortement accrue ne peut être seulement due à une teneur en M.I.A. légèrement plus élevée ; l'état des parois cellulaires dans les deux produits diffère. La détente entraîne un accroissement de l'espace intercellulaire moyen, voire une séparation des parois, qui peuvent engendrer des caractéristiques rhéologiques bien particulières.

#### II.2.4. La couleur des purées

La purée de mangue obtenue par le procédé de flash-détente<sup>®</sup> est plus claire (valeur L supérieure) et plus jaune (valeur b supérieure) qu'une purée traditionnelle (Tableau 37).

Tableau 37. Caractéristiques chromatiques des produits.

	purée «native»	purée flash-détente <sup>®</sup>
L	50,2	52,2
a	2,1	2,0
b	29,6	35,0

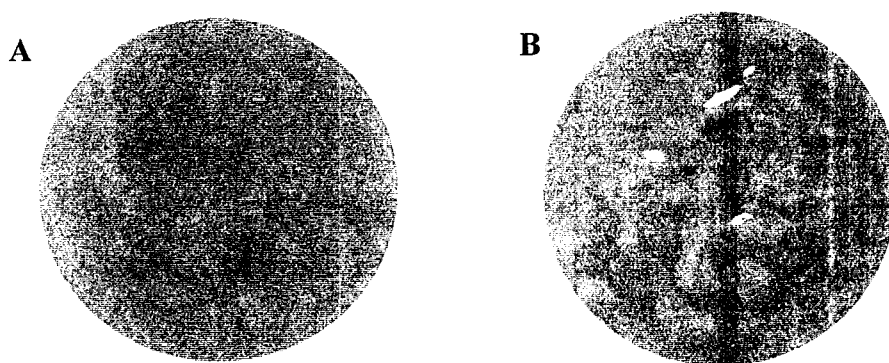


Photo 21. Purées de mangue (var. Amélie) : (A) native, (B) flash-détente<sup>®</sup>.

Ces différences sensibles de couleur (Photo 21) sont principalement attribuées :

- à une *très faible oxydation* due à la faible teneur en oxygène du produit après l'étape de détente. La teneur en oxygène du produit après détente est en effet égale au 1/5<sup>ème</sup> de la

teneur initiale. La détente sous vide d'air permet de désaérer le matériel végétal et donc de diminuer les phénomènes de brunissement oxydatif.

- à l'explosion d'une partie des cellules et à la désorganisation cellulaire engendrées par le procédé autorisant ainsi une meilleure diffusion des composés colorants (caroténoïdes) contenus dans les cellules du fruit.

### III. LES PUREES PECTIQUES DE CITRON [*Citrus limon* (L.) Burm., var. Vernas]

#### III.1. PREPARATION DES JUS ET PUREES

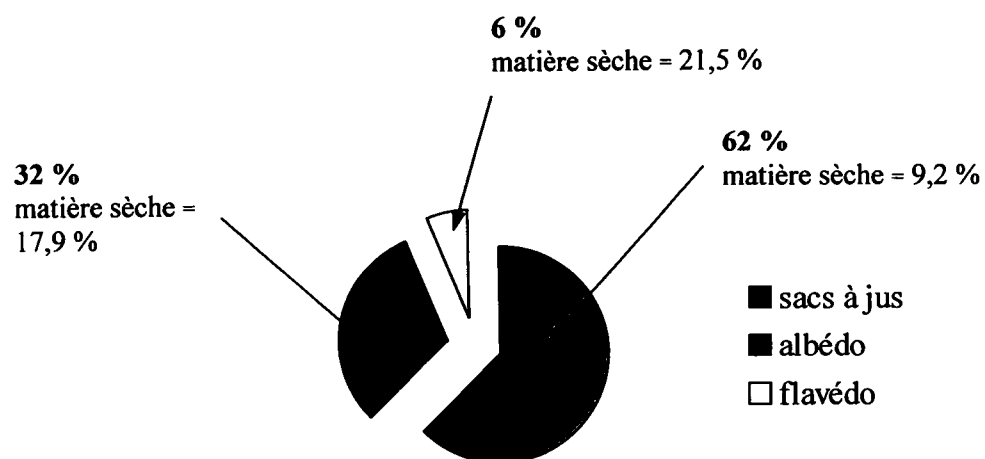
Trois types de produits sont préparés à partir de citrons [*Citrus limon* (L.) Burm.] afin d'intégrer au mieux les différents paramètres du procédé de flash-détente® mais aussi de manière à étudier l'influence de chacune des étapes technologiques sur la qualité du produit final.

Le *jus «natif»*, obtenu par section du fruit en 2 parties puis par fraisage sur presse agrume, nous permet d'obtenir un produit ayant des caractéristiques proches de celles d'un produit traditionnel.

La *purée étuvée* : il s'agit de fruit étuvés puis raffinés. Cette étape permet de scinder les effets spécifiques de la flash-détente®. En effet, ce procédé intégrant une étape d'étuvage puis une étape de détente (introduction sous vide), ce produit intermédiaire nous permettra à posteriori de préciser les effets spécifiques de la détente sous vide.

La *purée flash-détente®* : les fruits après étuvage, sont immédiatement introduits dans la chambre de vide. La purée semi-finie ainsi obtenue est ensuite raffinée.

La *purée (flash-détente® + eaux aromatiques)* : les eaux aromatiques récupérées séparément lors de l'étape de détente sont réintroduites dans la purée flash-détente® à hauteur de 10 % de la masse de fruit traités. Cette formulation nous permet d'évaluer les qualités organoleptiques et rhéologiques d'un produit regroupant toutes les étapes du procédé.



**Figure 62. Répartition massique relative des trois parties d'un citron (var. Vernas).**

### III.2. RENDEMENTS

Le flavedo des citrons (~ 6%/fruit ; Figure 62) a tout d'abord été gratté à l'aide d'une parmentière (peleuse à pomme de terre rotative à disque abrasif) afin d'éviter la contamination des purées par les huiles essentielles (cf. § I.2., p. 4).

Le jus «natif» est exclusivement constitué du jus stocké initialement dans les sacs à jus des segments carpellaires. Le rendement observé (Tableau 38) est d'environ 25 % de la masse initiale des fruits. L'étape d'étuvage consiste à ramollir l'albedo qui sera en partie incorporé au jus lors de l'étape de raffinage. Cette incorporation d'une partie de l'albedo entraîne une augmentation sensible du rendement final atteignant alors 40 %. L'étape de détente sous vide après étuvage entraîne la désintégration quasi totale de l'albedo représentant 32 % de la masse du fruit (Figure 62) qui est alors intégré au jus lors de l'étape de raffinage. Le rendement obtenu, 53 % de la masse des fruits, est plus que doublé par rapport à celui du jus «natif».

**Tableau 38. Rendements<sup>a</sup> en jus et purées.**

jus «natif»	purée étuvée	purée flash-détente <sup>®</sup>
25	40	53

<sup>a</sup>%/masse initiale de fruits.

### III.3. CARACTERISTIQUES DES PRODUITS

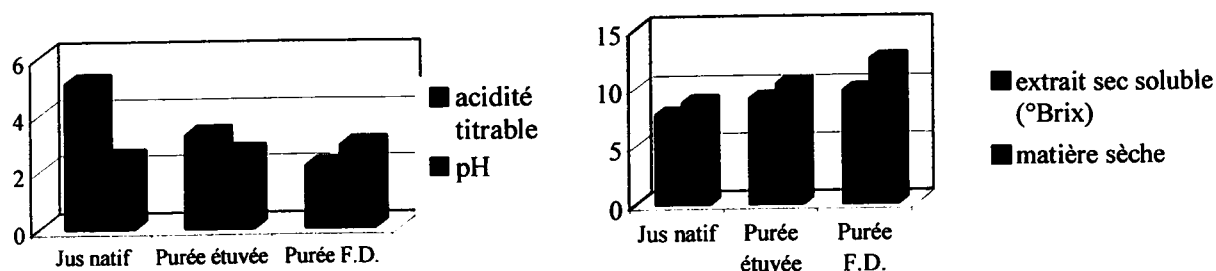
#### III.3.1. Caractéristiques physico-chimiques des produits

L'incorporation d'une partie de l'albedo, résultat des étapes d'étuvage et de détente sous vide, entraîne une augmentation du pH et une diminution de l'acidité titrable dans la purée étuvée par rapport au jus «natif» mais plus encore dans la purée flash-détente<sup>®</sup> (Tableau 39). Cette chute d'acidité est directement corrélée à la baisse de concentration en acide citrique, acide très majoritaire dans les trois produits. De même, on note dans les deux purées une nette augmentation de la matière sèche et de l'extrait sec soluble. L'albedo présente en effet une teneur en matière sèche élevée (21,5 %) et au contraire une très faible teneur en acides organiques. L'incorporation de tout ou partie de cette zone présentant une acidité très inférieure à celle du jus permet donc d'obtenir un produit beaucoup moins acide

**Tableau 39. Caractéristiques physico-chimiques des produits.**

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente
matière sèche <sup>a</sup>	8,7	10,3	12,4
pH	2,46	2,63	2,88
acidité titrable <sup>b</sup>	5,12	3,26	2,14
extrait sec soluble (°Brix)	7,7	9,0	9,7
glucose <sup>a</sup>	0,56	0,81	1,23
fructose <sup>a</sup>	0,62	0,63	0,81
saccharose <sup>a</sup>	0,17	0,21	0,25
acide glutarique <sup>c</sup>	0,085	0,083	0,059
acide malique <sup>c</sup>	0,323	0,247	0,277
acide tartrique <sup>c</sup>	0,039	0,052	0,068
acides oxalique <sup>c</sup> et ascorbique <sup>c</sup>	0,044	0,063	0,083
acide citrique <sup>c</sup>	5,86	3,95	2,84
acide isocitrique <sup>c</sup>	0,035	0,028	0,011

<sup>a</sup>%/matière fraîche. <sup>b</sup>mg d'acide citrique/100g matière fraîche. <sup>c</sup>g d'anion/100 g matière fraîche.



**Figure 63. Caractéristiques physico-chimiques des produits.**

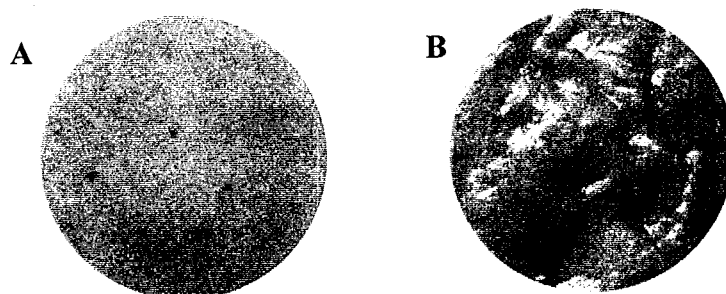
à plus faible teneur en eau. Le comportement de ce fruit dans le procédé est donc similaire au fruit de la passion (cf. Tableau 18, p. 73).

### III.3.2. La couleur des produits

Les indices chromamétriques des produits ont été mesurés à l'aide d'un chromamètre Minolta. Les produits obtenus après étuvage mais surtout après détente sous vide sont plus clairs et plus jaunes (Photo 22). Les couleurs spécifiques des purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> sont directement corrélées à l'augmentation sensible des valeurs L et b (Tableau 40).

**Tableau 40. Caractéristiques chromatiques des produits.**

	jus «natif»	purée étuvée	purée flash-détente <sup>®</sup>
L	45,8	60,0	62,4
a	-4,4	-5,3	-5,4
b	3,8	12,1	14,0



**Photo 22. Jus «natif» (A) et purée flash-détente<sup>®</sup> (B).**

L'évolution de l'intensité colorante de la purée flash-détente<sup>®</sup> peut être expliquée par :

- l'incorporation d'une partie de l'albedo de couleur blanche ayant un indice L élevé,
- une réduction de la teneur en eau (~ 10 %) provoquant l'augmentation de l'intensité colorante (indice b),
- une réduction de la teneur en oxygène dans la purée flash-détente<sup>®</sup> : l'oxygène résiduel est inférieur à 30 % de la teneur initiale évitant ainsi les phénomènes de brunissement oxydatif.

### III.3.3. Les constituants polysaccharidiques des produits

Les polysaccharides pariétaux des trois produits ont été analysés par les mêmes techniques que ceux des purées de fruit de la passion.

**Tableau 41. Teneurs et compositions des M.I.A.**

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente
M.I.A. <sup>a</sup>	0,8	3,1	5,2
acides uroniques <sup>b, c</sup>	31,1	39,4	42,6
polysaccharides neutres non-cellulosiques <sup>b, d</sup>	12,3	12,4	15,0
protéines <sup>b</sup>	13,3	7,0	5,6
cellulose <sup>b, e</sup>	9,7	12,6	14,0
acides uroniques <sup>f</sup>	16,8	48,7	61,3
rhamnose <sup>f</sup>	3,2	2,5	1,7
fucose <sup>f</sup>	1,3	0,2	0,6
arabinose <sup>f</sup>	19,4	11,1	8,8
xylose <sup>f</sup>	4,7	3,7	2,7
mannose <sup>f</sup>	2,7	2,1	1,3
galactose <sup>f</sup>	12,7	7,0	4,6
glucose (non-cellulosique) <sup>f</sup>	3,7	2,5	2,0
glucose cellulosique <sup>f</sup>	35,5	22,3	17,1

<sup>a</sup>%/matière fraîche. <sup>b</sup>%/matière sèche du MIA. <sup>c</sup>Exprimés en équivalent acide anhydro-galacturonique. <sup>d</sup>Oses neutres obtenus par hydrolyse à l'acide dilué et CPG des acétates d'alditol puis exprimés par la somme des sucres anhydres. <sup>e</sup>Glucose obtenu par différence entre l'hydrolyse Saeman et l'hydrolyse ménagée. <sup>f</sup>Exprimés en pourcentage molaire des constituants monosaccharidiques.

### ***Matériels Insolubles dans l'Alcool (M.I.A.)***

Le jus «natif» de citron, étant essentiellement constitué d'une phase liquide, présente, comme attendu, une faible teneur en M.I.A. (Tableau 41). Cette teneur augmente de la purée étuvée ( $\times 4$  /jus «natif») à la purée flash-détente® ( $\times 6,5$ ). Cet accroissement des teneurs en parois cellulaires s'explique par l'incorporation progressive d'une partie de l'albedo lors du raffinage des purées étuvée et flash-détente® : l'étuvage fragilise cette portion du fruit, et plus encore la détente sous vide qui affaiblit considérablement la cohésion cellulaire rendant ainsi possible le passage d'une fraction de l'albedo dans les purées finies.

Le M.I.A. de jus «natif» présente une composition polysaccharidique très classique avec 1/3 de polymères d'acides uroniques (substances pectiques), des polysaccharides neutres non-cellulosiques constitués majoritairement d'arabinose et de galactose, et de la cellulose. On observe que, comme le jus «natif» de fruit de la passion (cf. § I.3.2., p. 74), la teneur en protéines du M.I.A. de jus est élevée, indice de co-précipitation de protéines solubles.

Les M.I.A. des purées étuvée et flash-détente® présentent au contraire des compositions très différentes avec une augmentation des teneurs en acides uroniques, cellulose et polysaccharides neutres non-cellulosiques. Par rapport au M.I.A. du jus, les proportions d'arabinose, de galactose et de glucose cellulosique diminuent fortement au profit des polymères d'acides uroniques. La composition des polysaccharides pariétaux de ces purées reflète l'incorporation des cellules de l'albedo, les parois cellulaires présentant, dans cette partie du fruit, des teneurs élevées en acides uroniques (pectines) et en cellulose (El-Najjar, 1999) ; en effet l'écorce des agrumes est la première source de pectines industrielles.

### ***Les polysaccharides solubles***

Les polysaccharides solubles ont été extraits à l'eau acidifiée par l'acide chlorhydrique (pH 1,5) à ébullition (30 min) et leur composition a été déterminée. Les teneurs et compositions sont indiqués dans le Tableau 42.

Parallèlement à l'accroissement des teneurs en M.I.A., la teneur en polysaccharides solubles augmente du jus «natif», à la purée étuvée, et à la purée flash-détente®. Ces polymères représentent dans les trois cas environ 50 % des M.I.A. L'augmentation de la teneur en polysaccharides solubles est donc uniquement corrélée à l'augmentation de la teneur en M.I.A. Le procédé de flash-détente® entraîne donc un accroissement de la teneur en parois cellulaires mais n'accroît pas la solubilité des polysaccharides pariétaux dans l'eau.



**Tableau 42. Teneurs et compositions des polysaccharides solubles.**

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente
polysaccharides solubles <sup>a</sup>	0,4	1,6	2,5
acides uroniques <sup>b,c</sup>	38,8	67,0	62,8
polysaccharides neutres non-cellulosiques <sup>b,d</sup>	9,2	6,0	6,6
protéines (N x 6,25) <sup>b</sup>	12,2	8,2	7,5
méthanol <sup>b</sup>	4,7 (67) <sup>e</sup>	7,8 (64)	7,3 (64)
acides uroniques <sup>f</sup>	25,9	78,1	76,8
rhamnose <sup>f</sup>	8,2	3,5	3,9
fucose <sup>f</sup>	1,6	0,4	0,2
arabinose <sup>f</sup>	16,1	4,3	2,7
xylose <sup>f</sup>	1,9	0,5	0,5
mannose <sup>f</sup>	2,7	1,0	0,9
galactose <sup>f</sup>	37,9	11,2	13,9
glucose <sup>f</sup>	5,8	1,0	1,1

<sup>a</sup>%/matière fraîche. <sup>b</sup>%/matière sèche des polysaccharides solubles. <sup>c</sup>Exprimés en équivalent acide anhydrogalacturonique. <sup>d</sup>Oses neutres obtenus par hydrolyse à l'acide dilué et CPG des acétates d'alditol puis exprimés par la somme des sucres anhydres. <sup>e</sup>Les valeurs entre parenthèses expriment le degré de méthylestérification des acides uroniques. <sup>f</sup>Exprimés en pourcentage molaire des constituants monosaccharidiques.

Les polysaccharides solubles extraits du jus de citron «natif» présentent des proportions élevées en arabinose et en galactose (Tableau 42) et faibles en acides uroniques. Ces proportions particulières corrélées à une proportion élevée en rhamnose [faible rapport (acide galacturonique/rhamnose) = 3,2] pourraient révéler une forte représentation des zones «hérissées» de substances pectiques (cf. § VII.3., p. 44) portant des chaînes latérales d'arabinanes et/ou d'arabinogalactanes de types I et II.

A l'inverse, les substances pectiques issues des purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> voient leurs teneur et proportion relative en acides uroniques très nettement augmenter tandis que les proportions relatives en arabinose, en galactose et en xylose diminuent. Le rapport (acide galacturonique/rhamnose = ~ 20) est beaucoup plus élevé que dans le cas du jus, ce qui signifie que ces pectines présentent une proportion (zones lisses/zones hérissées) (cf. § VII.3., p. 44) bien supérieure à celui des pectines provenant des carpelles (tissu très majoritaire dans le jus «natif»). Ceci reflète l'incorporation partielle de l'albedo dans le jus : en effet, les pectines d'albedo, qui présentent de bonnes propriétés gélifiantes, sont essentiellement constituées de zones lisses (homogalacturonanes) fortement méthylestérifiées (Ralet et Thibault, 1994 ; El-Najjar, 1999) comme dans le cas des deux purées.

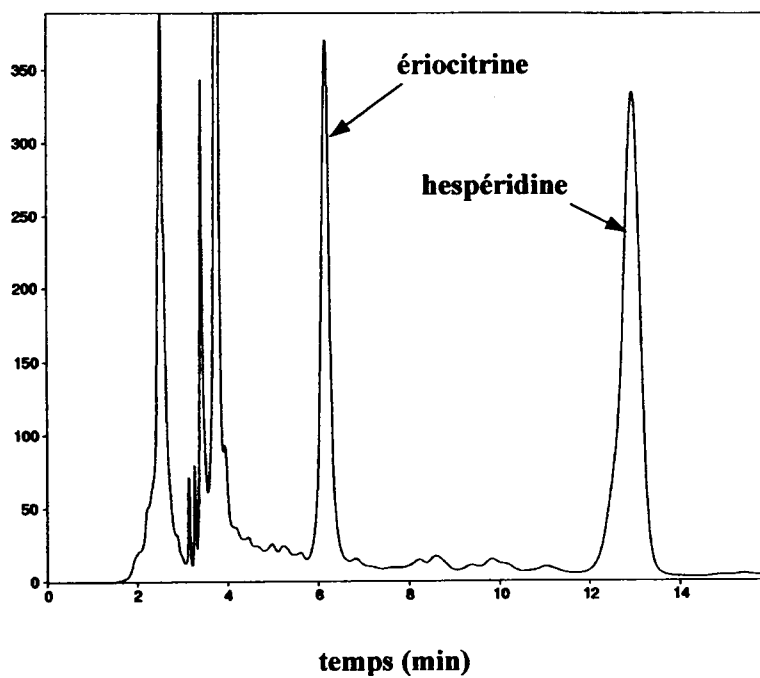
### III.3.4. Caractéristiques rhéologiques des produits

La consistance, mesurée à l'aide d'un consistomètre de Bostwick, n'a été déterminée que sur les purées (Tableau 43). En effet, cette mesure n'est pas applicable aux jus car ceux-ci, n'ayant qu'une très faible teneur en parois cellulaires, n'ont pas de consistance. Les viscosités (Tableau 43) ont été déterminées à l'aide d'un viscosimètre Haake (VT 500). De plus, afin de voir l'effet de la concentration après détente sous vide (~10 %) par comparaison avec la purée étuvée, nous avons aussi mesuré ces paramètres sur la purée flash-détente<sup>®</sup> après réincorporation des eaux aromatiques.

Tableau 43. Caractéristiques rhéologiques des produits.

	jus «natif»	purée étuvée	purée flash-détente <sup>®</sup>	purée flash-détente <sup>®</sup> + eaux aromatiques
consistance (cm en 30 s)	-	5,0	0,5	1,5
viscosité apparente (Pa.s)	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	6,2 ± 0,7	20,8 ± 2,4	15,2 ± 1,5
seuil d'écoulement (Pa)	0,8 ± 0,2	7,8 ± 1,1	42,7 ± 3,7	17,6 ± 2,2

<sup>a</sup> intervalles de confiance déterminés à p < 0,05.



**Figure 64. Chromatogramme C.L.H.P. des flavonoïdes de purée de citron flash-détente.**

**Tableau 44. Teneurs<sup>a</sup> en flavonoïdes des produits.**

	hespéridine	ériocitrine
jus «natif»	0,24	0,25
purée étuvée	1,76	1,21
purée flash-détente <sup>®</sup>	2,22	1,27

<sup>a</sup>(mg/kg de matière humide).

La purée flash-détente<sup>®</sup> présente une consistance, une viscosité apparente et un seuil d'écoulement très nettement supérieurs ceux du jus «natif» mais aussi à ceux de la purée étuvée. En effet, si un simple étuvage permet de ramollir l'albedo des fruits, il ne permet cependant pas une incorporation massive de cette partie du fruit lors de l'étape de raffinage.

Le comportement rhéologique particulier de la purée flash-détente<sup>®</sup> est donc principalement attribuable à une teneur en parois cellulaires (cf. § III.3.3., p. 98) très nettement supérieure à celles du jus «natif» et de la purée simplement étuvée.

### **III.3.5. Les composés amers des produits (flavonoïdes, limonoïdes)**

#### ***Les flavonoïdes***

Les flavonoïdes ont été extraits par le mélange méthanol/diméthylsulfoxyde et analysés par C.L.H.P. (cf. § III.10., p. 55). Les composés ont été identifiés par co-injection de molécules de référence et par analyse comparative des spectres d'absorption.

Les purées de citron étuvée et flash-détente<sup>®</sup> ont incorporé une fraction importante de l'albedo. Cette partie du fruit est relativement riche en flavonoïdes et limonoïdes mais présente cependant des teneurs plus de 100 fois inférieures à celles des pépins (Hasegawa *et al.*, 1980). La non détérioration des pépins tout au long du procédé est essentielle pour conserver au produit une amertume modérée. Notons enfin que, si ces composés sont susceptibles d'apporter une note d'amertume aux produits, ils sont aussi connus pour leur propriétés anti-carcinogènes.

Comme précédemment mentionné par Kawai *et al.* (1999), les deux flavonoïdes très majoritaires dans le citron sont l'hésperidine et l'ériocitrine (Tableau 44, Figure 64). L'hésperidine est un flavonoïde rutinosylé ne présentant pas d'amertume et ne participant donc pas à la saveur des différents produits. La naringine n'a logiquement pas été identifiée dans ces extraits puisqu'il existe une relation connue d'antagonisme entre ces deux composés (Albach et Redman, 1969).

La purée flash-détente<sup>®</sup>, ayant incorporé des quantités plus importantes d'albedo, présente logiquement les teneurs les plus élevées en hésperidine et ériocitrine.

#### ***Les limonoïdes***

L'amertume due à la limonine, limonoïde majeur du citron, n'est pas immédiatement perceptible dans les jus frais. En effet, le fruit consommé frais et intact ne contient pas de limonine amère mais son précurseur immédiat, dépourvu de saveur : la limonoate A-lactone. Cette forme mono-lactone du principe amer est localisée dans les carpelles,

l'albedo et les membranes des segments. Lorsque le jus est extrait, le précurseur non amer est converti progressivement en dilactone amère sous l'effet conjugué de l'acidité de l'environnement et de la chaleur (Rotheval, 1996).

L'intégralité de la limonoate A-lactone est donc convertie en limonine par acidification du mélange jusqu'à pH 2 (Fong *et al.*, 1993) préalablement à l'extraction.

Si la teneur en limonine dans le jus «natif» est principalement due à l'incorporation des carpelles au cours de l'extraction du jus, l'augmentation des teneurs dans les purées étuvée et flash-détente<sup>®</sup> est directement corrélée au taux d'incorporation de l'albedo dans les jus (voir Tableau 38, p. 97) : en effet, la teneur en limonine de l'albedo est égale à ~ **75 mg/kg**. Les deux purées présentent donc une amertume légèrement supérieure à celle du jus «natif» (Tableau 45) qui devra être corrigée lors de l'assemblage sous forme de nectars par addition d'eau et de sucre.

**Tableau 45. Teneurs<sup>a</sup> des produits en limonine.**

	limonine
jus «natif»	11,4
purée étuvée	23,2
purée flash-détente <sup>®</sup>	33,8

<sup>a</sup>(mg/kg de matière fraîche).

### **III.3.6. Les composés volatils des produits**

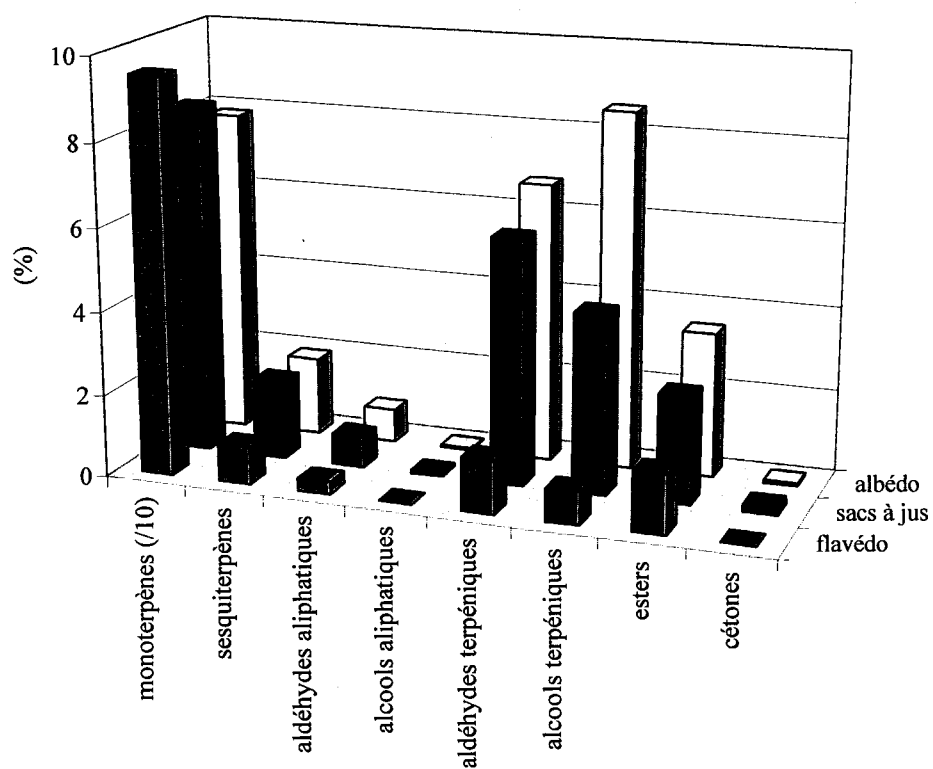
#### ***Analyse préliminaire des différentes parties du fruit***

Les différentes parties du fruit (sacs à jus, albedo, flavedo) ont été séparées par dissection manuelle et analysées afin de juger de l'influence de chacune des étapes du procédé (étuvage, détente sous vide, raffinage) sur les arômes des produits obtenus. Les pourcentages massiques ainsi que les teneurs en matière sèche des trois fractions sont indiquées dans la Figure 62 (p. 97). L'albedo, zone incorporée à des degrés divers à chacune des trois étapes, représente environ le tiers de la masse du fruit et a une teneur en matière sèche double de celle des sacs à jus.

Les extraits ont été obtenus par broyage intense des différentes parties du fruit, addition d'étalon interne (62 µg de butanoate de 2-butyle), puis extraction par le mélange azéotropique pentane/dichlorométhane (2/1, v/v). Les concentrations des composés identifiés sur deux colonnes (polaire DB-1 et apolaire DB-Wax) ainsi que leurs répartitions relatives sont présentées dans le Tableaux 46.

**Tableau 46. Concentrations et pourcentages relatifs des composés d'arôme dans les sacs à jus, l'albedo et le flavedo.**

composés	sacs à jus		albedo		flavedo	
	[c] <sup>a</sup>	%	[c]	%	[c]	%
$\alpha$ -pinène	0,59	1,51	0,98	1,59	499,70	2,15
$\alpha$ -thujène	0,07	0,17	0,20	0,33	122,36	0,53
camphène	0,04	0,11	0,04	0,07	17,11	0,07
hexanal	0,01	0,04	0,09	0,14	1,13	0,00
$\beta$ -pinène	2,64	6,72	5,50	8,91	3065,63	13,20
sabinène	0,09	0,22	0,40	0,65	508,52	2,19
$\Delta$ -3-carène	0,26	0,66	0,13	0,20	2,13	0,01
$\beta$ -myrcène	0,55	1,40	0,79	1,28	353,61	1,52
$\alpha$ -terpinène	0,08	0,21	0,13	0,21	62,83	0,27
limonène	24,40	62,11	33,28	53,93	14768,0	63,61
$\beta$ -phellandrène	0,09	0,24	0,15	0,24	69,02	0,30
(Z)-ocimène	0,09	0,24	0,09	0,14	12,05	0,05
$\gamma$ -terpinène	3,62	9,20	6,19	10,03	2468,25	10,63
(E)-ocimène	0,11	0,29	0,05	0,08	16,51	0,07
p-cymène	0,26	0,66	0,13	0,21	28,49	0,12
$\alpha$ -terpinolène	0,19	0,48	0,30	0,48	118,29	0,51
octanal	0,04	0,11	0,10	0,17	32,95	0,14
hexanol	0,03	0,08	0,03	0,05	0,94	0,00
nonanal	0,13	0,33	0,14	0,22	16,79	0,07
citronellal	0,09	0,23	0,10	0,16	23,07	0,10
decanal	0,11	0,28	0,18	0,29	18,70	0,08
isopinocampone	0,07	0,18	0,04	0,07	0,85	0,00
linalol	0,08	0,20	0,50	0,81	32,03	0,14
cis- $\alpha$ -bergamotène	0,02	0,05	0,07	0,11	5,66	0,02
trans- $\alpha$ -bergamotène	0,41	1,04	0,55	0,90	96,57	0,42
$\beta$ -caryophyllène	0,16	0,40	0,40	0,65	70,70	0,30
terpin-1-èn-4-ol	0,59	1,49	1,98	3,21	19,79	0,09
$\alpha$ -humulène	0,17	0,43	0,12	0,19	5,93	0,03
néral	0,22	0,55	1,37	2,21	103,32	0,45
$\alpha$ -terpinéol	0,71	1,82	1,98	3,20	103,61	0,45



**Figure 65. Répartition relative des différentes classes de composés d'arôme dans les sacs à jus, l'albedo et le flavedo.**

**Tableau 46. Suite.**

valencène	0,00	0,00	0,03	0,05	34,97	0,15
acétate de néryle	0,81	2,07	1,34	2,17	263,74	1,14
géraniol	0,76	1,94	2,51	4,07	169,08	0,73
acétate de géranyle	0,21	0,54	0,82	1,33	69,98	0,30
citronellol	0,06	0,16	0,06	0,10	3,76	0,02
nérol	0,08	0,20	0,27	0,44	9,99	0,04
géraniol	0,18	0,45	0,50	0,80	13,39	0,06
$\beta$ -sinensal	1,26	3,20	0,18	0,29	6,62	0,03
$\alpha$ -sinensal	0,00	0,00	0,00	0,00	0,95	0,004
<b><math>\Sigma</math> concentrations <sup>a</sup></b>	<b>39</b>		<b>62</b>		<b>23217</b>	

<sup>a</sup>mg/kg de matière fraîche.



L'albedo présente des teneurs en hydrocarbures monoterpéniques nettement supérieures à celle des sacs à jus avec, en particulier, des teneurs en limonène,  $\gamma$ -terpinène,  $\beta$ -pinène et  $\alpha$ -pinène atteignant respectivement 33,3, 6,2, 5,5 et 1,0 mg/kg de matière fraîche.

Il contient 2 x plus d'alcools monoterpéniques que les sacs à jus avec respectivement 0,5, 0,3 et 0,06 mg/kg de géraniol, de nérol, et de citronellol. De même, les teneurs en acétate de néryle et de géranyle de l'albedo sont nettement supérieures à celles des sacs à jus avec respectivement 1,3 et 0,8 mg/kg. Les aldéhydes monoterpéniques, néral et géraniol, sont présents dans l'albedo à une concentration supérieure à celle des sacs à jus avec respectivement 1,4 et 2,5 mg/kg. Ces résultats sont aussi présentés par classes de composés (Tableau 47 et Figure 65).

L'albedo présente une concentration totale en composés d'arôme de 62 mg/kg de matière fraîche nettement supérieure à celle du jus (39 mg/kg).

**Tableau 47. Répartition relative (en %) des différentes classes de composés d'arôme dans les sacs à jus, l'albedo et le flavedo.**

	sacs à jus	albedo	flavedo
monoterpènes	84,2	78,4	95,2
sesquiterpènes	1,9	1,9	0,9
aldéhydes aliphatiques	0,8	0,8	0,3
alcools aliphatiques	0,1	0,0	0,0
aldéhydes terpéniques	5,9	6,7	1,3
alcools terpéniques	4,3	8,6	0,8
esters	2,6	3,5	1,4
cétones	0,2	0,1	0,0

La répartition des composés volatils dans le flavedo est typique des huiles essentielles contenues dans cette partie du fruit avec une teneur en limonène égale à 15 g/kg et des teneurs en  $\beta$ -pinène,  $\gamma$ -terpinène et sabinène égales respectivement à 3,1, 2,5 et 0,5 g/kg. Notons aussi les concentrations importantes en acétate de néryle et de géranyle atteignant respectivement 264 et 70 mg/kg.

Le flavedo possède logiquement une très forte teneur en composés d'arôme (23 g/kg) due à la présence de glandes à huiles essentielles dans cette partie du fruit (cf. § VI.3.1., p. 36).

Le flavedo présente enfin les proportions relatives les plus élevées en hydrocarbures monoterpéniques (95 %) (Tableau 46) avec, cependant, une proportion en limonène

relativement faible (64 %) conformément aux compositions moyennes d'huiles essentielles de citron (Weiss, 1997). Les sacs à jus et l'albedo présentent par contre les proportions les plus élevées en hydrocarbures sesquiterpéniques (1,9 %). L'albedo montre les proportions les plus élevées en composés oxygénés avec respectivement 6,7, 8,6 et 3,5 % d'aldéhydes, d'alcools terpéniques et d'esters.

### *Composés volatils des produits*

Les composés volatils du jus «natif» et des purées étuvée et flash-détente® ont été extraits de la même manière que ci-dessus.

Des trois produits, la purée flash-détente® présente les teneurs les plus élevées en hydrocarbures monoterpéniques (Tableau 48) avec, en particulier, 1195, 194 et 162 mg/kg de limonène,  $\gamma$ -terpinène et  $\beta$ -pinène. La purée flash détente® est aussi la plus riche en composés oxygénés avec notamment 54 mg/kg d' $\alpha$ -terpinéol, 38 mg/kg de terpin-1-èn-4-ol et 24 mg/kg de (nérol + géraniol). Il en va de même pour les aldéhydes terpéniques (néral 0,2 mg/kg, géraniol 18 mg/kg), et les esters (acétate de géranyle 7 mg/kg, acétate de néryle 12 mg/kg).

Les proportions relatives en limonène (Tableau 48) augmentent du jus «natif» (54 %) à la purée étuvée (61 %) et à la purée flash-détente® (66 %). Cette évolution est directement corrélée à la teneur élevée en limonène des huiles essentielles contenues dans le flavedo et partiellement incorporées aux produits : en effet, l'étape de grattage du flavedo qui se fait sous courant d'eau (cf. § II.1.3., p. 50) contamine partiellement l'albedo qui joue le rôle d'une éponge et qui sera, lors de l'étape de raffinage, en partie intégré au jus.

Les teneurs en composés volatils dans les trois produits ont été comparées à celles de l'albedo disséqué manuellement et de l'albedo après grattage (Tableau 49). Le grattage du flavedo, préalablement au traitement des fruits par le procédé de flash-détente®, entraîne une pollution de l'albedo qui absorbe alors une partie des huiles essentielles. Les teneurs en composés volatils totaux dans l'albedo augmentent en effet de 62 mg/kg pour l'albedo disséqué à 8,3 g/kg pour l'albedo gratté.

La teneur en composés volatils totaux de la purée flash-détente® est plus de 5 fois supérieure à celles du jus «natif» et de la purée étuvée (1820 mg/kg contre 374 mg/kg et 453 mg/kg). Ces résultats sont aussi présentés par classes de composés (Figure 66).

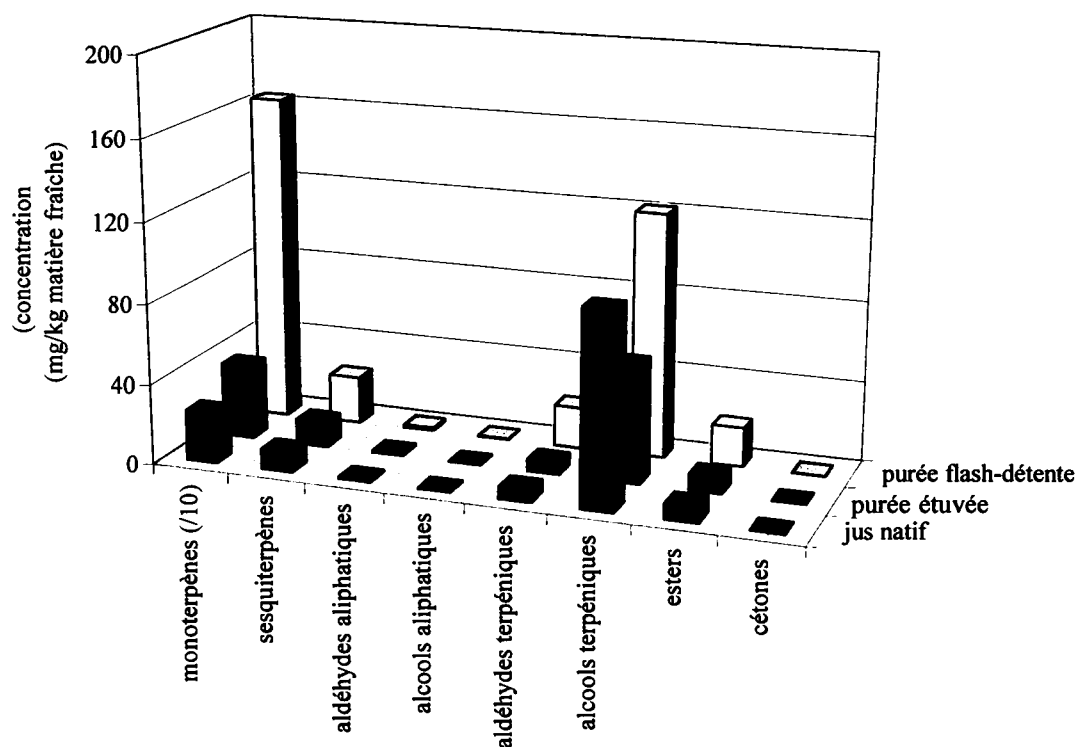
**Tableau 48. Concentrations et pourcentages relatifs des composés d'arôme dans des jus et purées de citron.**

composés	jus natif		purée étuvée		purée flash-détente	
	[c] <sup>a</sup>	%	[c]	%	[c]	%
$\alpha$ -pinène	4,68	1,25	7,49	1,65	33,70	1,85
$\alpha$ -thujène	0,15	0,04	0,31	0,07	2,71	0,15
camphène	0,26	0,07	0,26	0,06	1,14	0,06
hexanal	0,00	0,00	0,02	0,01	0,06	0,00
$\beta$ -pinène	1,99	0,53	27,30	6,02	161,89	8,89
sabinène	0,08	0,02	0,12	0,03	1,85	0,10
$\Delta$ -3-carène	0,19	0,05	0,48	0,11	0,32	0,02
$\beta$ -myrcène	3,68	0,98	5,89	1,30	24,69	1,36
$\alpha$ -terpinène	0,29	0,08	0,10	0,02	0,68	0,04
limonène	200,54	53,61	276,87	61,10	1195,25	65,66
$\beta$ -phellandrène	1,01	0,27	1,11	0,25	5,32	0,29
(Z)-ocimène	0,25	0,07	0,30	0,07	0,69	0,04
$\gamma$ -terpinène	37,21	9,95	41,99	9,27	194,09	10,66
(E)-ocimène	0,09	0,02	0,68	0,15	1,47	0,08
p-cymène	0,95	0,25	1,42	0,31	4,00	0,22
$\alpha$ -terpinolène	1,64	0,44	2,95	0,65	5,67	0,31
octanal	0,03	0,01	0,06	0,01	0,17	0,01
hexanol	0,13	0,03	0,11	0,03	0,14	0,01
nonanal	0,41	0,11	0,37	0,08	0,54	0,03
citronellal	0,18	0,05	0,06	0,01	0,35	0,02
decanal	0,35	0,09	0,31	0,07	0,67	0,04
isopinocampone	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00
linalol	2,23	0,60	1,67	0,37	3,11	0,17
cis- $\alpha$ -bergamotène	0,76	0,20	0,17	0,04	0,52	0,03
trans- $\alpha$ -bergamotène	6,18	1,65	6,14	1,35	15,87	0,87
$\beta$ -caryophyllène	1,53	0,41	2,11	0,47	4,12	0,23
terpin-1-èn-4-ol	12,66	3,38	13,29	2,93	37,96	2,09
$\alpha$ -humulène	0,67	0,18	1,64	0,36	0,78	0,04
néral	0,10	0,03	0,11	0,02	0,17	0,01
$\alpha$ -terpinéol	68,77	18,38	29,92	6,60	54,38	2,99

**Tableau 48. Suite.**

valencène	0,64	0,17	2,05	0,45	1,46	0,08
acétate de néryle	4,63	1,24	5,93	1,31	12,14	0,67
géraniol	5,34	1,43	5,46	1,20	17,74	0,97
$\delta$ -cadinène	0,33	0,09	0,57	0,13	0,49	0,03
acétate de géranyle	3,09	0,83	2,10	0,46	7,51	0,41
citronellol	0,50	0,13	0,92	0,20	1,46	0,08
nérol	3,89	1,04	5,01	1,11	9,24	0,51
géraniol	8,48	2,27	7,56	1,67	15,29	0,84
$\beta$ -sinensal	0,10	0,03	0,28	0,06	0,59	0,03
$\alpha$ -sinensal	0,09	0,02	0,02	0,00	1,99	0,11
<b><math>\Sigma</math> concentrations<sup>a</sup></b>	<b>374</b>		<b>453</b>		<b>1820</b>	

<sup>a</sup>mg/kg de matière fraîche.



**Figure 66. Concentration en différentes classes de composés d'arôme dans les jus et purées de citron.**

**Tableau 49. Concentrations<sup>a</sup> en différentes classes de composés d'arôme dans des jus et purées de citron.**

	jus natif	purée étuvée	purée flash-détente	albedo	albedo gratté
monoterpènes	253,0	367,1	1633,1	49,2	7809,2
sesquiterpènes	10,1	12,7	23,2	1,2	49,0
aldéhydes aliphatiques	0,8	0,8	1,4	0,6	22,3
alcools aliphatiques	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
aldéhydes terpéniques	5,8	5,9	20,8	4,1	224,8
alcools terpéniques	96,5	58,4	121,4	4,8	91,7
esters	7,7	8,0	19,7	2,2	93,1
cétones	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2
<b>Σ concentrations</b>	<b>374</b>	<b>453</b>	<b>1820</b>	<b>62</b>	<b>8292</b>

<sup>a</sup>mg/kg de matière fraîche.

Ces teneurs élevées en composés volatils oxygénés confèrent à la purée flash-détente® un potentiel aromatique bien supérieur à celui d'un produit traditionnel et autorisera donc un ratio de dilution plus élevé. Par ailleurs, la teneur maximum en limonène conseillée pour un produit de type boisson se situe autour de 0,1 % (Shaw et Nagy, 1993a) alors qu'elle atteint 0,18 % pour la purée flash-détente®. Cette purée nécessitera donc au minimum une dilution au ½ afin d'obtenir la teneur en limonène désirée.

### **III.3.7. Approche sensorielle**

Les purées ont une couleur jaune vif très agréable ainsi qu'une viscosité élevée. Les trois produits ont été dilués respectivement 2 et 3 fois avec de l'eau aux mêmes degré Brix que ceux du jus ou des purées. Les produits ont été dégustés. Il apparaît alors que la purée flash-détente® diluée 3 fois ne présente qu'une très faible amertume masquée de plus par la teneur en sucre du produit. Même après dilution, la viscosité et la teneur en pulpe de ce produit sont encore supérieures à celles du jus «natif» (Brat *et al.*, 2001c). La teneur élevée en pectines solubles dans le milieu permet d'obtenir un jus trouble avec une cinétique de déphasage extrêmement lente.

L'acidité de ce produit est très faible en raison du double effet de l'incorporation de l'albedo, dont l'acidité est très inférieure à celle du jus, et de la dilution avec de l'eau sucrée.

Même après dilution au 1/3, la purée flash-détente® présente des arômes puissants, typiques de l'arôme citron sans aucune note de cuit.

## **IV. LES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES,**

### **IV.1. TENEUR EN HUILES ESSENTIELLES DES ECORCES D'AGRUMES**

Afin de déterminer la teneur en huiles essentielles dans les écorces de citrons [*Citrus limon* (L.) Burm, var. Primaflori], d'oranges douces [*Citrus sinensis* (L.) Osb, var. Naveline], de mandarines (*Citrus reticulata* Blanco, var. Villalate) et de pomelos rosés (*Citrus Paradisi* Macfayden, var. Ruby Red), deux techniques d'extraction ont été comparées :

**Tableau 51. Teneurs et rendements<sup>a</sup> en huiles essentielles obtenues par le procédé de flash-détente<sup>®</sup>.**

	citron	orange douce	mandarine	pomelo rosé
écorces natives (1)	<b>5,51</b>	<b>4,96</b>	<b>1,91</b>	<b>2,70</b>
écorces après flash-détente <sup>®</sup> (2)	1,89	3,09	0,98	1,85
différence (1) – (2)	3,62	1,87	0,93	0,85
rendement théorique (%)	66	38	49	31
huiles essentielles récupérées (3)	<b>2,41</b>	<b>1,43</b>	<b>0,64</b>	<b>0,73</b>
rendement efficace (%)	44	29	33	27

<sup>a</sup>(kg/tonne de fruit).

- l'hydrodistillation sur appareil Clevenger (cf. § III.24., p. 64) ; l'extraction est menée pendant 3 h sur 200 g d'écorces broyées dans 500 ml d'eau,
- l'extraction liquide-liquide par le mélange de solvant pentane/dichlorométhane (2/1, v/v) avec addition préalable de *n*-hexanol comme étalon interne.

**Tableau 50. Teneurs<sup>a</sup> en huiles essentielles des écorces d'agrumes.**

	hydrodistillation	extraction liquide/liquide
citron	5,4	5,51
orange douce	5,0	4,96
mandarine	1,9	1,91
pomelo rosé	2,7	2,70

<sup>a</sup>(kg/tonne de fruit).

Les teneurs en huiles essentielles obtenues par la technique d'extraction liquide-liquide sont très proches des valeurs de référence obtenues avec la technique d'hydrodistillation (Tableau 50). Cette technique d'extraction par solvant à froid a donc été choisie pour mener ces études. Elle permet en effet de déterminer précisément les teneurs en huiles essentielles dans des écorces d'agrumes tout en évitant les phénomènes de dégradation thermique intervenant lors de l'hydrodistillation (Weiss, 1997).

#### IV.2. EXTRACTION DES HUILES PAR LE PROCEDE DE FLASH-DETENTE<sup>®</sup>

Les teneurs en huiles essentielles des écorces «natives» (1) et des écorces traitées par le procédé de flash-détente<sup>®</sup> (2) ont été déterminées (Tableau 51). La différence de teneurs entre ces deux produits donne la quantité d'huiles essentielles potentiellement récupérables par ce procédé ; on peut donc calculer un rendement théorique comme le ratio de cette quantité potentielle et la teneur en huiles des écorces de départ. Ces quantités potentiellement récupérables ont été comparées aux quantités d'huiles effectivement récupérées par condensation sur le pilote de flash-détente<sup>®</sup> (3) ; le rendement efficace exprime le pourcentage d'huiles effectivement récupérées à partir des écorces natives.

Les teneurs en huiles essentielles potentiellement récupérables (Tableau 51) varient respectivement de 0,85 à 3,62 kg/tonne de pomelo et de citron. Les rendements théoriques les plus élevés sont obtenus sur les écorces de citron et de mandarine (respectivement 66 et 49 %) alors qu'ils sont beaucoup plus faibles sur l'orange et sur le pomelo (respectivement 38 et 31 %). La répartition spécifique des glandes à huiles essentielles dans les écorces



d'oranges et des pomelos pourrait expliquer ces variations. Ces glandes sont en effet plus profondément incrustées dans la partie interne du flavedo mais aussi en partie sur la face externe de l'albedo, et seraient donc moins sensibles à l'effet de détente sous vide.

Les quantités effectivement récupérées varient de 2,41 à 0,64 kg/tonne de citron et de mandarine. Ces valeurs représentent 70 à 87 % des quantités d'huiles potentiellement récupérables prouvant par là même l'efficacité du système de condensation du pilote de flash-détente<sup>®</sup>. Les quantités d'huiles recueillies par le procédé de flash-détente<sup>®</sup> sont proches des valeurs maximales obtenues par le procédé F.M.C. (Food Machinery Corporation, U.S.A.) pour les citrons, les oranges et les pomelos, respectivement 3, 1,5 et 1 kg/tonne de fruits (Riverbend S.A., communication personnelle).

Les rendements efficaces varient donc de 27 % pour les écorces de pomelos à 44 % pour les écorces de citron. Ces données mettent en évidence l'applicabilité du procédé de flash-détente<sup>®</sup> à la récupération d'huiles essentielles à partir d'écorces d'agrumes.

### IV.3. COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES D'AGRUMES

#### IV.3.1. Influence de l'étape d'étuvage

Une étude préliminaire a été effectuée en comparant la répartition relative des composés volatils dans les écorces «natives» puis à la sortie de la chambre d'étuvage. Des quantités et des répartitions relatives identiques aux écorces natives ont été observées dans les écorces étuvées. Le traitement thermique de courte durée appliqué lors du procédé de flash-détente<sup>®</sup> n'entraîne donc pas de changement, ni de perte de composés volatils.

#### IV.3.2. Comparaison préliminaire des huiles essentielles d'agrumes

Les répartitions relatives des différents composés volatils est présentée Tableau 52. Les quatre huiles essentielles extraites par le procédé de flash-détente<sup>®</sup> présentent un net enrichissement en limonène, hydrocarbure monoterpénique majeur dans les écorces d'agrumes, par rapport aux huiles des écorces natives.

Cette tendance est particulièrement marquée dans l'huile essentielle de citron dans laquelle la teneur en limonène atteint ~ 70 % contre 66 % dans les écorces natives. Un comportement similaire a pu être observé pour le  $\beta$ -pinène tandis que les autres monoterpènes présentent des proportions relatives plus ou moins similaires.

Au contraire, la plupart des sesquiterpènes comme les *cis* et *trans*- $\alpha$ -bergamotène, le (*E*)- $\beta$ -caryophyllène, l' $\alpha$ -humulène, le (*Z*)- $\beta$ -farnésène, le valencène, le  $\beta$ -bisabolène et le

$\delta$ -cadinène voient leurs proportions généralement diminuer dans les huiles essentielles extraites par le procédé de flash-détente®.

L'enrichissement en limonène dans les huiles essentielles obtenues par flash-détente® est corrélée avec une diminution sensible en alcools et en aldéhydes monoterpéniques ainsi qu'en esters monoterpéniques. Seuls, parmi les composés oxygénés, certains aldéhydes aliphatiques comme le nonanal et le décanal présentent des proportions relatives plus faibles dans les écorces natives (Tableau 52).

#### **IV.3.3. Huiles essentielles de citron [*Citrus limon* (L.) Burm. var. *Primaflori*]**

Les composés volatils de l'huile d'écorces natives de citron présentent une distribution relative proche de celle des écorces de citrons italiens (Dugo, 1994) avec une teneur en limonène relativement faible (65 %) et des teneurs en  $\beta$ -pinène, en  $\gamma$ -terpinène, en  $\beta$ -myrcène et en  $\alpha$ -pinène égales respectivement à 9,0 %, 8,0 %, 1,5 et 1,5 % (Tableau 52). Les deux aldéhydes monoterpéniques majeurs, le néral et le géraniol, sont présents à des pourcentages élevés (respectivement 1,1 et 2,9 %) tout comme les deux alcools monoterpéniques correspondants, le nérol et le géraniol, qui ont des proportions relatives très nettement supérieures aux teneurs révélées dans les huiles essentielles d'agrumes américains ou méditerranéens (Dugo, 1994; Boelens, 1991).

L'huile essentielle de citron extraite par le procédé de flash-détente® présente des teneurs plus élevées en hydrocarbures monoterpéniques (limonène,  $\beta$ -pinène,  $\gamma$ -terpinène, sabinène,  $\alpha$ -pinène et  $\beta$ -myrcène) que l'huile «native». Au contraire, les alcools monoterpéniques (linalol,  $\alpha$ -terpinéol,  $\beta$ -citronellol, nérol et géraniol) et les esters subissent après détente une diminution très nette de leurs proportions relatives. De même et dans une moindre mesure, les aldéhydes monoterpéniques (citronellal, néral et géraniol) sont présents en plus faibles proportions (1,5 à 2 x moins). Les aldéhydes aliphatiques (nonanal, décanal) ne connaissent au contraire aucun changement dans leurs répartitions relatives.

#### **IV.3.4. Huiles essentielles d'orange douce [*Citrus sinensis* (L.) Osb. var. *Naveline*]**

L'huile essentielle d'écorces d'orange douce «natives» présente, comme précédemment mentionné (Boelens, 1994), des teneurs très élevées en hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques (> 98 %). De même, les aldéhydes et les alcools, mono- et sesquiterpéniques (néral, géraniol, citronellal, nérol, géraniol,  $\alpha$ - et  $\beta$ -sinensal) présentent une répartition relative traditionnelle avec notamment 0,13 % de géraniol (Weiss, 1997).

**Tableau 52. Pourcentages relatifs des composés volatils d'huiles essentielles d'écorces de citron, d'orange douce, de mandarine et de pomelo.**

composés	citron		orange douce		mandarine		pomelo	
	A <sup>a</sup>	B <sup>b</sup>	A	B	A	B	A	B
$\alpha$ -pinène	1,53	1,63	0,50	0,50	0,51	0,18	0,48	0,49
$\alpha$ -thujène	0,33	0,41	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	nd <sup>c</sup>
camphène	0,05	0,05	0,01	0,01	nd	nd	0,01	nd
hexanal	nd	nd	0,04	nd	0,01	nd	0,05	nd
$\beta$ -pinène	8,97	10,77	0,02	0,04	0,06	0,18	0,03	0,06
sabinène	1,52	1,78	0,35	0,46	1,13	0,28	0,28	0,30
$\Delta$ -3-carène	nd	nd	0,64	0,44	nd	nd	nd	nd
$\beta$ -myrcène	1,45	1,68	1,91	2,00	1,76	1,50	1,79	1,91
$\alpha$ -terpinène	0,17	0,22	nd	nd	nd	nd	nd	nd
limonène	66,23	70,30	94,41	95,32	94,59	95,70	94,55	95,27
$\beta$ -phellandréne	0,28	0,28	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1,8-cinéole	0,02	0,02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
(E)-hex-2-énal	0,01	nd	0,02	nd	0,03	nd	0,06	nd
(Z)-ocimène	0,06	0,05	0,01	nd	0,01	0,01	0,01	0,01
$\gamma$ -terpinène	8,07	8,85	0,01	0,02	0,01	0,24	0,05	0,05
(E)-ocimène	0,09	0,02	0,03	0,03	0,07	0,05	0,08	0,16
p-cymène	0,07	0,09	nd	nd	nd	0,01	0,01	0,01
$\alpha$ -terpinolène	0,38	0,39	0,13	0,08	0,04	0,03	0,02	0,01
octanal	0,02	0,05	0,10	0,15	0,05	0,05	0,17	0,35
nonanal	0,07	0,07	0,02	0,03	0,01	0,01	0,04	0,05
(Z)-hydrate de sabinène	0,07	0,01	0,02	nd	0,01	nd	nd	nd
citronellal	0,10	0,07	0,06	0,04	0,07	0,10	0,08	0,06
décanal	0,04	0,03	0,15	0,16	0,18	0,46	0,31	0,18
isopinocampone	0,01	nd	0,02	0,02	0,04	0,07	0,09	0,11
p-menth-2-ènone	0,12	0,09	nd	nd	nd	nd	0,01	nd
linalol	0,26	nd	0,38	0,18	0,35	0,09	0,12	0,05
cis- $\alpha$ -bergamotène	0,08	0,01	0,07	0,02	0,05	0,03	0,10	0,15
trans- $\alpha$ -bergamotène	0,52	0,24	0,02	0,01	0,03	0,18	0,04	nd
(E)- $\beta$ -caryophyllène	0,33	0,15	0,04	0,05	0,10	0,09	0,30	0,38
terpinèn-4-ol	0,13	0,02	nd	0,01	0,01	nd	nd	nd

**Tableau 52. Suite.**

$\beta$ -santalol	0,02	0,01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\alpha$ -humulène	0,03	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,05	0,04
acétate de citronellyle	0,03	0,02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
(Z)- $\beta$ -farnésène	0,11	0,02	0,01	nd	nd	nd	0,03	0,04
néral	1,13	0,58	0,05	0,05	nd	nd	0,05	0,03
dodécanal	0,03	0,01	0,04	0,02	0,08	0,06	0,08	0,02
$\alpha$ -terpineol	0,63	0,10	0,07	0,03	0,09	0,01	0,07	0,02
valencène	0,09	0,04	0,39	0,12	nd	nd	0,02	nd
$\beta$ -bisabolène	0,48	nd	nd	nd	0,04	0,23	0,05	nd
acétate de néryle	0,16	nd	0,01	0,01	nd	nd	0,05	0,03
géraniol	2,90	1,66	0,13	0,09	nd	nd	0,15	0,04
$\delta$ -cadinène	nd	nd	0,05	0,03	0,11	0,15	0,17	nd
acétate de géranyle	0,32	0,14	0,02	0,01	nd	nd	0,07	0,05
$\beta$ -citronellol	0,19	0,01	0,04	nd	0,05	0,02	0,03	0,02
nérol	1,07	0,02	0,05	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01
géraniol	1,70	0,02	0,07	0,01	0,02	0,02	0,05	0,02
(E)-nérolidol	0,03	0,01	0,01	nd	0,02	0,02	0,02	0,01
$\gamma$ -eudesmol	0,03	0,01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\alpha$ -bisabolol	0,05	0,01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\beta$ -sinensal	nd	nd	0,01	0,02	0,11	0,04	0,04	0,01
$\alpha$ -sinensal	nd	nd	0,01	nd	0,33	0,16	0,05	nd
nootkatone	0,01	0,05	0,05	0,02	nd	nd	0,33	0,05

<sup>a</sup>A = huiles essentielles d'écorces natives. <sup>b</sup>B = huiles essentielles obtenues par le procédé de flash-détente®.

<sup>c</sup>nd = non détecté.

Notons cependant que le valencène, hydrocarbure sesquiterpénique majoritaire, a une teneur de 0,4 % alors qu'il n'est présent qu'à 0,12 % dans les huiles essentielles "Fresh oil peels" d'orange italienne (Dugo, 1994).

L'huile essentielle extraite par le procédé de flash-détente® présente une nette diminution en alcools monoterpéniques par rapport à l'huile «native» tandis que les aldéhydes monoterpéniques voient leurs proportions inchangées. De même, les esters, acétates de géranyle et de néryle, restent relativement stables avec cependant des teneurs très faibles.

#### **IV.3.5. Huiles essentielles de mandarine [*Citrus reticulata* Blanco, var. Villalate]**

La répartition des composés volatils dans l'huile essentielle «native» de mandarine est typique du groupe *Citrus reticulata* Blanco (Lota *et al.*, 2000). En effet, les trois hydrocarbures monoterpéniques majeurs, le limonène, le  $\beta$ -myrcène et le sabinène, présentent des teneurs égales respectivement à 95, 2 et 1 % et à l'inverse le  $\gamma$ -terpinène est très faiblement représenté (0,01 %).

Notons aussi, que les aldéhydes monoterpéniques (géraniol, néral) et les esters (acétates de géranyle et de néryle) ne sont pas détectés dans cette huile essentielle de mandarine.

A nouveau, l'huile essentielle extraite par le procédé de flash-détente® est nettement appauvrie en alcools monoterpéniques (linalol,  $\alpha$ -terpinéol,  $\beta$ -citronellol et nérol). Notons que l' $\alpha$ -terpinéol est un composé classé comme ayant un «effet négatif» sur la qualité organoleptique des huiles (Lund et Bryan, 1978) et que sa diminution, voire son absence, peut avoir un effet bénéfique sur la qualité du produit final. Enfin, le décanal semble avoir un comportement particulier puisque, contrairement à la majorité des autres aldéhydes ( $\alpha$ - et  $\beta$ -sinensal), sa concentration est multipliée par 4 dans l'huile extraite par le procédé de flash-détente®.

#### **IV.3.6. Huiles essentielles de pomelos rosés [*Citrus paradisi* Macfayden, var. Ruby Red]**

Comme précédemment mentionné par Coleman *et al.* (1972) ou Boelens (1991), l'huile native de pomelo présente des teneurs très élevées en limonène (95 %) mais aussi dans une moindre mesure en  $\beta$ -myrcène (1,8 %).

Après détente, les concentrations des deux alcools monoterpéniques majeurs, le linalol et l' $\alpha$ -terpinéol, tout comme celles des autres alcools monoterpéniques ( $\beta$ -citronellol, nérol et géraniol) sont à nouveau très nettement diminuées (/ 2).

Enfin, la nootkatone, cétone sesquiterpénique identifiée comme typique de l'arôme pomelo (Sawamura et Kurimaya, 1988), voit sa concentration diminuer de 0,3 % dans l'huile native à 0,05 % dans l'huile obtenue par le procédé de flash-détente®.

---

## ***Conclusion et Perspectives***

Le procédé de flash détente<sup>®</sup> sous vide, mis en oeuvre depuis environ deux décennies dans le secteur vinicole pour le prétraitement des raisins avant mise en fermentation, a été appliqué à deux fruits d'origine tropicale, le fruit de la passion et la mangue, et à un fruit d'origine méditerranéenne, le citron. L'objectif de notre recherche était d'analyser l'intérêt du procédé pour la préparation de nouveaux produits à base de fruits (purées et, après dilution, nectars) et pour la récupération d'huiles essentielles à partir de sous-produits d'agrumes (écorces).

L'analyse des bilans massique et thermodynamique réalisée pour le fruit de la passion montre que, dans le procédé qui inclut deux étapes, chauffage à la vapeur d'eau à pression atmosphérique et détente sous vide poussé, la **transformation est quasi-adiabatique** tandis que le volume d'eau évaporé dans des conditions standards de température (85-90 °C) et de pression (30-50 mBar) s'établit autour de 10 % de la masse de fruits traités.

Les caractéristiques rhéologiques et physico-chimiques des purées obtenues par le procédé de flash détente<sup>®</sup> sont particulières par rapport à celles de produits traditionnels.

Dans les cas **du fruit de la passion et du citron**, seule la partie interne du fruit de texture juteuse est consommée (arille pour le fruit de la passion, sacs à jus pour le citron) : dans les deux cas, les jus sont acides et ne présentent pas de consistance et une faible viscosité. Pour ces deux fruits, les purées flash détente<sup>®</sup> obtenues présentent certaines similitudes :

- les purées flash détente<sup>®</sup> sont très consistantes et visqueuses, non seulement bien sûr en comparaison avec les jus, mais aussi avec les purées obtenues par un simple étuvage. L'étape de détente sous vide exerce un effet spécifique s'additionnant à l'effet de l'étuvage préliminaire : le chauffage des fruits provoque un ramollissement, une fragilisation du réseau pariétal, alors que la détente induit la formation de micro-canaux intercellulaires et un accroissement, une expansion générale de l'espace intercellulaire au niveau de la lamelle moyenne. Dans les deux cas, une fraction de l'enveloppe externe du fruit (écorce = mésocarpe) est introduite dans les jus entraînant ainsi une forte augmentation des teneurs en parois cellulaires dans les produits, et donc un accroissement très net de la consistance et de la viscosité. Les observations faites sur la mangue, fruit pulpeux «dépourvu» de jus, nous aident dans cette interprétation : en effet, contrairement aux deux autres fruits, l'intégralité du mésocarpe est consommée. Il s'ensuit que les rendements en purées «native» et flash détente<sup>®</sup> sont très proches. Par conséquent,



l'accroissement de consistance et de viscosité de la purée flash détente®/purée native ne peut être attribué, comme pour les deux autres fruits, à une teneur en parois cellulaires plus élevée puisque ce sont les mêmes tissus qui constituent les deux purées ; les consistance et viscosité de la purée flash détente® résulteraient, comme mentionné plus haut, d'un accroissement, d'une expansion générale de l'espace intercellulaire au niveau de la lamelle moyenne. Revenant aux deux autres fruits, les substances pectiques solubles voient leur teneur augmenter dans les purées parallèlement à la teneur en parois. Le taux de pectines solubles/parois dans les purées flash détente® reste similaire à celui observé dans les purées étuvées : l'étape de détente du procédé n'accroît pas spécifiquement la solubilité dans l'eau des pectines par rapport au simple étuvage. Cet ensemble d'observations justifie que, par exemple, dans les purées pectiques d'agrumes obtenues par flash détente®, même après dilution pour formulation en nectars, le trouble aura une cinétique de déphasage beaucoup plus longue que dans un jus traditionnel.

- les purées flash détente® de fruit de la passion et de citron sont nettement moins acides que les jus correspondants : dans les deux cas, l'incorporation d'une fraction de l'enveloppe externe, moins acide que la partie consommée, explique ce résultat. Le frein à la consommation en jus purs de fruit de la passion et de citron résidant dans leur très forte acidité, ces nouveaux produits après formulation pourraient constituer de nouveaux débouchés pour ces fruits.

Globalement, les purées flash détente® de fruit de la passion et de citron sont plus claires et ont des colorations plus intenses que les produits traditionnels : une fois encore, l'incorporation d'une partie de l'enveloppe externe dans les purées flash détente® a pour résultat d'intégrer, pour le fruit de la passion des anthocyanes, et pour le citron de l'albedo blanchâtre, avec en contrepartie, pour le citron, une plus forte proportion de principes amers.

Le procédé de flash-détente® a enfin été appliqué à des écorces d'agrumes, produites massivement par l'industrie des jus, pour l'extraction d'huiles essentielles. Les rendements d'extraction de ces huiles varient selon l'agrumes considéré et sont similaires voire supérieurs à ceux obtenus par les procédés traditionnels. En comparaison à des huiles essentielles fraîchement pressées («cold pressed»), ces huiles présentent des proportions relatives plus élevées en hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques et à l'inverse des proportions plus faibles en composés oxygénés.

L'ensemble de ces résultats montre la multi-fonctionnalité du procédé de flash détente® pour la transformation des fruits en tant que tels et de leurs sous-produits à faible valeur ajoutée avec, par exemple la possibilité de récupération de molécules à haute valeur ajoutée (huiles essentielles, caroténoïdes, flavonoïdes, ...), le procédé étant vu dans ce cas comme un outil facilitant l'extraction.

A l'avenir, plusieurs voies de recherche restent cependant à approfondir, citons notamment :

- (1) le devenir des activités enzymatiques (polyphénoloxydases, peroxydases), responsables dans les procédés traditionnels du brunissement des produits, après le traitement thermique d'étuvage mis en œuvre pendant le procédé de flash-détente®,
- (2) le statut des micro-nutriments dans les produits traités : entre autres, vitamines, minéraux et caroténoïdes. En effet, les fortes teneurs des purées flash-détente® en parois cellulaires incluant des substances pectiques laissent présager des teneurs élevées en calcium. De plus, la désintégration des tissus laisse envisager une meilleure accessibilité et donc une meilleure disponibilité des caroténoïdes, constituants présentant des propriétés nutritionnelles et préventives intéressantes (pouvoir anti-carcinogène par exemple).
- (3) du point de vue de l'amélioration des performances du procédé, l'utilisation d'une raffineuse sous vide couplée à la chambre de détente et permettant ainsi d'éviter la réincorporation au moment du raffinage de l'oxygène dans les produits flash-détente® et donc de limiter les phénomènes de brunissement oxydatif.

## ***Références Bibliographiques***

- Ageron, D., Escudier, J.L., Abbal, P. et Moutounet, M. 1995. Prétraitement des raisins par flash-détente sous vide poussé. Rev. Fr. Oenol. 153 : 50-54.
- Ahmed, A.E.R. et Labavitch, J.M. 1977. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. J. Food Biochem. 1 : 361-365.
- Albanes, D. 1999. Beta-carotene and lung cancer: a case study. Am. J. Clin. Nutr. 69 : 1345-1350.
- Albersheim, P., Nevins, D.J., English, P.D. et Karr, A. 1967. A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. Carbohydr. Res. 5 : 340-345.
- Amrami-Hemaimi, M., Cerny, C. et Fay, L. 1995. Mechanism of formation of alkylpyrazines in the Maillard reaction. J. Agric. Food Chem. 43 : 2818-2822.
- Anonyme 1 1984. Essential oil of lemon obtained by expression. Analyst 109 : 1353-1355.
- Anonyme 2 1992. Matières premières aromatiques d'origine naturelle. In : *Huiles Essentielles, Recueil de Normes Françaises*. Afnor, Paris, pp. 38-42.
- Anonyme 3 1999. Agridoro d'équipe chez FMC FoodTech. Rev. Ind. Alim. 12 : 97.
- Anonyme 4 2001. Communication personnelle, AnonymeForschungszentrum Karlsruhe.
- Askar, A. et Treptow, H. 1993a. Measurement of colour. In : *Quality Assurance in Tropical Fruit Processing*. Askar, A. et Treptow, H. (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, Allemagne, pp. 57-60.
- Askar, A. et Treptow, H. 1993b. Measurement of consistency. In : *Quality Assurance in Tropical Fruit Processing*. Askar, A. et Treptow, H. (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, Allemagne, pp. 60-71.
- Askar, A. et Treptow, H. 1993c. Determination of acidity. In : *Quality Assurance in Tropical Fruit Processing*. Askar, A. et Treptow, H. (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, Allemagne, pp. 19-25.
- Askar, A., El-Nemr, S.E. et Bassiouny, S.S. 1986. Aroma constituents in white and pink guava fruits. Alimenta. 25 : 162-167.
- Aspinall, G.O., Craig, J.W.T. et Whyte, J.L. 1968. Lemon-peel pectin. Part I. Fractionation and partial hydrolysis of water-soluble pectin. Carbohydr. Res. 7 : 442-452.
- Aspinall, G.O. et Cottrell, I.W. 1970. Lemon peel pectin II: isolation of homogeneous pectins and examination of some associated polysaccharides. Can. J. Chem. 48 : 1283-1289.
- Aspinall, G.O. 1980. Chemistry of cell wall polysaccharides. In : *The Biochemistry of Plants*. Vol. 3, Preiss, J. (Ed.), Academic Press, NY, USA, pp. 473-500.

- Aspinall, G.O. et Fanous, H.F.** 1984. Structural investigations on the non-starchy polysaccharides of apples. *Carbohydr. Polym.* 4 : 193-214.
- Azzouz, M.A. et Reineccius, G.A.** 1976. Comparison between cold-pressed and distilled lime oils through the application of gas chromatography and mass spectrometry. *J. Food Sci.* 41 : 324-328.
- Ball, C.O., Clauss, W.E. et Strier, E.F.** 1957. Factors affecting quality of prepackaged meats. I. Physical and organoleptic tests. *Food Technol.* 11 : 277-283.
- Barrett, A.J. et Northcote, D.H.** 1965. Apple fruit pectic substances. *Biochem. J.* 94 : 617-627.
- Be Miller, J.N. et Dikko, S.** 1986. Structural analysis of papaya polysaccharides. *Carbohydr. Res.* 158 : 173-181.
- Bennett, R.D., Hasegawa, S. et Herman, Z.** 1989. Glucosides of acidic limonoids in citrus. *Phytochem.* 28 : 2777-2780.
- Berger, R.G.** 1991. Fruits I. In : *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. Maarse, H. (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York, pp. 283-304.
- Berry, R.E., Wagner, C.J. et Moshonas, M.G.** 1967. Flavor studies of nootkatone in grapefruit juice. *J. Food Sci.* 32 : 75-78.
- Bietz, J.A.** 1974. Micro-Kjeldahl analysis by an improved automated ammonia determination following manual digestion. *Anal. Chem.* 46 : 1617-1618.
- Bimbenet, J.J. et Loncin, M.** 1995. Transfert de quantités de mouvement dans les fluides. In : *Bases du Génie des Procédés Alimentaires*. Bimbenet, J.J. et Loncin, M. (Eds.), Masson, Paris, pp. 22-37.
- Biswas, A.B. et Rao, C.V.N.** 1969. Structural investigation of the galactan component of the pectic substances from *Carica papaya*. *Aust. J. Chem.* 22 : 2004-2011.
- Blakeney, A.B., Harris, P.J., Henry, R.J. et Stone, B.A.** 1983. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.* 113 : 291-299.
- Blumenkrantz, N. et Asboe-Hansen, G.** 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* 54 : 484-489.
- Boelens, M.H.** 1991. A critical review on the chemical composition of citrus oils. *Perfum. Flav.* 16 : 17-34.
- Bora, P.S. et Narain, N.** 1997. Passion fruit. In : *Postharvest Physiology and Storage of Subtropical Fruits*, Mitra, S.K. (Ed.), CAB International, Wallingford, UK, pp. 375-386.
- Braddock, R.J. et Cadwallader, K.R.** 1992. Citrus by-products manufacture for food use, *Food Technol.* 105-110.

**Brat, P., Brillouet, J.-M., Reynes, M., Cogat, P.O. et Ollé, D.** 2000. Free volatile components of passion fruit puree obtained by flash vacuum-expansion. *J. Agric. Food Chem.* 48 : 6210-6214.

**Brat, P., Ollé, D., Reynes, M., Cogat, P.O. et Brillouet, J.-M.** 2001a. Preparation of passion fruit puree by flash vacuum-expansion. *J. Food Sci.* 66 : 542-547.

**Brat, P., Ollé, D., Reynes, M., Alter, P., Cogat, P.O. et Brillouet, J.M.** 2001b. Preparation of tropical fruit purees by flash vacuum-expansion. *Act. Hort.* sous presse.

**Brat, P., Ollé, D., Reynes, M., Alter, P., Cogat, P.O. et Brillouet, J.M.** 2001c. Produit alimentaire : obtention par le traitement d'agrumes par le procédé de Flash-Détente, application à la fabrication de jus pectiques, de purées pectiques et de boissons. Procédé pour l'obtention du produit, des jus, purées, boissons. En cours de dépôt à l'Institut National de la Protection Industrielle.

**Brillouet, J.-M. et Carré, B.** 1983. Composition of cell walls from cotyledons of *Pisum sativum*, *Vicia faba* and *Glycine max*. *Phytochem.* 22 : 841-847.

**Brillouet, J.-M., Rouau, X., Hoebler, C., Barry, J.L., Carré, B. et Lorta, E.** 1988. A new method for determination of insoluble cell walls and soluble nonstarchy polysaccharides from plant materials. *J. Agric. Food Chem.* 36 : 969-979.

**Brouillard, R. et Delaporte, B.** 1977. Chemistry of anthocyanin pigments. II. Kinetic and thermodynamic study of proton transfer, hydration and tautomeric reactions of malvidin-3-glucoside. *J. Am. Chem. Soc.* 99 : 1359.

**Brouillard, R.** 1982. Chemical structure of anthocyanins. In : *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (Ed.), Academic Press, NY, pp. 1-38.

**Brouillard, R.** 1983. The *in vivo* expression of anthocyanin colour in plants. *Phytochem.* 22 : 1311-1323.

**Bushway, R.J.** 1986. Determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene in some raw fruits and vegetables by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 34 : 409-412.

**Carpita, N.C. et Gibeaut, D.M.** 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the cell walls during growth. *Plant J.* 3 : 1-30.

**Casimir, D.J.** 1974. Technological aspects of the production of concentrates of passionfruit-*Passiflora edulis*. Thèse, Université Nouvelle Galles du Sud, Sydney, Australie.

**Casimir, D.J., Kefford, J.F. et Whitfield, F.B.** 1981. Technology and flavor chemistry of passion fruit juices and concentrates. *Adv. Food Res.* 27 : 243-295.

**Catesson, A.M.** 1980. Les tissus végétaux. Ultrastructure, biogénèse. In : *Les Polymères Végétaux : Polymères Pariétaux et Alimentaires non Azotés*. Costes, C. et Monties, B. (Eds.), Gauthier Villars, Paris, France, pp. 1-29.

**Chandler, L.A. et Schwartz, S.J.** 1988. Isomerisation and losses of *trans*- $\beta$ -carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. *J. Agric. Food Chem.* 36 : 129-133.

**Chassagne, D.** 1996. Les glycosides précurseurs d'arômes du fruit de la passion. Etude structurale et hydrolyse enzymatique. Thèse, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France.

**Chen, C.-C., Kuo, M.-C., Hwang, L.S., Swi-Bea, J. et Wu, C.-M.** 1982. Headspace components of passion fruit juice. *J. Agric. Food Chem.* 30 : 1211-1215.

**Clinton, S.K.** 1998. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr. Rev.* 56 : 35-51.

**Cogat, P.O., Hunez, M. et Pieribattesti, J.C.** 1988. Procédé et matériel pour l'extraction de jus et d'arômes à partir de substrats végétaux; possibilités de traitements complémentaires sur le même matériel. Brevet, n° 8814311, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.

**Cogat, P.O.** 1989. Appareillage continu pour désaérer, chauffer, maintenir en température, refroidir sous vide des matières organiques solides. Brevet, n° 8917414, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.

**Cogat, P.O.** 1992. Procédé et matériel d'extraction, concentration, classement de composés volatils, entraînaibles, sapides et/ou solubles en mélange hydroalcoolique à partir de solides végétaux et animaux. Brevet, n° 9205669, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.

**Cogat, P.O.** 1993a. Installation pour extraire, concentrer et classer des composés biochimiques à partir de substances biologiques végétales ou animales. Brevet, n° EP 0570306B1, Office Européen des Brevets, Munich, Allemagne.

**Cogat, P.O.** 1993b. Dispositif additionnel au matériel de chauffage-refroidissement sous vide permettant de gérer les liquides afin d'éviter la dilution par de l'eau exogène et afin d'assurer la pré-concentration des matières traitées. Brevet, n° 9313286, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.

**Cogat, P.O.** 1994. Installation pour le traitement de matières biologiques hydratées. Brevet, n° EP 0727948B1, Office Européen des Brevets, Munich, Allemagne.

**Cogat, P.O.** 1995. Procédé et équipements d'impregnation de matières solides organiques fibreuses, par vaporisation sous vide de l'eau de constitution et injection en contrepression d'une solution. Brevet, n° 9505014, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.

**Cogat, P.O.** 1996. Procédé pour l'impregnation de matières organiques fibreuses hydratées, et installations pour la mise en œuvre de ce procédé. Brevet, n° WO98/04391, Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle, Genève, Suisse.

**Danehi, J.P.** 1986. Maillard reactions: nonenzymatic browning in food system with special reference to the development of flavor. *Adv. Food Res.* 30 : 77-124.

**Davies, A.J. et Mazza, G.** 1993. Copigmentation of simple and acetylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 41 : 716-720.

**Daviglus, M.L., Orenca, A.J. et Dyer, A.R.** 1997. Dietary vitamin C, beta-carotene and 30-year risk of stroke: results from the Western Electric Study. *Neuroepidemiology* 16 : 69-77.

**Davis, R.B. et Dewesse, D.** 1954. Consistency measurements of tomato puree. *Food Technol.* 8 : 330-334.

**De Vries, J.A., Den Uijl, C.H., Voragen, A.G.J., Rombouts, F.M. et Pilnik, W.** 1983. Structural features of the neutral sugar side-chains of apple pectic substances. *Carbohydr. Polym.* 3 : 193-205.

**Directive européenne.** 1993. n° 93/77/CEE. [www. oranges-juice.com/jus/legis.htm](http://www.oranges-juice.com/jus/legis.htm)

**Doco, T., Lecas, M., Pellerin, P., Brillouet, J.-M. et Moutounet, M.** 1995. Les polysaccharides pectiques de la pulpe et de la pellicule de raisin. Quel devenir pendant la phase pré-fermentaire ? *Rev. Fr. Œnol.* 153 : 16-23.

**Dreyer, D.L.** 1965. Citrus bitter principles. III. Isolation of deacetylnomilin and deoxylimonin. *J. Org. Chem.* 30 : 749-751.

**Dugo, G.** 1994. The composition of the volatile fraction of the italian citrus essential oils. *Perfum. Flav.* 19 : 29-51.

**Dupaigne P.** 1967. Une méthode objective d'évaluation de la teneur en pulpe en suspension dans les boissons de fruits. *Fruits* 22 : 305-308.

**El-Najjar, N.** 1999. Evaluation du procédé de «Flash-Détente» pour la valorisation des écorces d'agrumes. Cas du pomelo (*Citrus paradisi* Macfayden). Thèse de Master, ENSIA-SIARC, Montpellier, France.

**Engel, K.-H. et Tressl, R.** 1983a. Formation of aroma components from nonvolatile precursors in passion fruit. *J. Agric. Food Chem.* 31 : 998-1002.



**Engel, K.H. et Tressl, R.** 1983b. Studies on the volatile components of two mango varieties. *J. Agric. Food Chem.* 31 : 796-801.

**Escudier, J.L., Moutounet, M. et Cogat, P.O.** 1993. Produit alimentaire, obtention et application à la fabrication de jus de fruits ou de vins. Brevet, n° 9313287, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.

**Escudier, J.L., Mikolajcak, M. et Moutounet, M.** 1998. Prétraitement des raisins par flash-détente sous vide et caractéristiques des vins. Traitements physiques des moûts et des vins. *J. Int. Vigne et Vin*, hors série.

**Fellers, P.J., Carter, R.D. et De Jager, G.** 1987. Influence of limonin on consumer preference of processed grapefruit juice. *J. Food Sci.* 52 : 741-743, 746.

**Fishman, M.L., Gillespie, D.T., Sondey, M. et Barford, R.A.** 1989. Characterisation of pectins by size exclusion chromatography in conjunction with viscosity detection. *J. Agric. Food Chem.* 37 : 584-591.

**Flath, R.A. et Forrey, R.R.** 1977. Volatile components of papaya (*Carica papaya* L., Solo variety). *J. Agric. Food Chem.* 25 : 103-109.

**Fong, C.H., Hasegawa, S., Coggins, C.W., Atkin, D.R. et Miyake, M.** 1992. Contents of limonoids and limonin 17- $\beta$ -D-glucopyranoside in fruit tissue of Valencia orange during fruit growth and maturation. *J. Agric. Food Chem.* 40 : 1178-1181.

**Fong, C.H., Hasegawa, S., Herman, Z. et Ou, P.** 1989. Limonoid glucosides in commercial citrus juices. *J. Food Sci.* 54 : 1505-1509.

**Fong, C.H., Hasegawa, S., Miyake, M., Ozaki, Y., Coggins, C.W. et Atkin, D.R.** 1993. Limonoids and their glycosides in Valencia orange seeds during fruit growth and development. *J. Agric. Food Chem.* 41 : 112-115.

**Forss, D.A. et Holloway, G.L.** 1967. Recovery of volatile compounds from butter oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 44 : 572-575.

**Friedman, M.** 1996. Food browning and its prevention : an overview. *J. Agric. Food Chem.* 44 : 631-653.

**Giusti, M.M., Rodriguez-Saona, L.E. et Wrolstad, R.E.** 1999. Molar absorptivity and color characteristics of acetylated and non-acetylated pelargonidin-based anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 47 : 4631-4637.

**Guadagni, D.G., Maier, V.P. et Turnbaugh, J.G.** 1973. Effect of some citrus juice constituents on taste thresholds for limonin and naringin bitterness. *J. Sci. Food Agric.* 24 : 1277-1288.

**Guadagni, D.G., Maier, V.P. et Turnbaugh, J.G.** 1976. Effect of neodiosmin on threshold and bitterness of limonin in water and orange juice. *J. Food Sci.* 41 : 681-684.

**Harborne, J.B.** 1967. In : *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press, London, pp. 132.

**Hart, D.J. et Scott, K.J.** 1995. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chem.* 54 : 101-111.

**Hasegawa, S., Bennett, R.D. et Verdon, C.P.** 1980. Limonoids in citrus seeds: origin and relative concentration. *J. Agric. Food Chem.* 28 : 922-925.

**Hasegawa, S., Bennett, R.D., Herman, Z., Fong, C.H. et Ou, P.** 1989. Limonoid glucosides in *Citrus*. *Phytochem.* 28 : 1717-1720.

**Hasegawa, S., Ou, P., Fong, C.H., Herman, Z., Coggins, C.W.Jr. et Atkin, D.R.** 1991. Changes in the limonoate A-ring lactone and limonin 17- $\beta$ -D-glucopyranoside content of navel oranges during fruit growth and maturation. *J. Agric. Food Chem.* 39 : 262-265.

**Heinonen, M.I., Ollilainen, V., Linkola, E.K., Varo, P.T. et Koivistoinen, P.E.** 1989. Carotenoids in finnish foods: vegetables, fruits, and berries. *J. Agric. Food Chem.* 37 : 655-659.

**Hodge, J.E.** 1953. Chemistry of browning reactions in model system. *Agric. Food Sci.*, 1 : 928-943.

**Hoebler, C., Barry, J.L., David, A. et Delort-Laval, J.** 1989. Rapid acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 37 : 360-367.

**Hong, V. et Wrolstad, R.E.** 1986. Cranberry juice composition. *J. Assoc. Anal. Off. Anal. Chem.* 69 : 199-207.

**Horowitz, R.M.** 1956. Flavonoids of citrus. I. Isolation of diosmin from lemons (*Citrus lemon*). *J. Org. Chem.* 21 : 1184-1185.

**Horowitz, R.M. et Gentili, B.** 1960. Flavonoids of citrus. IV. Isolation of some aglycones from the lemon (*Citrus lemon*). *J. Org. Chem.* 25 : 2183-2187.

**Huang, Y.T. et Bourne, M.C.** 1983. Kinetics of thermal softening of vegetables. *J. Texture Stud.* 14 : 1-9.

**Huet, R.** 1991a. Les huiles essentielles d'agrumes. *Fruits*, 46 : 671-678.

**Huet, R.** 1991b. Les huiles essentielles d'agrumes. *Fruits*, 46 : 551-576.

**Idstein, H. et Schreier, P.** 1985. Volatile constituents of Alphonso mango (*Mangifera indica*). *Phytochemistry* 24 : 2313-2316.

**Ilker, R. et Szczesniak, A.** 1990. Structural and chemical bases for texture of plant foodstuffs. *J. Text. Stud.* 21 : 1-36.

**Jennings, W. et Shibamoto, T.** 1980. Compounds and their retention indices. In : *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*. Jennings, W. et Shibamoto, T. (Eds.), Academic Press, NY, pp. 29-57.

**Jewel, G.G.** 1979. Fruit and Vegetables. In : *Food Microscopy*. Vaughan, J.G. (Ed.), pp. 1-34.

**Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K. et Yano, M.** 1999. Quantitation of flavonoid constituents in *citrus* fruits. *J. Agric. Food Chem.* 47 : 3565-3571.

**Khachik, F., Beecher, G.R. et Lusby, W.R.** 1989. Separation, identification, and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe, and pink grapefruit by liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 37 : 1465-1473.

**Kidoy, L., Nygard, A.M., Andersen, O.M., Pedersen, A.T., Aksnes, D.W. et Kiremire, B.T.** 1997. Anthocyanins in fruits of *Passiflora edulis* and *P. suberosa*. *J. Food Comp. Anal.* 10 : 49-54.

**Kinch, D.M.** 1959. A continuous-process centrifuge. *Trans. ASAE* 2 : 52-54, 57.

**Klavons, J.A. et Bennett, R.B.** 1986. Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl ester content of pectins. *J. Agric. Food Chem.* 34 : 597-599.

**Knox, J.P., Linstead, P.J., King, J., Cooper, C. et Roberts, K.** 1990. Pectin esterification is spatially regulated both within cell walls and between developing tissues of root apices. *Planta* 181 : 512-521.

**Kramer, A.** 1951. Objective testing of vegetable quality. *Food Technol.* 5 : 265-269.

**Kramer, A.** 1959. Glossary of some terms used in the sensory (panel) evaluation of foods and beverages. *Food Technol.* 13 : 733-736.

**Latrasse, A.** 1991. Fruits III. In : *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. Maarse, H. (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York, pp. 329-387.

**Lecas, M. et Brillouet, J.-M.** 1994. Cell wall composition of grape berry skins. *Phytochem.* 35 : 1241-1243.

**Législation des jus.** 2001. [www. oranges-juice.com/jus/legis.htm](http://www.oranges-juice.com/jus/legis.htm)

**Leonard, T.K., Mohs, M.E., Ho, E.E. et Watson, R.W.** 1986. Nutrient intakes: cancer causation and prevention. *Progr. Food Nutr.Sci.* 10 : 237-277.

**Letraon-Masson, M.-P.** 1998. Purification et caractérisation de deux  $\beta$ -D-glucosidases d'*Aspergillus niger*. Détermination de leurs activités sur des substrats représentatifs des

traitements enzymatiques des jus de fruits et des vins. Thèse, Institut National Polytechnique de Lorraine, France.

**Leuenberger, F.L. et Thommen, H.** 1972. Zum vorkommen von carotinoiden in der passionfrucht. Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. 149 : 279-282.

**Likens, S. T. et Nickerson, G. B.** 1964. Detection of certain hop oil constituents in brewing products. Proc. Am. Soc. Brew. Chem. 5-13.

**Lipitoa, S. et Robertson, G.L.** 1977. The enzymatic extraction of juice from yellow passion fruit pulp. Trop. Sci. 19 : 105-112.

**Loh, J., Breene, W.M. et Davis, E.A.** 1982. Between species differences in fracturability loss of plant tissue: Pattern and within-species variation. J. Texture Stud. 13 : 325-347.

**Lota M.-L., de Rocca Serra, D., Tomi F., Casanova J.** 2000. Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco. Biochem. Syst. Ecol. 28 : 61-78.

**Lozano, J.E. et Ibarz, A.** 1994. Thixotropic behaviour of concentrated fruit pulps. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 27 : 16-18.

**Lund, E.D. et Bryan, W.L.** 1978. Commercial orange essence. Comparison of composition and method analysis. J. Food Sci. 42 : 385-388.

**Mackinney, G.** 1962. Les caroténoïdes des fruits. Fruits 17 : 341-350.

**MacLeod, A.J. et de Troconis, N.G.** 1982. Volatile flavour components of guava. Phytochemistry 21 : 1339-1342.

**Maier, V.P. et Beverly, G.D.** 1968. Limonin monolactone, the non-bitter precursor responsible for delayed bitterness in certain Citrus juices. J. Food Sci. 33 : 488-492.

**Maier, V.P., Hasegawa, S. et Hera, E.** 1969. Limonin D-ring lactone hydrolase. A new enzyme from Citrus seeds. Phytochem. 8 : 405-407.

**Mansell, R.L. et Weiler, E.W.** 1980. Radioimmunoassay for the determination of limonin in citrus. Phytochem. 19 : 1403-1407.

**Manthey, J.A. et Grohmann, K.** 1996. Concentrations of hesperidin and other orange peel flavonoids in citrus processing byproducts. J. Agric. Food Chem. 44 : 811-814.

**Marcelin, O.** 1992. Caractérisation des polysaccharides pariétaux de la goyave (*Psidium guajava* L.). Application à l'obtention de nouveaux types de purées par voie enzymatique. Thèse, Université Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France.

**Marcelin, O., Williams, P. et Brillouet, J.-M.** 1993. Isolation and characterisation of the two main cell-wall types from guava (*Psidium guajava* L.) pulp. Carbohydr. Res. 240 : 233-243.

- Marsh, G.L., Buhlert, J. et Leonard, S.** 1977. Effect of degree of concentration and of heat treatment on consistency of tomato pastes after dilution. *J. Food Proc. and Preserv.* 1 : 340-345.
- Martin, F.W. et Nakasone, H.Y.** 1970. The edible species of *Passiflora*. *Econ. Bot.*, 24 : 333-343.
- Massiot, P.** 1988. Caractérisation structurale et dégradation enzymatique des polysaccharides de parois cellulaires de la racine de carotte (*Daucus carota* L.). Thèse, Université de Rennes I, France.
- Mathew, A.G. et Parpia, H.A.B.** 1971. Food browning as a polyphenol reaction. *Adv. Food Res.* 19 : 75-145.
- Matz, S.A.** Measuring food texture. 1962. In : *Food Texture*. Matz, S.A. (Ed.), AVI Publishing Co., Connecticut, U.S.A., pp. 12-15.
- Mazza, G. et Brouillard, R.** 1990. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochem.* 29 : 1097-1102.
- Mazza, G. et Miniati, E.** 1993. Tropical fruits. In : *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*. Mazza, G. et Miniati, E. (Eds.), CRC Press, NY, USA, pp. 131-142.
- Mercadante, A.Z., Britton, G. et Rodriguez-Amaya, D.B.** 1998. Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). *J. Agric. Food Chem.* 46 : 4102-4106.
- Medlicott, A.P., Reynolds, S.B. et Thompson, A.K.** 1986. Effects of temperature on the ripening of mango fruit (*Mangifera indica* L. var. Tommy Atkins). *J. Sci. Food Agric.* 37 : 469-474.
- Midoux, N.** 1993. Modes d'études des écoulements réels. In : *Mécanique et Rhéologie des Fluides*. Midoux, N. (Ed.), Paris, France, pp. 123-243.
- Mosandl, A. et Berger, W.** 1987. Chirale Carbonsäureester-darstellung und eigenschaften. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 185 : 379-382.
- Moutounet, M. et Escudier, J.L.** 2000. Prétraitement des raisins par flash-détente sous vide. Incidence sur la qualité des vins. *Bulletin de l'O.I.V.* 827-828 : 5-19.
- Mussinan, C.J., Mookherjee, B.D. and Malcolm, G.I.** 1981. Isolation and identification of the volatile constituents of fresh lemon juice. In : *Essential Oils*. Mookherjee, B.D. et Malcolm, G.I. (Eds.), Allured, Wheaton, pp. 199-228.
- Ness, A.R. et Powles, J.W.** 1997. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int. J. Epidemiol.* 26 : 1-13.

- Ollé, D., Brat, P., Reynes, M. et Brillouet, J.M.** 2001. Produits à base de fruits tropicaux et subtropicaux pour réutilisation industrielle. Varoquaux, F. (Ed.), à paraître chez Lavoisier Edition, France.
- Olson, J.A.** 1989. Biological actions of carotenoids. *J. Nutr.* 119 : 94-95.
- Ordaz-Galindo, A., Wesche-Ebeling, P., Wrolstad, R.E., Rodriguez-Saona, L. et Argaiiz-Jamet, A.** 1999. Purification and identification of capulin (*Prunus serotina* Ehrh) anthocyanins. *Food Chem.* 65 : 201-206.
- Owens, H.S., Lotzkar, H., Schultz, T.H. et Maclay, W.D.** 1946. Shape and size of pectinic acid molecules deduced from viscosimetric measurements. *J. Am. Chem. Soc.* 68 : 1628-1632.
- Park, G.L., Avery, S.M., Byers, J.L. et Nelson, D.B.** 1983. Identification of bioflavonoids from citrus. *Food Technol.* 37 : 98-105.
- Parliment, T. H.** 1972. Some volatile constituents of passion fruit. *J. Agric. Food Chem.* 20 : 1043-1045.
- Pellerin, P. et Brillouet, J.-M.** 1992. Study of red wine polysaccharides fractionated by ion exchange chromatography. *Vitic. Oenol. Sci.* 47 : 153-158.
- Pieribattesti, J.C. et Hunez, M.** 1984a. Procédé d'extraction de jus de fruits et de légumes et appareillages pour sa mise en œuvre. Brevet, n° 8413469, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.
- Pieribattesti, J.C., Hunez, M. et Cogat, P.O.** 1984b. Technique d'extraction d'arômes. Brevet, n° 8814311, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.
- Piffaut, B., Kader, F., Girardin, M. et Metche, M.** 1994. Comparative degradation pathways of malvidin 3,5-diglucoside after enzymatic and thermal treatments. *Food Chem.* 50 : 115-120.
- Praloran, J.C.** Botanique. 1971. In : *Les Agrumes*. Praloran, J.C. (Ed.), GP Maisonneuve & Larose, Paris, pp. 11-38.
- Pruthi, J.S.** 1963. Physiology, chemistry and technology of passion fruit. *Adv. Food Res.* 12 : 203-281.
- Pruthi, J.S. et Lal, G.** 1958. Carotenoids in passion fruit juice (*Passiflora edulis*, Sims.). *Food Res.* 23 : 505-510.
- Pruthi, J.S., Parekh, C.M. et Lal G.** 1961a. An integrated process for the recovery of essential oil and pectin from mandarin orange waste. *Food Sci.* 372-378.
- Pruthi, J.S., Susheela, R. et Lal, G.** 1961b. Anthocyanin pigment in passion fruit rind. *J. Food Sci.* 26 : 385-388.

- Purseglove, J.W.** 1974. Anacardiaceae. In : *Tropical Crops Dicotyledons*. Purseglove, J.W. (Ed.), Longman, London, pp. 18-32.
- Puvanesarajah, V., Darvill, A.G. et Albersheim, P.** 1991. Structural characterization of two oligosaccharide fragments formed by the selective cleavage of rhamnogalacturonan II : evidence for the anomeric configuration and attachment sites of apiose and 3-deoxy-2-heptulosaric acid. *Carbohydr. Res.* 218 : 211-222.
- Qiu, C.G. et Rao, M.A.** 1988. Role of pulp content and particle size in yield stress of apple sauce. *J. Food Sci.* 53 : 1165-1170.
- Ralet, M.-C. et Thibault, J.-F.** 1994. Extraction and characterisation of very highly methylated pectins from lemon cell walls. *Carbohydr. Res.* 260 / 283-296.
- Rao, M.A. et Bourne, M.C.** 1977. Analysis of the plastometer and correlation of Bostwick consistometer data. *J. Food Sci.* 42 : 261-263.
- Rao, M.A., Cooley, H.J., Nogueira, J.N. et McLellan, M.R.** 1986. Rheology of apple sauce: effect of apple cultivar, firmness, and processing parameters. *J. Food Sci.* 51 : 176-179.
- Reeve, R.M.** 1970. Relationships of histological structure to texture of fresh and processed fruits and vegetables. *J. Texture Stud.* 1 : 247-284.
- Renn, P.T. et Sathe, S.K.** 1997. Effects of pH, temperature and reactant molar ratio on L-leucine and D-glucose Maillard browning reaction in an aqueous system. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 3782-3787.
- Richard, H.** 1992. Connaissance de la nature des arômes alimentaires. In : *Les Arômes Alimentaires*. Richard, H. et Multon, J.L. (Eds.), Tec&Doc-Lavoisier, Paris, pp. 22-37.
- Rivera-Lopez, J., Ordorica-Falomir, C. et Wesche-Ebeling, P.** 1999. Changes in anthocyanin concentration in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during maturation. *Food Chem.* 65 : 195:200.
- Robins, R.J., Rhodes, M.J.C., Parr, A.J. et Walton, N.J.** 1990. In *Bitterness in Foods and Beverages*. Rouseff, R.L. (Ed.), Elsevier, NY, pp. 5-60.
- Roland, J.C.** 1980. Ultrastructure et texture des polysaccharides dans la paroi des cellules végétales. In : *Les Polymères végétaux – Polymères pariétaux et Alimentaires Non Azotés*. Costes, C. et Monties, B. (Eds.), Doin, Paris, pp. 46-65.
- Rotheval, A.** 1996. Contribution à l'étude du trouble et de la désamérisation des jus d'oranges. Thèse, Institut National Polytechnique de Lorraine, France.
- Rouse, A.H. et Crandall, P.G.** 1976. Nitric acid extraction of pectin from citrus peel. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 89 : 166-168.

**Roussef, R.L., Martin, S.F. et Youtsey, C.O.** 1987. Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in *Citrus*. J. Agric. Food Chem. 35 : 1027-1030.

**Roussef, R.L., Sadler, G.D., Putnam, T.J. et Davis, J.E.** 1992. Determination of  $\beta$ -carotène and other hydrocarbon carotenoids in red grapefruit cultivars. J. Agric. Food Chem. 40 : 47-51.

**Saeman, J.F., Moore, W.E., Mitchell, R.L. et Millett, M.A.** 1954. Techniques for the determination of pulp constituents by quantitative paper chromatography. Tappi 37 : 336-343.

**Saulnier, L. et Thibault, J.-F.** 1987. Extraction and characterization of pectic substances from pulp of grape berries. Carbohydr. Polym. 7 : 329-343.

**Saulnier, L. et Brillouet, J.-M.** 1989. An arabino-galactane protein from the pulp of grape berries. Carbohydr. Polym. 188 : 137-144.

**Sawamura, M. et Kuriyama, T.** 1988. Quantitative determination of volatile constituents in the pummelo (*Citrus grandis* Osbeck forma Tosa-buntan). J. Agric. Food Chem. 36 : 567-569.

**Selvendran,** 1975. Analysis of cell wall material from plant tissues : extraction and purification. Phytochem. 14 : 1011-1017.

**Selvendran, R.R.** 1985. Developments in the chemistry and biochemistry of pectic and hemicellulosic polymers. J. Cell. Sci. Suppl. 2 : 51-58.

**Shaw, P.E. et Coleman, R.L.** 1974. Quantitative composition of cold-pressed orange oils. J. Agric. Food Chem. 22 : 785-787.

**Shaw, P.E. et Wilson, C.W.** 1981. Importance of nootkatone to the aroma of grapefruit oil and the flavor of grapefruit juice. J. Agric. Food Chem. 29 : 677-679.

**Shaw, P.E. et Wilson, C.W.** 1982. Volatiles sulfides in headspace gases of fresh and processed citrus juices. J. Agric. Food Chem. 30 : 685-688.

**Shaw, P.E. et Wilson, C.W.** 1984. A rapid method for determination of limonin in citrus juice by high performance liquid chromatography. J. Food Sci. 49 : 1216-1218.

**Shaw, P.E.** 1991. Fruits II. In : *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. Maarse, H. (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York, pp. 305-327.

**Shaw, P.E. et Nagy, S.** 1993a. Lemon and lime juice. In *Fruit Juice Processing Technology*. Nagy, S., Chen, C.S. et Shaw, P.E. (Eds.), Agscience, FL, pp. 225-227.

**Shaw, P.E. et Nagy, S.** 1993b. Lemon and lime juice. In *Fruit Juice Processing Technology*. Nagy, S., Chen, C.S. et Shaw, P.E. (Eds.), Agscience, FL, pp. 228-230.



**Starrantino, A., Terranova, G., Dugo, P., Bonaccorsi, I. et Mondello, L.** 1997. On the genuineness of citrus essential oil of new hybrids of lemon obtained in sicily. *Flav. Fragr. J.* 12 : 153-161.

**Steinmetz, K.A. et Potter, J.D.** 1996. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *J. Am. Diet. Assoc.* 96 : 1027-1039.

**Strack, D. et Wray, V.** 1994. The anthocyanins. In : *The Flavonoids, Advances in Research since 1986*. Harborne, J.B. (Ed.), Chapman et Hall, London, pp. 1-22.

**Swaine, R.L. et Swaine, R.L., Jr.** 1988. Citrus oils. *Perfum. Flav.* 13 : 1-20.

**T.N.O.** 1996a. In : *Volatile Compounds in Food. Qualitative and Quantitative Data*. Nijssen, L.M., Visscher, C.A., Maarse, H., Willemens, L.C. et Boelens, M.H. (Eds.), T.N.O. Nutrition and Food Research Institute AJ Zeist, The Netherlands (105).

**T.N.O.** 1996b. Lemon juice In : *Volatile Compounds in Food. Qualitative and Quantitative Data*. Nijssen, L.M., Visscher, C.A., Maarse, H., Willemens, L.C. et Boelens, M.H. (Eds.), T.N.O. Nutrition and Food Research Institute AJ Zeist, The Netherlands (105), pp. 319-322.

**Takada, N. et Nelson, P.E.** 1983. A new consistency method for tomato products: the precipitate weight ratio. *J. Food Sci.* 48 : 1460-1462.

**Tanglertpaibul, T. et Rao, M.A.** 1987a. Flow properties of tomato concentrates: effect of serum viscosity and pulp content. *J. Food Sci.* 52 : 318-321.

**Tanglertpaibul, T. et Rao, M.A.** 1987b. Intrinsic viscosity of tomato serum as affected by methods of determination and methods of processing concentrates. *J. Food Sci.* 52 : 1642-1645.

**Taungbodhitham, A.K., Jones, G.P., Wahlqvist, M.L. et Briggs D.R.** 1998. Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoids in fruits and vegetables. *Food Chem.* 63 : 577-584.

**Timberlake, C.F.** 1981. Anthocyanins in fruits and vegetables. In : *Recent Advances in the Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Friend, J. et Rhodes, M.J.C. (Eds.), Academic Press, London, pp. 221-247.

**Timberlake, C.F. et Bridle, P.** 1975. Anthocyanins. In *The Flavonoids*. Harborne, J.B., Marby, T.J. et Marby, H. (Eds.), Chapman et Hall, London, pp. 115-149.

**Ting, S.V., Roussef, R.L., Dougherty, M.H. et Attaway, J.A.** 1979. Determination of some methoxylated flavones in citrus juices by high performance liquid chromatography. *J. Food Sci.* 43 : 69-71.

- Tressl, R. et Engel, K.H.** 1985. Biogenesis of chiral aroma components and their analytical characterization at trace level. In : *Progress in Flavour Research*, Adda, J. (Ed.), Elsevier, New York, pp. 441-455.
- Tsushida, T., Yamamoto, T., Yamamoto, K., Hitomi, N., Kosaka, N., Okada, M., Komatsu, K. et Namba, T.** 1997. Study on the botanic origins and the quality evaluation of crude drugs derived from *Citrus* and related genera (III). Chemical constituents of peels of *Citrus*, *Fortunella* and *Poncirus*. *Nat. Med.* 51 : 205-223.
- Tsuneya, T.M., Ishihara, M., Shiota, H. et Shiga, M.** 1980. Isolation and identification of novel terpene lactones from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill., Marmelo). *Agric. Biol. Chem.* 44 : 957-958.
- Verzera, A., Mondello, L., Trozzi, A. et Dugo, P.** 1999. On the genuineness of citrus essential oils. Part LII. Chemical characterization of essential oil of three cultivars of *Citrus clementine*. *Hort. Flav. Fragr. J.* 12 : 163-172.
- Voragen, A.G.J. et Pilnik, W.** 1989. Pectin degrading enzymes in fruit and vegetable processing. In : *Biocatalysis in Agricultural Biotechnology*. American chemical society symposium 389, Whitaker et Sonnet (Eds.), Washington, USA, pp. 93-115.
- Weber, B., Dietrich, A., Maas, B., Marx, A., Olk, J. et Mosandl, A.** 1994. Enantiomeric distribution of the chiral sulphur-containing alcohols in yellow and purple passion fruits. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 199 : 48-50.
- Weber, B., Maas, B. et Mosandl, A.** 1995. Stereoisomeric distribution of some chiral sulfur-containing trace components of yellow passion fruits. *J. Agric. Food Chem.* 43 : 2438-2441.
- Wei, H., Tye, L., Bresnik, E. et Birt, D.F.** 1990. Inhibitory effect of apigenin, a plant flavonoid, on epidermal ornithine decarboxylase and skin tumour promotion in mice. *Cancer Res.* 50 : 499-506.
- Weiss, E.A.** 1997. Rutaceae. In : *Essential Oil Crops*. Weiss, E.A. (Ed.), CAB International, New York.
- Werkhoff, P., Günter, M., Krammer, G., Sommer, H. et Kaulen, J.** 1998. Vacuum headspace method in aroma research: flavor chemistry of yellow passion fruits. *J. Agric. Food Chem.* 46 : 1076-1093.
- Whitfield, F.B. et Last, J.H.** 1986. The flavour of the passionfruit-a review. In : *Progress in Essential Oil Research*. Brunke, E.J. (Ed.), de Gruyter, Berlin, pp. 3-48.
- Whittaker, D.E.** 1972. Passion fruit: agronomy, processing and marketing. *Trop. Sci.* 14 : 59-79.

**Widmer, W.W.** 1991. Improvements in the quantitation of limonin in citrus juice by reversed-phase high performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 39 : 1472-1476.

**Wilberg, V.C. et Rodriguez-Amaya, D.B.** 1995. HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. *Lebensm. -Wiss. u.-Technol.* 28 : 474-480.

**Williams, P.J.** 1993. Hydrolytic flavour release in fruit and wine through hydrolysis of non-volatile precursors. In *Flavor Science Sensible Principles and Techniques*. Acree, T. et Teranishi, R. (Eds.), ACS Symposium Series, Washington DC, pp. 287-303.

**Wilson, C.W. et Shaw, P.E.** 1984. Quantitation of individual and total aldehydes in citrus cold-pressed oils by fused silica capillary gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 32 : 399-401.

**Wilson, C.W., Wagner, C.J. et Shaw, P.E.** 1989. Reduction of bitter components in grapefruit and navel orange juices with  $\beta$ -cyclodextrin polymers or XAD resins in a fluidized bed process. *J. Agric. Food Chem.* 37 : 14-18.

**Winterhalter, P., Katzenberger, D. et Schreier, P.** 1986. 6,7-Epoxy-linalool and related oxygenated terpenoids from *Carica papaya* fruit. *Phytochemistry* 25 : 1347-1350.

**Winterhalter, P.** 1990. Bound terpenoids in the juice of the purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *J. Agric. Food Chem.* 38 : 452-455.

**Winterhalter, P.** 1991. Fruits IV. In : *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. Maarse, H. (Ed.), Marcel Dekker Inc, New York, pp. 389-409

**Yen, G.-C. et Lin, H.T.** 1998. Effects of high pressure and heat treatment on pectic substances and related characteristics in guava juice. *J. Food Sci.* 63 : 684-687.

## *Annexes*

## ANNEXE I. LISTES DES ILLUSTRATIONS

Liste des tableaux

Tableau n°		Page
1	Principales caractéristiques des 2 formes du fruit de la passion : pourpre, <i>Passiflora edulis</i> Sims.) et jaune ( <i>Passiflora edulis</i> Sims. f. <i>flavicarpa</i> Degener).	6
2	Teneur en caroténoïdes de différents fruits (d'après Heinonen <i>et al.</i> , 1989; Khachik <i>et al.</i> , 1989).	23
3	Maxima d'absorption (nm) de quelques caroténoïdes (d'après Mackinney, 1962).	25
4	Répartition de la limonine dans les différentes parties d'un pomelo (var. Marsh) (d'après Mansell et Weiler, 1980).	27
5	Composés d'arôme détectés dans les fruits des zones méditerranéennes et tropicales (d'après T.N.O., 1996a).	30
6	Indice d'impact sur la saveur des composés d'arôme dans le jus de fruit de la passion pourpre (Casimir, 1981).	34
7	Cours des huiles essentielles de zestes d'agrumes (2000) (d'après Ollé <i>et al.</i> , 2001).	36
8	Répartition des différentes classes de composés d'arôme dans les huiles essentielles de citron (Sicile), d'orange (Floride) et de pomelo (Floride) (d'après Anonyme 1, 1984; Shaw and Coleman, 1974; Swaine et Swaine, 1988).	37
9	Impact organoleptique des composés d'arôme contenus dans les huiles essentielles d'agrumes.	37
10	Composés d'arôme importants dans l'arôme du jus de citron (d'après Mussinan <i>et al.</i> , 1981).	38
11	Gradient de solvants utilisé pour la séparation des anthocyanes par C.L.H.P. (d'après Le Traon, 1998).	54
12	Gradient de solvants utilisé pour la séparation des caroténoïdes par C.L.H.P.	55
13	Masses moléculaires en poids et viscosités intrinsèques des pullulanes étalons.	62
14	Répartition des masses au sein d'un fruit de la passion <sup>a</sup> .	70
15	Rendements en jus et purées.	70
16	Bilans matière des 2 étapes du procédé de flash-détente sur la base de 1 kg de fruits (d'après Brat <i>et al.</i> , 2001).	71
17	Paramètres thermodynamiques de transformation lors du procédé de flash-détente.	72
18	Caractéristiques physico-chimiques des jus et purées de fruit de la passion.	73
19	Teneurs et compositions des M.I.A.	74
20	Teneurs et compositions des polysaccharides solubles.	75
21	Viscosités intrinsèques et masses moléculaires des pectines solubles.	76
22	Caractéristiques rhéologiques des produits.	77
23	Caractéristiques rhéologiques des dispersions modèles.	79

24	Caractéristiques chromatiques des produits.	81
25	Caractéristiques du composé inconnu et du 3-glucoside de cyanidol.	82
26	Teneurs (mg/kg) en 3-glucoside de cyanidol des jus et purées de fruit de la passion.	83
27	Maxima d'absorption ( $\lambda_{\max}$ ) des différents caroténoïdes détectés dans les extraits de fruit de la passion.	84
28	Teneurs en caroténoïdes dans les jus et purées de fruit de la passion.	85
29	Concentrations des différentes classes de composés volatils dans les jus et purées de fruit de la passion selon la technique d'extraction.	86
30	Concentrations des composés d'arôme du jus de fruit de la passion natif selon le mode d'extraction.	87
31	Concentrations <sup>a</sup> des composés d'arôme des jus, purées, et écorces de fruit de la passion et des eaux aromatiques.	88
32	Test d'analyse sensorielle ANOVA à 5 % sur les jus et les purées de fruit de la passion.	90
33	Rendements en purées.	92
34	Teneurs et composition des M.I.A.	93
35	Caractéristiques physico-chimiques des produits.	93
36	Caractéristiques rhéologiques des produits.	94
37	Caractéristiques chromatiques des produits.	95
38	Rendements en jus et purées.	97
39	Caractéristiques physico-chimiques des produits.	98
40	Caractéristiques chromatiques des produits.	98
41	Teneurs et compositions des M.I.A.	99
42	Teneurs et compositions des polysaccharides solubles.	100
43	Caractéristiques rhéologiques des produits.	100
44	Teneurs en flavonoïdes des produits.	101
45	Teneurs des produits en limonine.	102
46	Concentrations et pourcentages relatifs des composés d'arôme dans les sacs à jus, l'albedo et le flavedo.	102
47	Répartition relative (en %) des différentes classes de composés d'arôme dans les sacs à jus, l'albedo et le flavedo.	103
48	Concentrations et pourcentages relatifs des composés d'arôme dans des jus et purées de citron.	104
49	Concentrations en différentes classes de composés d'arôme dans des jus et purées de citron.	105
50	Teneurs en huiles essentielles des écorces d'agrumes.	106
51	Teneurs et rendements en huiles essentielles obtenues par le procédé de flash-détente <sup>®</sup> .	106
52	Pourcentages relatifs des composés volatils d'huiles essentielles d'écorces de citron, d'orange douce, de mandarine et de pomelo.	108

**Liste des figures**

<b>Figure n°</b>		<b>Page</b>
1	Coupe équatoriale schématique d'un agrume (d'après Praloran, 1971 et Baldwin, 1993).	4
2	Schéma de l'extracteur de Brown (A) (d'après Brown Corporation, USA) et de l'extracteur F.M.C. (B) (d'après Food Machinery Corporation, USA).	5
3	Bilan matière d'un procédé d'extraction de jus (d'après Casimir, 1974).	6
4	Schéma traditionnel d'obtention d'une purée (d'après Ollé <i>et al.</i> , 2001).	7
5	Schéma du pilote semi-industriel de flash-détente.	8
6	Schéma de l'extracteur BROWN (d'après Huet, 1991b).	12
7	Evolution de la tension de cisaillement ( $\tau$ ) en fonction de la vitesse de cisaillement ( $dV_X/dZ$ ) dans les différents modèles rhéologiques (d'après Bimbenet et Loncin, 1995).	16
8	Schéma d'oxydation des composés phénoliques (d'après Mathew et Parpia, 1971).	19
9	Structures chimiques des principaux anthocyanidols (C6-C3-C6) (d'après Timberlake et Bridle, 1975).	21
10	Relation entre la couleur du cation flavylum des anthocyanidols et les degrés d'hydroxylation et de méthylation dans le noyau B.	21
11	Les différentes formes d'anthocyanes. A base quinonique (bleue) ; AH <sup>+</sup> cation flavylum (rouge) ; B carbinol (incolore) ; C chalcone (incolore) ; Gly : résidu glycosyle (d'après Brouillard et Delaporte, 1977).	22
12	Structures des principaux caroténoïdes.	24
13	Spectres d'absorption de quatre caroténoïdes (d'après Roussef <i>et al.</i> , 1992).	25
14	Formation de la limonine dans les jus d'oranges à partir de son précurseur, la LARL (d'après Maier et Beverly, 1968).	27
15	Formes glycosilées, non amères, des deux principaux limonoïdes d'agrumes (d'après Rotheval, 1996).	27
16	Structures des principales flavanones chez les agrumes (d'après Rotheval, 1996).	28
17	Principaux flavonoïdes chez les agrumes (d'après Kawaii <i>et al.</i> , 1999).	29
18	Concentrations maximales des composés d'arôme majeurs dans différents fruits tropicaux (d'après T.N.O., 1996a). (pour le citron, concentration /10).	30
19	Structures et odeurs des principaux hydrocarbures mono- (C <sub>10</sub> ) et sesquiterpéniques (C <sub>15</sub> ).	30
20	Structures et odeurs des principaux alcools aliphatiques (A), monoterpéniques (B) et sesquiterpéniques (C).	31
21	Structures et odeurs des principaux aldéhydes (A) et cétones (B).	32
22	Structures et odeurs de certains esters (A) et hétérocycles (B).	33
23	Les polyols présents dans le fruit de la passion et leurs produits de dégradation obtenus après traitement acido-catalysé (d'après Engel et Tressl, 1983). I : 3,7-diméthyl oct-1-ène 3,7-diol; II : 3,7-diméthyl oct-1,5-diène-3,7-diol; III : 3,7-diméthyle oct-1,7-diène-3,6-diol; IV : 3,7-diméthyle oct-1-ène-3,6,7-triol.	35

24	Nature des oses identifiés dans les précurseurs d'arômes de différents fruits (d'après Williams, 1993).	35
25	Coupe équatoriale d'agrumes.	36
26	Structures des composés éther caractéristiques de l'arôme de citron.	39
27	Structures de l' $\alpha$ -(A) et du $\beta$ -sinensal (B).	40
28	Schémas d'oxydations du d-limonène et du valencène (d'après Huet, 1991b).	40
29	Représentation schématique de la cellule végétale (d'après Jewel, 1979) et de sa paroi (d'après Doco et al., 1995).	42
30	Les différents niveaux d'organisation de la paroi (d'après Roland, 1980).	42
31	Oses constitutifs des polysaccharides de paroi cellulaire.	43
32	Modèle d'organisation de la paroi primaire (d'après Carpita et Gibeaut, 1993).	43
33	Structure du cellobiose.	43
34	Structure des fucogalactoxyloglucanes.	44
35	Structure des arabinoglucuronoxylanes.	44
36	Structure des galactoglucomannanes.	44
37	Structure des substances pectiques (d'après Marcelin, 1992).	45
38	Structure des homogalacturonanes (d'après Barrett et Northcote, 1965).	45
39	Structure des arabinanes (d'après Lecas et Brillouet, 1994).	46
40	Structure des arabinogalactanes de type I (A) et de type II (B).	46
41	Schéma du pilote flash-détente de laboratoire.	50
42	Schéma du viscosimètre capillaire Ubbelohde (d'après Askar et Treptow, 1993a).	61
43	Schéma du consistomètre de Bostwick.	64
44	Modules de rotation FL-100 (A) et MV-DIN (B) (d'après Haake Incorporation, Saddle Brook, NJ, USA).	64
45	Diagramme de corrélation entre les valeurs L, a, b et les couleurs associées (d'après Askar et Treptow, 1993a).	64
46	Schéma du système d'extraction de l'espace de tête sous vide (d'après Werkhoff <i>et al.</i> , 1998).	65
47	Evolution de la température au cœur du fruit de la passion en fonction du temps d'étuvage.	71
48	Diagramme massique et thermique du procédé de flash-détente.	72
49	Caractéristiques physico-chimiques des jus et purées de fruit de la passion.	73
50	Profil d'élution des polysaccharides solubles de fruit de la passion en chromatographie d'exclusion stérique : (a) jus natif, (b) purée étuvée, (c) purée flash-détente.	77
51	Evolution de la contrainte de cisaillement (Pa) en fonction de la vitesse de cisaillement ( $s^{-1}$ ) dans les jus et purées de fruit de la passion.	78
52	Chromatogramme c.l.h.p. des anthocyanes de jus et purées de fruit de la passion (A) jus natif, (B) purée étuvée, (C) purée flash-détente.	81



53	Spectres d'absorption de l'anthocyane majoritaire des extraits de purées de fruit de la passion (A, $\lambda_{\max} = 514$ nm) et du 3-glucoside de cyanidol. (B, $\lambda_{\max} = 515$ nm).	81
54	Spectres d'absorption de l'anthocyanidol majoritaire des extraits de purées de fruit de la passion (A, $\lambda_{\max} = 521$ nm) et du cyanidol étalon (B, $\lambda_{\max} = 524$ nm).	82
55	Chromatogramme C.P.G. des oses (acétates d'alditol) constitutifs des anthocyanes de la purée flash-détente de fruit de la passion.	82
56	Chromatogramme C.L.H.P. des caroténoïdes de purée flash-détente de fruit de la passion.	83
57	Spectres d'absorbance du <i>all-trans</i> - $\beta$ -carotène (A, $\lambda_{\max} = 454$ nm) et du composé identifié comme tel (B, $\lambda_{\max} = 454$ nm).	84
58	Spectres d'absorption du <i>all-trans</i> -lycopène (A, $\lambda_{\max} = 472$ nm) et du composé identifié comme tel (B, $\lambda_{\max} = 472$ nm).	84
59	Teneurs en caroténoïdes dans les jus et purées de fruit de la passion.	85
60	Concentrations des différentes classes de composés volatils dans les jus et purées de fruit de la passion selon la technique d'extraction.	86
61	Concentrations des composés d'arôme des jus, purées, et écorces de fruit de la passion et des eaux aromatiques.	88
62	Répartition massique relative des trois parties d'un citron (var. Vernas).	97
63	Caractéristiques physico-chimiques des produits.	98
64	Chromatogramme C.L.H.P. des flavonoïdes de purée de citron flash-détente.	101
65	Répartition relative des différentes classes de composés d'arôme dans les sacs à jus, l'albedo et le flavedo.	103
66	Concentration en différentes classes de composés d'arôme dans les jus et purées de citron.	105

**Liste des photos**

<b>Photo n°</b>		<b>Page</b>
1	Coupe transversale d'un fruit de la passion pourpre ( <i>Passiflora edulis</i> Sims.).	6
2	Extracteur à cônes convergents (d'après Casimir <i>et al.</i> , 1981).	6
3	L'extracteur ROZE-SCHOWB (d'après Huet, 1991b).	11
4	Pilote expérimental de flash-détente® (Aurore Développement, Ile de la Réunion).	47
5	Chambre de chauffe et trémie d'alimentation du pilote semi-industriel de flash-détente® (Fabbri S.A., France).	47
6	Vis à injection de vapeur du pilote semi-industriel de flash-détente® (Fabbri S.A., France).	47
7	Chambre de détente et condenseur du pilote semi-industriel de flash-détente® (Fabbri S.A., France).	47
8	Raffineuse Auriol type PH3 (Auriol, Marmande, France).	49
9	Extracteur de jus d'agrumes (SANTOS, Espagne).	49
10	Appareil d'hydrodistillation Clevenger.	68
11	Système de distillation/extraction simultanée (d'après Nickerson et Likens, 1964).	66
12	Potter Elvehjem.	66
13	Coupe transversale d'un fruit de la passion pourpre ( <i>Passiflora edulis</i> Sims.).	70
14	Jus «natif» de fruit de la passion (A), et purées étuvée (B) et flash-détente® (C).	81
15	Vue générale d'une section d'écorce de fruit de la passion natif après coloration au réactif de Schiff/Naphtol Blue Black (A, grossissement 58 fois; B, grossissement 145 fois).	91
16	Vue générale d'une section d'écorce de fruit de la passion étuvé après coloration au réactif de Schiff/Naphtol Blue Black (A, grossissement 58 fois; B, grossissement 145 fois).	91
17	Vues de l'endocarpe de fruit de la passion étuvé (A) et d'un granule l'amidon empesée (B) après coloration au réactif de Schiff/Naphtol Blue Black (grossissement 145 fois).	91
18	Vue générale d'une section d'écorce de fruit de la passion flash-détente après coloration au réactif de Schiff/Naphtol Blue Black (A, grossissement 58 fois; B, grossissement 145 fois).	91
19	Purée flash-détente® de mangue (cv. Amélie) avant raffinage.	92
20	Coupe longitudinale d'une mangue.	92
21	Purées de mangue (var. Amélie) : (A) native, (B) flash-détente®.	95
22	Jus «natif» (A) et purée flash-détente® (B).	98

## ANNEXE II

### REACTIFS UTILISES EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE

#### Préparation du fixateur

- *Paraformaldéhyde 10 % - caféine 5%*

2 g de paraformaldéhyde sont dispersés dans 20 ml d'eau bi-distillée, puis la dispersion est chauffée à 60–65 °C jusqu'à dissolution complète. Quelques gouttes de soude (1 N) sont ajoutées pour limpidifier le milieu. Après refroidissement, la caféine (1 g) est ajoutée pour précipiter les polyphénols sous forme de gouttelettes.

- *Fixateur proprement dit*

50 ml de tampon phosphate (0,2M pH 7,2), 20 ml de paraformaldéhyde-caféine, 2 ml de glutaraldéhyde (solution à 50 %) et 28 ml d'eau distillée sont soigneusement homogénéisés.

#### Préparation de la résine d'inclusion

500 ml de résine Technovit 7100 (Kulzer), 5 g d'initiateur (poudre), 2 ml d'éthylène glycol diméthacrylate et 10 ml de PEG 400 sont homogénéisés. Le PEG 400 ajouté permet d'obtenir une résine plus tendre.

#### Préparation des réactifs de coloration

- *acide périodique* à 1 % dans de l'eau distillée,

- *réactif de Schiff* : 1 g de pararosaniline (Sigma) est dissout dans 200 ml d'eau bouillante. Après refroidissement à 50 °C, le milieu est filtré. 2 g de métabisulfite de sodium anhydre et 20 ml d'acide chlorhydrique (1 N) sont mélangés à 30 °C. Après 24 h dans un flacon hermétique et à l'obscurité, 0,5 g de charbon actif sont ajoutés puis le milieu est rapidement filtré. Cette solution doit être conservée à l'abri de la lumière même pendant son utilisation.

- *eau sulfureuse*: 5 ml de métabisulfite de sodium à 5 %, 5 ml d'acide chlorhydrique 1 N et 90 ml d'eau distillée sont mélangés,

- *naphthol blue black* (Sigma) : 1 g de naphthol blue black est dilué dans 7 ml d'acide acétique et 100 ml d'eau distillée.

### **ANNEXE III. PUBLICATIONS.**

**«Preparation of passion fruit puree by flash vacuum-expansion» 2001.**

P. Brat, D. Ollé, M. Reynes, P.O. Cogat et J.-M. Brillouet.

*Journal of Food Science*, 66, 542-547.

# Preparation of Passion Fruit Puree by Flash Vacuum-Expansion

P. BRAT, D. OLLE, M. REYNES, P.-O. COGAT, AND J.-M. BRILLOUET

**ABSTRACT:** Purple passion fruit were processed by flash vacuum-expansion in comparison with a single-strength juice. A puree was obtained with about 50% / fruit weight yield, which is 2-fold that obtained for the reference juice. Color and cell-wall polysaccharides of the products were analyzed, and their rheological properties were investigated. The red-purple puree was enriched in anthocyanins and alcohol-insoluble residue. The puree had higher consistency and viscosity, which was related to its alcohol-insoluble residue and starch contents.

**Key Words:** purple passion fruit, vacuum-expansion, puree, cell walls, viscosity

## Introduction

FLASH VACUUM-EXPANSION IS A PROCESS in which plant materials are 1st steam-heated to 60 to 90 °C then instantly introduced in a vacuum chamber (2 to 5 kPa) where they expand or disaggregate due to formation of micro-channels inside the tissues and instantaneous evaporation of constitution water (Cogat 1994, 1995). Steam heating induces a thermal denaturation of endogenous oxidases, while the whole process, performing with absence of oxygen, prevents oxidation and subsequent browning of the products. Today it is increasingly used as a pretreatment of grapes before fermentation (Ageron and others 1995) or for production of tomato puree. Processed materials (that is, wine) have a higher content in total solids and are more colored than products obtained by traditional processes (that is, blanching and crushing). However, to our knowledge, no detailed study was ever conducted to characterize precisely the effects of the process on biochemical constituents of fruit.

With the aim of developing new intermediate food products, our objective was to investigate the effects of flash vacuum-expansion on purple passion fruit with emphasis on cell-wall polysaccharides, color, and rheological behavior of processed products. Since the process includes 2 consecutive steps (steam-heating and vacuum-expansion), we investigated the specific effect of expansion in contrast to heating by characterizing the products from steam-heated fruit and steam-heated/vacuum-expanded fruit.

## Materials and Methods

### Fruit

Sound, mature purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) ( $31.8 \pm 10.2$  g;  $n = 40$ ) were air freighted from Kenya, and upon arrival 3 batches (10 kg) were selected.

### Flash Vacuum-Expansion Equipment

It consisted of a cylindrical stainless-steel steam-heating chamber ( $\phi = 12$  cm;  $h = 24$  cm;  $v = 2.7$  L, Figure 1) fed at normal pressure with a water-steam generator and coupled through a manual pneumatic valve ( $10^3$  kPa; opening time 0.5 s) to a cylindrical quartz vacuum vessel ( $\phi = 30$  cm;  $h = 48$  cm;  $v = 34$  L) where vacuum (3 kPa) is generated by a vacuum pump cooled by a closed water circuit connected to a condenser. Steam-heating liquors, generated by condensation of steam on the fruit and by exudation of some inner juice, are collected at the base of the steam-heating chamber. Aromatic liquors, generated by the instantaneous evaporation of water and volatiles, are collected after passage on a plate exchanger.

### Preparation of Passion-Fruit Purees

A reference passion-fruit juice was prepared as follows: Fruit were cut in half with a knife and introduced into a rotating pulper (Auriol, Marmande, France) equipped with a 1-mm screen. In order to determine the mass balance (fresh and dry matters) for each step of the flash vacuum-expansion process (steam-heating then vacuum-expansion), 2 experiments were performed:

(1) fruit (1 kg) were placed in the steam-heating chamber and heated for 10 min (final temperature = 85 °C); steam-heated fruit and steam-heating liquors were recovered. (2) Fruit (1 kg) were heated in the steam-heating chamber for 10 min then introduced in the vacuum vessel at 3 kPa; vacuum-expanded fruit, steam-heating liquors, and aromatic liquors were recovered. Purees were then prepared by pulping steam-heated and vacuum-expanded fruit. Finally, an aliquot of refined vacuum-expanded puree (100 g) was added with its corresponding volume fraction of aromatic liquors (10 mL) and thoroughly mixed.

### Preparation of Alcohol-Insoluble Residues

Alcohol-insoluble residues were prepared as follows: Ethanol (400 mL) was added to aliquots of reference juice and purees (100 g), and after thorough mixing, the slurry was boiled for 30 min then filtered on a sintered glass crucible (porosity  $n^\circ 4$ ). The residue was then washed successively with (ethanol/water, 80:20) (200 mL), ethanol (100 mL), acetone (100 mL), and ether (50 mL). Finally, the residue was dried (24 h) in a vacuum oven (50 °C) and weighed.

Starch was removed from the alcohol-insoluble residues according to Brillouet and others (1988): Briefly, alcohol-insoluble residue (10 g) was cryomilled in liquid nitrogen with a Dangoumill 300 freezer-mill (Prolabo, Paris, France) for 5 min (top impact frequency) then dispersed in 90% dimethylsulfoxide (120 mL) at 100 °C and stirred for 30 min. Boiling 0.1M acetate buffer (pH 5.0; 240 mL) was then added followed by 200  $\mu$ L of heat-stable type

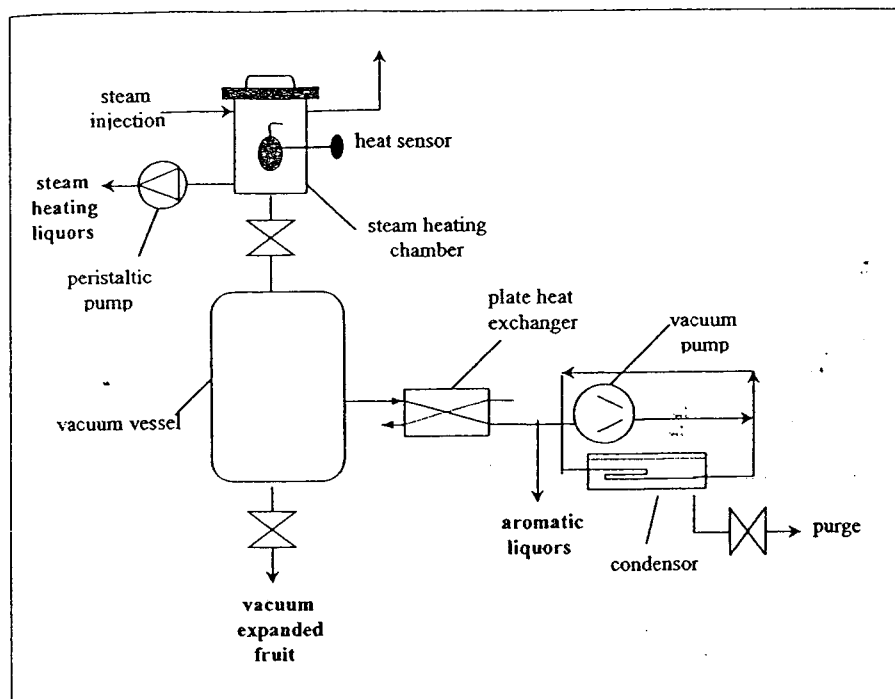


Figure 1—Schematic of flash vacuum-expansion process

XII-A  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* (382  $\mu$ Kat/mL, pH 6.9, 20 °C; Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., U.S.A.). After incubation for 15 min at 100 °C, the mixture was cooled to 40 °C, and 1 mL of AMG 400L type LP amyloglucosidase from *Aspergillus niger* (13  $\mu$ Kat/mL, pH 4.3, 25 °C; Novo-Nordisk, Denmark) was added to the medium. Then the mixture was incubated with stirring for 2 h at 40 °C and centrifuged (18500  $\times$  g; 10 min). After addition of 4 vol of ethanol, destarched alcohol-insoluble residue was recovered as above.

#### Isolation of Water-Soluble Polysaccharides (WSPs)

Destarched alcohol-insoluble residues (10 g) were stirred for 45 min at room temperature in 500 mL distilled water adjusted to pH 4.0 with 0.1N HCl after centrifugation (18500  $\times$  g; 10 min); the pellet was washed with 250 mL water and centrifuged in the same conditions. Both supernatants were pooled and added with 4 vol of ethanol. Precipitated polysaccharides were recovered by filtration on a sintered glass crucible then freeze-dried.

#### High-Performance Size-Exclusion Chromatography

The molecular size distribution of WSPs was examined by high-performance size-exclusion chromatography using an OHPak SB-804 HQ Shodex col-

umn (300  $\times$  8 mm) (Showa Denko, Showa Denko Co. Ltd., Japan) eluted with 0.1M LiNO<sub>3</sub> at 0.45 mL/min from a Spectra-SYSTEM P1000XR pump (Thermo Separation Products, San Jose, Calif., U.S.A.) with online refractive index detection (Shodex RI-71 detector thermostated at 25 °C). Calibration was performed with narrow pullulan molecular-weight standards (P-5,  $M_w$  = 5 800; P-10,  $M_w$  = 12 200; P-20,  $M_w$  = 23 700; P-50,  $M_w$  = 48 000; P-100,  $M_w$  = 100 000; P-200,  $M_w$  = 186 000; P-400,  $M_w$  = 380 000; P-800,  $M_w$  = 853 000; Showa Denko)

#### Analytical Methods

Soluble solids ("Brix") were determined with a hand refractometer at room temperature. The pH was measured by a pH meter (pH-Vision 6071, Jenco Elec. Ltd., Taiwan), and total acidity was determined by titration with 0.1M NaOH. Total solids were determined by drying sample (2 g) for 3 h at 60 °C then for 24 h in a vacuum oven at 50 °C. Fisher's least significant difference (LSD) at  $P < 0.05$  was used to compare sample means.

Neutral monosaccharides were released from destarched alcohol-insoluble residues (5 mg) by hydrolysis with 2M trifluoroacetic acid for 75 min at 120 °C (Albersheim and others 1967). They were also submitted to Saeman hydrolysis as described by Hoebler and others (1989), that is, 72% (w/w) sulfu-

ric acid, 25 °C, 45 min, then 1M sulfuric acid, 100 °C, 2 h. Sugars were then derivatized into their alditol acetates (Blakeney and others 1983) and analyzed by gas chromatography according to Hoebler and others (1989), with inositol as internal standard. Uronic acids were measured without desterification after preliminary dissolution in concentrated sulfuric acid by the *m*-phenylphenol procedure (Blumenkrantz and Asboe-Hansen 1973; Ahmed and Labavitch 1977). Proteins ( $N \times 6.25$ ) were determined by a micro-Kjeldahl procedure (Bietz 1974).

Color of the samples (L, a, b) was determined using a Minolta CR-300 chromameter according to Askar and Trepow (1993).

Anthocyanins were estimated as described by Wrolstad (1976): Briefly, sample (20 g) was added to 80 mL of either HCl-KCl buffer (0.2M, pH 1.0) or acetate-HCl buffer (1M, pH 4.5), and after thorough mixing with a blender, the mixture was centrifuged (7000  $\times$  g; 10 min). After appropriate dilution with the 2 buffers, absorbancies were measured at 510 nm. After subtraction of absorbancies due to turbidity ( $\lambda$  700 nm), the anthocyanin concentration was calculated with the following equation:

$$\text{Anth} = (A \times 10^3 \times MW \times d) / \epsilon$$

where: Anth: anthocyanin concentration (mg/L); A: difference of absorbancies at 510 nm at pH 1.0 and pH 4.5 (after correction for turbidity); MW: molecular weight of cyanidin-3-glucoside (major anthocyanin in purple passion fruit) = 445.2;  $\epsilon$ : molar absorbance of cyanidin-3-glucoside = 29.600; d: dilution factor.

Intrinsic viscosities ( $[\eta]_{\text{int}}$ ) of WSPs in 0.155M NaCl were determined at 25 °C with an automatic Schott Geräte AVS 400 viscometer (Schott Geräte GmbH, Hofheim, Germany) (flow time of the solvent 90 s).

#### Rheological Measurements

Consistency was measured with a Bostwick consistometer at 20 °C by measuring the distance (cm) product flowed in 30 s (Takada and Nelson 1983). Apparent viscosity ( $\eta_a$ ) of the purees was measured at 25 °C in a glass beaker (50 mL) using a Haake VT500 viscometer (Haake Inc., Saddle Brook, N.J., U.S.A.) with the star-shaped FL 100 sensor system (Haake Inc.) ( $f = 564$ ,  $M = 0.209$ ) at a shear rate ( $d\gamma/dt$ ) of 2.09 s<sup>-1</sup>. Yield stress ( $\tau_0$ ) was determined

**Table 1—Some characteristics of passion-fruit processed purees**

	Sample			
	Reference juice	Steam-heated puree	Vacuum-expanded puree	Vacuum-expanded puree + aromatic liquors
Total solids (%/fresh weight)	17.02 ± 0.27	16.23 ± 0.24	16.47 ± 0.25	14.94 ± 0.22
Soluble solids (%/fresh weight)	14.51 ± 0.29	13.02 ± 0.22	13.05 ± 0.24	11.84 ± 0.19
pH	3.22 ± 0.01	3.60 ± 0.02	3.81 ± 0.02	3.80 ± 0.02
Titrateable acidity <sup>b</sup> (%/fresh weight)	2.84 ± 0.05	2.22 ± 0.04	2.02 ± 0.04	1.84 ± 0.04
Color				
L	54.30	35.86	32.90	33.59
a	5.18	12.92	16.46	14.03
b	31.38	10.44	8.94	7.60
Anthocyanins (mg/L)	3.91 ± 0.05	23.81 ± 0.32	45.72 ± 0.57	42.73 ± 0.46

<sup>a</sup> Significance of differences was defined at  $p < 0.05$ .<sup>b</sup> Expressed as anhydrous citric acid**Table 2—Yield and composition of alcohol-insoluble residues**

	Sample		
	Reference juice	Steam-heated puree	Vacuum-expanded puree
Alcohol-insoluble residue (%/fresh weight)	3.2	4.8	6.3
Starch in alcohol-insoluble residue (%/dry weight)	80.2	53.1	37.2
Destarched alcohol-insoluble residue (%/fresh weight)	0.6	2.3	3.9
Composition of destarched alcohol-insoluble residue (%/dry weight)			
Uronic acids <sup>a</sup>	4.2	22.6	25.0
Neutral noncellulosic polysaccharides <sup>b</sup>	9.3	14.8	16.8
Cellulose <sup>c</sup>	5.0	23.4	35.5
Proteins (N x 6.25)	69.0	26.0	16.3
Uronic acids <sup>d</sup>	20.5	34.3	29.7
Rhamnose <sup>d</sup>	1.2	1.3	1.1
Fucose <sup>d</sup>	1.2	1.1	1.0
Arabinose <sup>d</sup>	10.4	4.7	4.0
Xylose <sup>d</sup>	7.2	8.5	9.8
Mannose <sup>d</sup>	3.7	1.3	1.2
Galactose <sup>d</sup>	23.3	8.2	6.1
Glucose (non-cellulosic) <sup>d</sup>	5.8	2.0	1.3
Glucose (cellulosic) <sup>d</sup>	26.5	38.6	45.8

<sup>a</sup> Expressed as "anhydrogalacturonic acid."<sup>b</sup> Neutral polysaccharides obtained by hydrolysis with diluted acid (TFA or sulfuric acid) and GC of the alditol acetates and expressed as sum of "anhydrosugars."<sup>c</sup> Glucose obtained by difference between Saeman and dilute acid hydrolyses<sup>d</sup> Mole % of constituent monosaccharides

by increasing shear rate from 1 to 50 s<sup>-1</sup> and plotting shear stress ( $\tau$ ) against shear rate. Two mathematical models (Midoux 1993) were tested to describe the behavior of the different fluids: Herschel-Bulkley ( $\tau = K(d\gamma/dt)^n + \tau_0$ ) and Casson ( $\tau^{0.5} = K(d\gamma/dt)^{0.5} + \tau_0^{0.5}$ ). None of these models correctly described the rheological behavior of the products. Thus, yield stresses ( $\tau_0$ ) were estimated by tangential extrapolation with shear stress axis.

Model dispersions of initial and destarched alcohol-insoluble residues were obtained by dispersing residues in water containing 12% sucrose (50 mL) at their respective concentrations in the corresponding purees. Apparent viscosity was measured as above.

### Results and Discussion

**PURPLE PASSION FRUIT** (*PASSIFLORA edulis* Sims) is composed of a thin, hard exocarp; a thin, purple mesocarp layer; a white, spongy endocarp surrounding an orange-yellow, pulpy, juicy, edible aril containing seeds (Figure 2). Passion-fruit juice, a highly aromatic product, is usually obtained from the aril portion, after cutting the fruit, by scooping out the pulp and separating out the seeds either by sieving or expression through a cloth (Chan 1993).

### Yields

Mass balances along the process were satisfied within 3% to 5%. The lowest yield (26%/fruit weight) was obtained for reference juice, a value similar to that obtained by Casimir and others (1981) using a converging cone extractor and a brush finisher. Both steam-heating and steam-heating/vacuum-expansion gave (about 2×) higher yields of refined puree, 48% and 49%,

respectively. After reincorporation of aromatic liquors in the refined vacuum-expanded puree, yield reached 54%. Thus, both treatments softened and partly disintegrated the fruit rind, which then passed the refining screen in an amount equivalent to the juice. It must be noted that aroma of both steam-heated and vacuum-expanded purees were pleasant and different from that of the reference juice.

### Chemical Composition of Juice and Purees

Soluble solids and titrateable acidity of both steam-heated and vacuum-expanded purees were lower than those of the reference juice, while pH was higher (Table 1). This could be explained by a (about 2×) dilution of the inner juice from the aril by the rind (endocarp and mesocarp) of the fruit. Indeed, separate measurements on a rind puree gave: sol-

**Table 3—Yield and composition of water-soluble polysaccharides**

	Sample		
	Reference juice	Steam-heated puree	Vacuum-expanded puree
Non-starchy water-soluble polysaccharides (%/fresh weight)	0.1	0.6	0.9
Composition of non-starchy water-soluble polysaccharides (%/dry weight)			
Uronic acids <sup>a</sup>	28.0	63.2	68.3
Neutral non-cellulosic polysaccharides <sup>b</sup>	25.8	8.5	6.6
Proteins (N x 6.25)	—	12.4	10.7
Methanol <sup>c</sup>	2.0 (40.1)	9.9 (86.5)	9.9 (79.7)
Uronic acids <sup>d</sup>	48.7	86.4	89.9
Rhamnose <sup>d</sup>	1.5	1.0	1.3
Fucose <sup>d</sup>	0.5	0.1	0.2
Arabinose <sup>d</sup>	9.8	2.8	2.0
Xylose <sup>d</sup>	3.2	1.7	0.8
Mannose <sup>d</sup>	5.9	1.0	0.9
Galactose <sup>d</sup>	25.8	5.6	3.7
Glucose <sup>d</sup>	4.5	1.2	1.2
$\eta$ (mL/g)	—	111	127

<sup>a</sup> Expressed as «anhydrogalacturonic acid».<sup>b</sup> Neutral polysaccharides obtained by hydrolysis with diluted acid (TFA or sulfuric acid) and GC of the alditol acetates and expressed as sum of «anhydrosugars».<sup>c</sup> Values in parentheses are the degrees of methylation (dm) calculated as the molar ratio of methanol against «anhydrogalacturonic acid».<sup>d</sup> Mole % of constituent monosaccharides.

uble solids 12%/fresh weight (fw), pH 4.82, and titratable acidity 0.60%/fw.

Anthocyanin determination was carried out with cyanidin-3-glucoside as reference because it is the major anthocyanin of the purple passion fruit (Macheix and others 1990). As expected, the orange-yellow reference juice had a

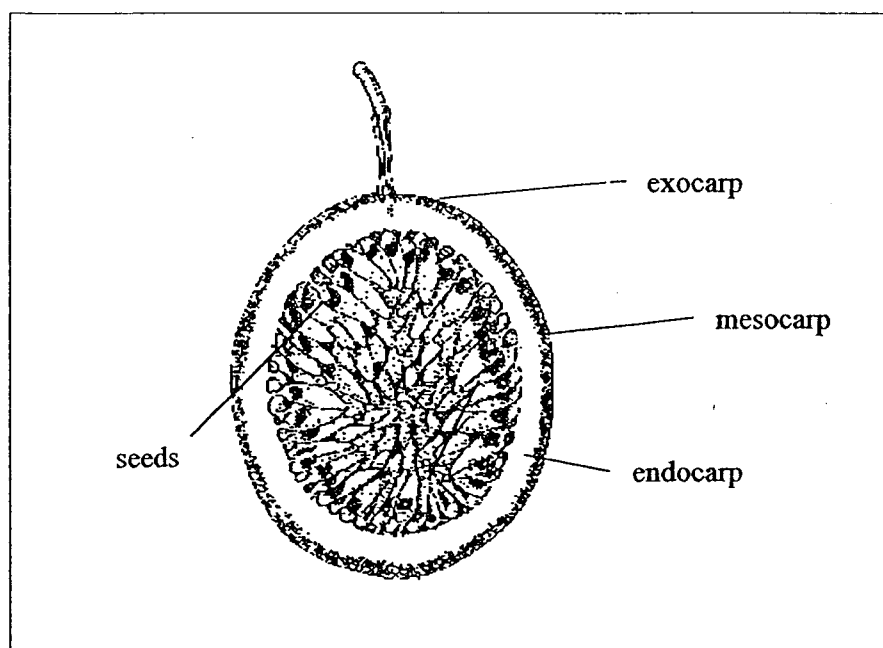
very low content (Table 1) since the mesocarp containing most of anthocyanins was not disintegrated by the pulping step. The steam-heating treatment softened the outer portion of the fruit; thus, part of the mesocarp was recovered in the orange-red puree. The specific effect of the flash vacuum-expan-

sion step was evidenced by the higher content of the red-purple vacuum-expanded puree than that obtained from steam-heated fruit. In agreement with previous reports (Cogat 1994, 1995), the vacuum-expansion must loosen the tissue cohesion by creating microchannels, thus separating cells at their cell-wall level and facilitating extraction of color.

The single-strength juice had high L and b values (Table 1), indicating a clear and yellow appearance as usually observed (Casimir and others 1981). The orange-yellow color of passion-fruit juice is due to carotenoids, mostly  $\beta$ -carotene (Nakasone and Paull 1998) located in the aril portion of the fruit. Pulping by itself did not degrade the purple mesocarp. The purees from steam-heating or flash vacuum-expansion exhibited higher a values and lower L and b values than the reference juice, with respectively orange-red and red-purple appearance.

The pulp contents (360 x g; 10 min) of steam-heated and vacuum-expanded purees were not measurable due to their high consistency; it was 32% for the reference juice. Thus, alcohol-insoluble residues were prepared from the different products. Because mature passion fruit is known to contain some starch (Pruthi 1958), alcohol-insoluble residues were also enzymatically destarched, and their respective levels are given in Table 2. The reference juice had, as expected, the lower content in both residues, while their levels increased from the steam-heated to the vacuum-expanded purees. Again, partial disintegration of the outer portion of the fruit explained this increase in alcohol-insoluble residues that included cell walls. The specific effect of the flash vacuum-expansion against the steam-heating is again evidenced by about 30% and about 70% respective increases in alcohol-insoluble and destarched alcohol-insoluble residue contents.

Destarched alcohol-insoluble residues were analyzed for cell-wall polysaccharides and proteins (Table 2). Residue from the reference juice was contaminated by a high proportion of alcohol-precipitated soluble proteins; indeed, the juicy portion of the fruit contains about 2% proteins (Purseglove 1974). The polysaccharidic moiety of the residues had a typical cell-wall composition with dominant proportions of uronic-acid-containing polysaccharides and cellulose followed by decreasing amounts of xylose, galactose, arabinose, noncellulosic glucose, and minute pro-

**Figure 2—Cross-section of passion fruit**



**Table 4—Rheological characteristics of passion-fruit processed products**

	Sample			
	Reference juice	Steam-heated puree	Vacuum-expanded puree	Vacuum-expanded puree + aromatic liquors
Bostwick consistency (cm in 30 s)	—	6.0	1.7	3.7
Apparent viscosity (Pa.s)	2.4 ± 0.3	33.0 ± 1.4	54.8 ± 4.1	45.2 ± 1.5
Yield stress (Pa)	2.1 ± 0.3	72.8 ± 2.1	188.7 ± 11.7	103.6 ± 5.2
Reconstituted puree				
Alcohol insoluble residue (%/fresh weight)	3.2	4.8	6.3	—
Apparent viscosity (Pa.s)	2.4 ± 0.3	19.1 ± 0.8	51.0 ± 3.7	—
Destarched alcohol insoluble residue (%/fresh weight)	0.6	2.3	3.9	—
Apparent viscosity (Pa.s)	—	6.5 ± 0.4	38.2 ± 2.4	—

<sup>a</sup> Significance of differences was defined at  $p < 0.05$ .

portions of rhamnose and fucose. The residue from the reference juice had a composition very different from the 2 others, having relatively lower proportions of uronic acids and cellulose and much higher proportions of arabinose

and galactose. The residue from the vacuum-expanded puree was richer in cellulose and xylose-containing polysaccharides and poorer in uronic-acid-containing polysaccharides than that from the steam-heated puree. Other neutral sugars

were present in similar proportions.

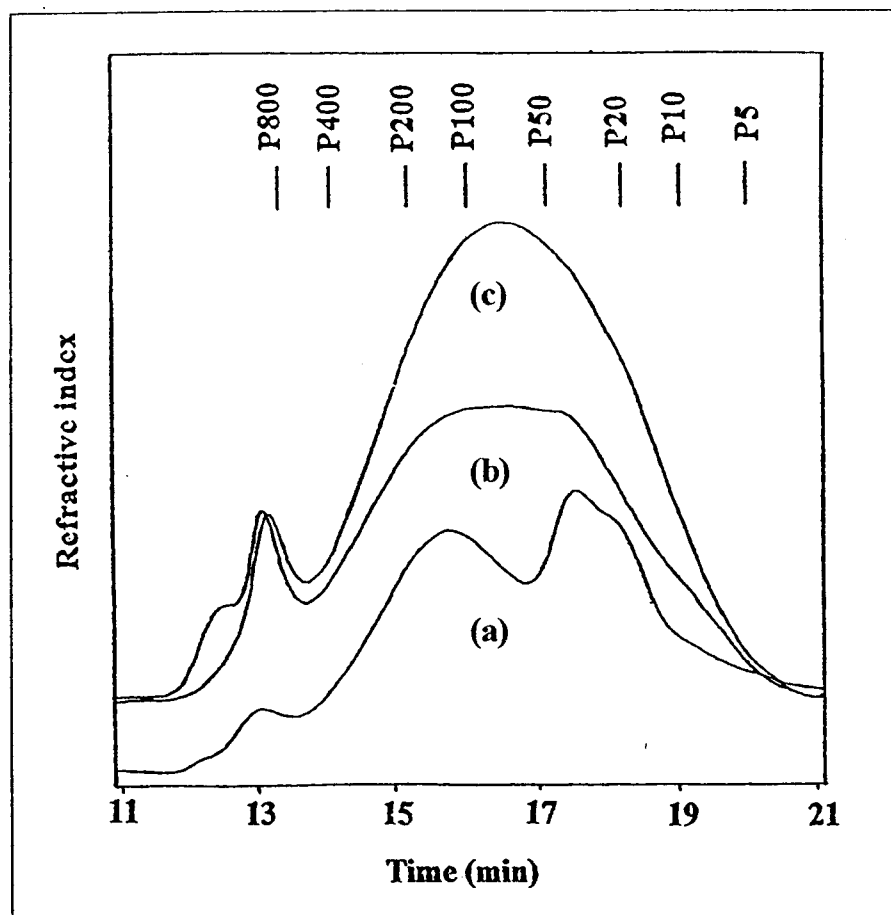
Thus the specific effect of the flash vacuum-expansion step against the steam-heating step is again evident. It is possible that the vacuum-expansion provokes disintegration of additional tissues, richer in cellulose and xylose-containing polysaccharides, with regards to the steam-heating only. A separate analysis of cell walls from endocarp and mesocarp (exocarp was not damaged) would be needed to ascertain this hypothesis.

Water-soluble polysaccharides (WSPs) were extracted from the destarched alcohol-insoluble residues with water at ambient temperature. Again, their levels increased from reference juice to vacuum-expanded puree (Table 3). They represented, respectively, 26% and 23% of the destarched alcohol-insoluble residues from steam-heated and vacuum-expanded purees. According to their polysaccharide composition, WSPs from steam-heated and vacuum-expanded purees are mainly pectic substances with dominant proportions of galacturonic acid highly esterified by methanol. Associated neutral polysaccharides have similar relative compositions. Again, WSPs from the reference juice have a different composition with, as observed in destarched alcohol-insoluble residues, a lower relative level in galacturonic acid and much higher proportions of arabinose and galactose. The molecular size distribution of different WSPs was examined by high performance size exclusion chromatography (Figure 3); WSPs from steam-heated and vacuum-expanded purees were similar, while WSPs from the reference juice were richer in lower molecular-weight populations. Intrinsic viscosities of WSPs from steam-heated and vacuum-expanded purees were similar.

#### Rheological Characteristics

Consistencies of the purees were measured with a Bostwick consistometer (Table 4). The consistency of the puree from the flash-expanded fruit was more than 3-fold higher than that of the puree from steam-heated fruit. This increase cannot be explained by the concentration due to the vacuum-expansion (loss of about 10% of water) because, even after reincorporation of aromatic liquors, the consistency was still far higher than after simple steam-heating.

Apparent viscosity (Table 4) increased similarly to the consistency: Vacuum-expanded puree exhibited higher viscosity than steam-heated puree and also after reincorporation of



**Figure 3—HPSEC profile of water-soluble polysaccharides (a: reference juice, b: steam-heated puree, c: vacuum-expanded puree) on a Shodex OHpak SB-804 HQ column in 0.1M LiNO<sub>3</sub>. Elution times of pullulan standards (P5 → P800) are also shown.**

aromatic liquors. Purees from vacuum-expanded fruit, even with reincorporation of aromatic liquors, had far higher yield stresses than the puree from steam-heated fruit (Figure 4). Yield stress of vacuum-expanded puree was similar to peach puree (Lozano and Ibarz 1994). The different fluids had a shear-thinning non-Newtonian behavior and were pseudoplastic and non-thixotropic.

Because starch was gelatinized during the steam-heating step, the influence of the level in alcohol-insoluble residues and in their starch contents on the apparent viscosity of the purees was studied by reconstituting model dispersions of the residues in water-sucrose mixture. Apart from the puree from the steam-heated fruit, a good agreement was found between apparent viscosities of native purees and purees reconstituted with alcohol-insoluble residues. After destarching, the viscosity of the steam-heated and vacuum-expanded reconstituted purees decreased by about 65% and 25%, respectively. Thus,

the viscosity of vacuum-expanded passion-fruit puree is mainly due to (about 75%) its destarched alcohol-insoluble residue content.

### Conclusions

THE FLASH VACUUM-EXPANSION PROCESS, when applied to purple passion fruit, extends its possible uses by giving a new intermediate food product, a vacuum-expanded puree, with a 2-fold yield as compared to the single-strength juice. The high viscosity of the puree is related to its content in destarched alcohol-insoluble residue. More work is needed to characterize aroma compounds of this product in comparison with the juice itself.

### References

- Ageron D, Escudier JL, Abbal P, Moutounet M. 1995. Prétraitement des raisins par flash détente sous vide poussé. *Revue Française d'Œnologie* 153:50-53.
- Ahmed AER, Labavitch JM. 1977. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. *J Food Biochem* 1:361-365.
- Albersheim P, Nevins DJ, English PD, Karr A. 1967. A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydr Res* 16:127-150.
- Askar A, Treptow H. 1993. Measurement of colour. In: Askar A, Treptow H, editors. *Quality assurance in tropical fruit processing*. Berlin, Germany: Springer-Verlag. p 57-60.
- Bietz JA. 1974. Micro-Kjeldahl analysis by an improved automated ammonia determination following manual digestion. *Anal Chem* 46:1617-1618.
- Blakeney AB, Harris PJ, Henry RJ, Stone BA. 1983. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr Res* 113:291-299.
- Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal Biochem* 54:484-489.
- Brillouet JM, Rouau X, Hoebler C, Barry JL, Carré B, Lorta E. 1988. A new method for determination of insoluble cell walls and soluble nonstarchy polysaccharides from plant materials. *J Agric Food Chem* 36:969-979.
- Casimir DJ, Kefford JF, Whitfield FB. 1981. Technology and flavor chemistry of passion fruit juices and concentrates. *Adv Food Res* 27:243-295.
- Chan HTJR. 1993. Passion fruit, papaya and guava juices. In: Nagy S, Chen Shaw PE, editors. *Fruit juice processing technology*. Auburndale, Fla: Agscience. p 334-377.
- Cogat PO, inventor: Aurore Développement, assignee. 1994 Jun 16. Installation pour le traitement de matières biologiques hydratées. European patent, EP 0.727.948 B1, n° PCT/FR94/01297, European Patent Office, Munich, Germany.
- Cogat PO, inventor: Aurore Développement, assignee. 1995 Apr 8. Appareillage continu pour désaérer, chauffer, maintenir en température, refroidir sous vide des matières organiques solides. French patent, FR 2.656.547, n° 8917414, INPI, Paris.
- Hoebler C, Barry JL, David A, Delort-Laval J. 1989. Rapid acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 37:360-367.
- Lozano JE, Ibarz A. 1994. Thixotropic behaviour of concentrated fruit pulps. *Lebensm-Wiss u-Technol* 27:16-18.
- Macheix JJ, Fleuriot A, Billot J. 1990. Anthocyanic pigments. In: Fleuriot A, Billot J, Macheix JJ, editors. *Fruit phenolics*. Boca Raton, Fla: CRC Press Inc. p 41-57.
- Midoux N. 1993. Modes d'études des écoulements réels. In: Midoux N, editor. *Mécanique et rhéologie des fluides*. Paris, France: Tec & Doc, Lavoisier. p 123-243.
- Nakasono HY, Paull RE. 1998. Passion fruit. In: Nakasono HY, Paull RE, editors. *Tropical fruits*. Wallingford, U.K.: CAB International. p 270-291.
- Pruthi JS, Lal G. 1958. Carotenoids in passion fruit juice (*Passiflora edulis*). *Food Res* 23: 505.
- Purseglove JW. 1974. *Passifloraceae*. In: Purseglove JW, editor. *Tropical crops dicotyledons*. London: Longman. p 420-429.
- Takada N, Nelson PE. 1983. A new consistency method for tomato products: The precipitate weight ratio. *J Food Sci* 48:1460-1462.
- Wroldstad RE. 1976. Color and pigment analysis in fruit products. *Cornwallis, Ore.: State Bulletin 624 of Agricultural Experiment Station, Oregon State Univ.*

MS 20000224

Thanks to P. Bohuon (CIRAD-AMIS, Montpellier, France) for help in rheological measurements and to the Conseil Régional Région Réunion (France) for Doctoral scholarship (n° 21700).

Authors Brat, Ollé, Reynes, and Brillouet are with the Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Département FLHOR, Montpellier, F-34398, France. Author Cogat is with Aurore Développement, BP 195, Saint-Pierre (Réunion), F-97455, France. Direct correspondence to J.-M. Brillouet (E-mail: brillouet@cirad.fr).

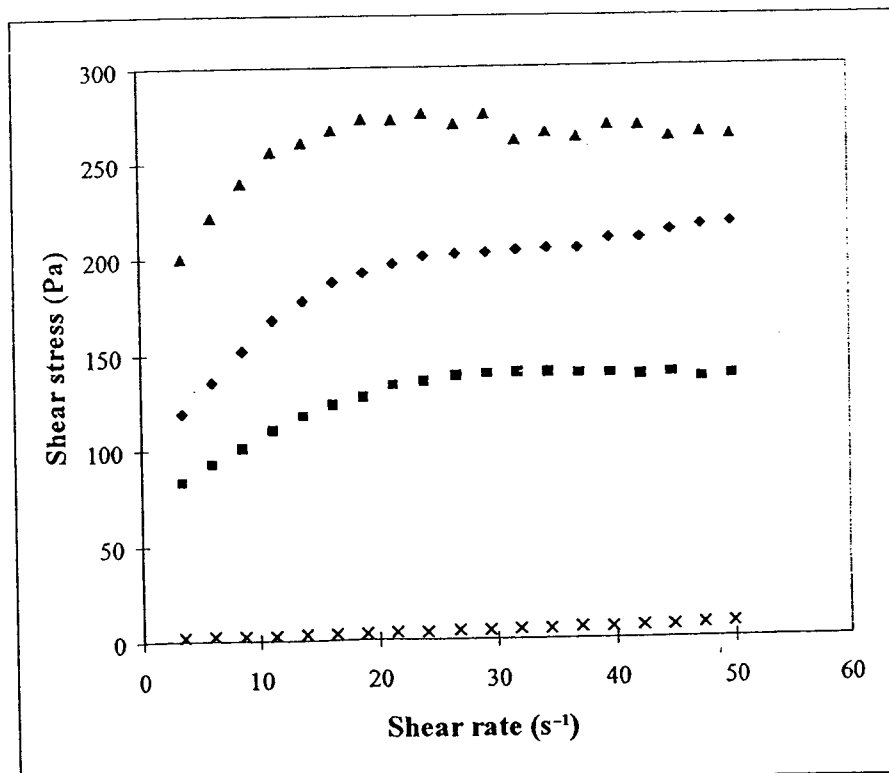


Figure 4—Influence of shear rate (s<sup>-1</sup>) on shear stress (Pa): (x) reference juice, (■) steam-heated puree, (Δ) vacuum-expanded puree, (◆) vacuum-expanded puree + aromatic liquors

**«Free volatile components of passion fruit puree obtained by flash  
vacuum-expansion» 2000.**

P. Brat, J.-M. Brillouet, M. Reynes, P.O. Cogat et D. Ollé.

*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6210-6214.

## Free Volatile Components of Passion Fruit Puree Obtained by Flash Vacuum-Expansion

P. Brat,<sup>†</sup> J.-M. Brillouet,<sup>†</sup> M. Reynes,<sup>†</sup> P.-O. Cogat,<sup>‡</sup> and D. Ollé\*,<sup>†</sup>

Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD),  
Département FLHOR, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France, and Aurore Développement, B.P. 195,  
97455 Saint-Pierre (Réunion), France

Purple passion fruits were processed by the flash vacuum-expansion process. Volatile components were analyzed in purees from steam-heated fruits, steam-heated then vacuum-expanded fruits and their aromatic liquors, and fruit rind, in comparison with a reference single-strength juice. After steam heating, the puree was enriched in esters arising from the rind. Steam-heated then vacuum-expanded fruits yielded a puree impoverished in volatiles due to evaporation of  $\approx 10\%$  of water. These volatile compounds were mostly recovered in aromatic liquors.

**Keywords:** Purple passion fruit puree; flash vacuum-expansion process; volatile components; passion fruit rind

### INTRODUCTION

Flash vacuum-expansion is a process in which plant materials are first steam-heated to 60–90 °C, then instantly introduced in a vacuum chamber ( $\approx 2$ –5 kPa) where they expand and disaggregate because of formation of microchannels inside the tissues and instantaneous evaporation of some constitution water and volatile aroma components, which are recovered with a condenser as aromatic liquors (Cogat, 1993, 1995). Steam heating induces a thermal denaturation of endogenous oxidases, whereas the whole process, performed with the absence of oxygen, prevents oxidation and subsequent browning of the products.

Passion fruit (*Passiflora edulis*, Passifloraceae), a highly favored fruit because of its unique exotic flavor, is composed of a thin hard exocarp, a thin purple mesocarp layer, and a white spongy endocarp surrounding a pulpy juicy edible aril containing seeds (Brat et al., unpublished results). It is traditionally processed by squeezing the inner juicy aril yielding strongly flavored orange-yellow juice. To obtain new intermediate food products, we processed entire purple passion fruits by flash vacuum-expansion (Brat et al., unpublished results). After refining the vacuum-expanded fruits with a rotative pulper, a purplish puree of strong consistency was obtained, which was explained by its high content in cell wall material arising from partial disaggregation of the rind with subsequent liberation of anthocyanins from the mesocarp layer.

Several comprehensive studies of the volatile flavoring constituents of fresh purple passion fruit juice have been undertaken (Parliment, 1972; Casimir et al., 1981; Werkhoff et al., 1998). However, because the vacuum-expanded puree includes part of the rind, in addition to the juice itself, it was desirable to investigate the

aroma components of this new product. Moreover, because the flash vacuum-expansion process includes two consecutive steps, steam heating then vacuum-expansion, we characterized volatiles of purees separately from steam-heated and vacuum-expanded fruits, aromatic liquors generated by the vacuum-expansion, and a rind puree in comparison with a single-strength juice. Because Winterhalter et al. (1987) had already shown that the composition of a flavor extract depended on the extraction procedure, we tested three techniques for isolation of volatiles: liquid–liquid extraction, simultaneous distillation–extraction (Likens and Nickerson, 1964), and vacuum headspace method (Werkhoff et al., 1998).

### MATERIALS AND METHODS

**Fruits.** Sound mature purple passion fruits (*P. edulis*) ( $31.8 \pm 10.2$  g;  $n = 40$ ) were air-freighted from Kenya, and after a thorough mixing of the fruits, four batches (10 kg) were constituted.

**Flash Vacuum-Expansion Equipment.** The equipment consisted of a cylindrical stainless steel steam-heating chamber ( $r = 6$  cm;  $h = 24$  cm;  $v = 2.7$  L) fed at normal pressure with a water-steam generator and coupled through a manual pneumatic valve (1 MPa; opening time, 0.5 s) to a cylindrical quartz vacuum vessel ( $r = 15$  cm;  $h = 48$  cm;  $v = 34$  L) where vacuum (3 kPa) is generated by a vacuum pump cooled by a closed water circuit connected to a condenser (Brat et al., unpublished results). Steam-heating liquors, generated by condensation of steam on the fruits and by exudation of some inner juice, are collected at the base of the steam-heating chamber. Aromatic liquors, generated by the instantaneous evaporation of water and volatiles, are collected after passage on a plate exchanger.

**Preparation of the Samples. Reference Juice (Sample 1).** Fruits (2 kg) were cut in half with a knife and introduced in a rotating pulper (Auriol, Marmande, France) equipped with a 1-mm screen. Yield: 26% juice/fresh fruit weight.

**Steam-Heated Puree (Sample 2).** Fruits (2 kg) were placed in the steam-heating chamber and heated for 10 min (final temperature, 85 °C). Steam-heated fruits were recovered and refined as above (yield: 48% puree/fresh fruit weight), whereas steam-heating liquors were discarded.

\* Author to whom correspondence should be addressed (telephone 33(0)467615230; fax 33(0)467614433; e-mail olle@cirad.fr).

<sup>†</sup> CIRAD-FLHOR.

<sup>‡</sup> Aurore Développement.

**Vacuum-Expanded Puree.** Fruits (2 kg) were heated in the steam-heating chamber for 10 min, then introduced in the vacuum vessel at 3 kPa. Vacuum-expanded fruits (sample 3) (yield: 49% puree/fresh fruit weight) and aromatic liquors (sample 4) (yield: 10%/fresh fruit weight) were recovered. Vacuum-expanded fruits were refined further as above.

**Rind Puree (Sample 5).** After scooping out the pulp from fruits, rinds (2 kg) were steam-heated for 10 min, and then added with water (4 L). The mixture was thoroughly homogenized in a Waring Blender.

**Liquid-Liquid Extraction (LLE).** Sample (5 g) was mixed with 20 mL of distilled water; then isoamyl isobutanoate (60  $\mu$ g) was added as internal standard, followed by 30 mL of pentane/dichloromethane (2:1). The slurry was finally homogenized with a Potter-Elvehjem homogenizer for 5 min. Phase separation was achieved by centrifugation at 9000g for 5 min. The upper organic phase was recovered, dried over anhydrous sodium sulfate, and finally concentrated at 37 °C with a 25-cm Vigreux distillation column to a volume of 2 mL.

**Simultaneous Distillation-Extraction (SDE) at Atmospheric Pressure.** Sample (40 g) was mixed with 100 mL of distilled water; then isoamyl isobutanoate (130  $\mu$ g) was added as internal standard, and pH was adjusted to 7 with 1 M sodium hydroxide. The slurry was finally added to a 250-mL round-bottom flask and continuously extracted for 2 h with 15 mL of pentane/dichloromethane (2:1) at atmospheric pressure according to the procedure described by Lickens and Nickerson (1964). The organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated at 37 °C with a 25-cm Vigreux distillation column to a volume of 2 mL.

**Vacuum Headspace System (VHS).** Sample (50 g) was added to a 500-mL round-bottom flask; then isoamyl isobutanoate (160  $\mu$ g) was added as internal standard, and pH was adjusted to 7 with 1 M sodium hydroxide. Then a vacuum was applied for 2 h ( $\approx$ 0.1–1 kPa), fruit volatile components and water being condensed in three cooling traps (ice–water/dry ice–acetone/liquid nitrogen) (Forss and Holloway, 1967; Werkhoff et al., 1998). The aqueous condensates were combined and extracted during 30 min under stirring with 100 mL of pentane/dichloromethane (2:1). After phase separation, the organic phase was dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated at 37 °C with a 25-cm Vigreux distillation column to a volume of 2 mL.

**Solvents and Chemicals.** The solvents (*n*-pentane and dichloromethane) were of analytical grade. Reference compounds, if available, and *n*-alkanes ( $C_5$ – $C_{22}$ ) standards were from Aldrich Chimie (Saint Quentin Fallavier, France).

**Gas Chromatography (GC) Analysis.** A Varian 3380 gas chromatograph was used with a flame ionization detector (FID), an on-column injector, a DB-Wax (column A, J&W Scientific, Folsom, CA) fused silica capillary column [30 m  $\times$  0.32 mm inside diameter (i.d.)  $\times$  0.25  $\mu$ m film] or a DB-1 (column B, J&W Scientific, Folsom, CA) fused silica capillary column [30 m  $\times$  0.32 mm i.d.  $\times$  0.25  $\mu$ m film]. Oven temperature was held at 40 °C for 3 min, then increased at a rate of 3 °C/min up to 245 °C, at which it was held for 20 min. Injector temperature was raised from 20 °C to 245 °C at 180 °C/min, at which it was held for 90 min. Detector temperature was 245 °C. Hydrogen was the carrier gas at 2.0 mL/min. Injected volumes were 2  $\mu$ L of concentrated extract. Response factors were taken as 1.0 for all compounds with reference to isoamyl isobutanoate as internal standard. Linear retention indices were calculated with reference to *n*-alkanes ( $C_5$ – $C_{22}$ ). Concentrations are given as the averages of triplicate analyses.

**GC–Mass Spectrometry (MS) Analysis.** A Varian 3300 gas chromatograph coupled to a Fisons Trio-1000 quadrupole mass spectrometer with an electron ionization mode (EI) generated at 70 eV was used. The ion source temperature was 200 °C, and the filament emission current was 1 mA. The same columns as above were used for separation. Oven temperature was held at 40 °C for 3 min, then increased at a rate of 3 °C/min up to 220 °C, at which it was held for 20 min. Injector was heated from 20 °C to 245 °C at 180 °C/min. Detector temperature was 245 °C. Helium was the carrier gas at 1.1

mL/min. Electron impact mass spectra were recorded in the 40–600 amu range at 1 s/interval. Injected volumes were 1  $\mu$ L of concentrated extract.

Compounds were identified on the basis of linear retention indices on both columns (DB-Wax and DB-1) (Jennings and Shibamoto, 1980) and EI mass spectra (Wiley 275.L) from the literature or from authentic standard compounds.

**Sensory Evaluation.** A sensory evaluation was performed by 12 trained panelists with previous experience in sensory evaluation of tropical fruit odors. Assessors were asked to smell three samples [reference juice (sample 1), steam-heated puree (sample 2), and vacuum-expanded puree (sample 3) + 10% aromatic liquors (sample 4)] randomly presented in black coded glasses covered with Petri dishes. Panelists were asked to give a value (from 0 to 10) for each sample, according to an intensity scale of fresh fruity note. Statistical analysis was performed using the Fizz software (Biosystems, Dijon, France). Distribution normality was tested by the Kolmogorov and Smirnov procedure. Analysis of variance (ANOVA) showed differences among samples and statistical data obtained with this test ranged to 7.42 ( $\pm$  2.02), 5.25 ( $\pm$  2.67), and 4.17 ( $\pm$  2.17), respectively, for samples 1, 2, and sample 3 added with 10% sample 4. Then, a least significant difference (LSD) test was performed, showing differences among means at the 5% levels (LSD = 1.91). A Friedman test (1937), after conversion of notes in ranks (sample 1, 31; sample 2, 24; sample 3 added with 10% of sample 4, 17), was also used to class products according to the sum of ranks after calculation of the limit difference (9.60) at the levels of 5%.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Comparison of Isolation Techniques.** Because our objective was, in addition to characterizing the aroma profile of a puree from vacuum-expanded purple passion fruits, to analyze quantitatively the aroma components distribution along the process, we first compared three techniques for isolation of aroma compounds from the reference juice (sample 1): LLE, SDE, and VHS. Results are given in Table 1. Among the 54 compounds identified, whatever the technique used, esters, that is, hexyl hexanoate, hexyl butanoate, ethyl butanoate, (Z)-3-hexenyl hexanoate, (Z)-3-hexenyl butanoate, and ethyl hexanoate, were highest in concentration, as already observed by Werkhoff et al. (1998) in the yellow passion fruit (*P. edulis* f. *flavicarpa*) juice. For most compounds, LLE and SDE gave similar results except for some esters, ethyl butanoate, butyl butanoate, ethyl hexanoate, propyl hexanoate, and monoterpenes, limonene, (Z)-ocimene, and  $\alpha$ -pinene, which were extracted more efficiently by LLE. In LLE extract limonene concentration was 30 $\times$  and 200 $\times$  per SDE and VHS, respectively, and represented  $\approx$ 9% of the total aroma components identified vs 0.2% by VHS, as mentioned by Werkhoff et al. (1998). VHS gave much lower concentrations of volatiles. A comparative study was also conducted on other samples (data not shown), which showed similar trends. Therefore LLE with pentane/dichloromethane (2:1) was preferred for the following studies.

**Fate of Aroma Compounds along the Flash Vacuum-Expansion Process.** Because the flash vacuum-expansion process includes two consecutive steps, steam heating then vacuum-expansion, we analyzed separately aroma compounds from a steam-heated puree (sample 2), a steam-heated then vacuum-expanded puree (sample 3) and its aromatic liquors (sample 4), and a rind puree (sample 5), in comparison with a reference single-strength juice (sample 1). Results are given in Table 2.

**Table 1. Aroma Components Recovered from Single-Strength Purple Passion Fruit Juice (Sample 1) by Three Extraction Techniques**

component	concentration ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )					reliability of identification <sup>c</sup>
	LRI <sup>a</sup>	LRI <sup>b</sup>	LLE	SDE	VHS	
hexanal	780	780	20	40	5	1
ethyl butanoate	790	784	980	440	470	1
4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	816		40	5	tr <sup>d</sup>	2
(Z)-3-hexen-1-ol	843	847	50	60	20	2
hexan-1-ol	860	858	70	90	40	1
heptan-2-one	871	872	50	10	10	2
heptan-2-ol	887	888	10	10	10	1
methyl hexanoate	904	906	tr	5	tr	2
ethyl 3-hydroxybutanoate	912	947	50	10	5	1
benzaldehyde	926	942	10	5	30	2
$\alpha$ -pinene	928	954	10	tr	tr	1
camphene	938	938	tr	tr	tr	1
butyl butanoate	982	983	140	60	60	1
ethyl hexanoate	985	987	270	140	130	1
(Z)-3-hexenyl acetate	989	987	90	60	60	1
hexyl acetate	997	1024	70	40	30	1
phenylacetaldehyde	998	1024	10	40	10	2
<i>p</i> -cymene	1005	1020	10	60	0	1
butyl 2-methyl-butanoate	1013	1022	10	20	tr	2
limonene	1015	1030	1070	30	5	1
isopropyl hexanoate	1026	1035	20	5	tr	2
(E)-ocimene	1029	1038	30	5	5	1
methyl 3-hydroxyhexanoate	1031		5	10	5	2
octan-1-ol	1061	1068	20	30	tr	2
(Z)-linalool oxide	1068	1068	10	10	tr	2
$\alpha$ -terpinolene	1074	1079	tr	tr	tr	1
propyl hexanoate	1080	1085	140	50	20	2
linalool	1084	1095	60	80	20	1
heptyl acetate	1085	1095	10	5	10	2
$\beta$ -farnesene	1104	1144	20	20	20	1
phenyl acetate	1166	1170	40	20	10	2
(Z)-3-hexenyl butanoate	1169	1175	600	620	460	1
butyl hexanoate	1176	1176	200	410	140	2
hexyl butanoate	1178	1181	1740	1650	1150	2
ethyl octanoate	1183	1181	20	20	50	2
octyl acetate	1195	1193	10	10	5	2
2-heptyl butanoate	1199	1194	400	430	230	2
pentyl hexanoate	1200		50	20	10	1
nerol	1207	1234	tr	5	tr	1
geraniol	1236	1243	50	40	10	1
heptyl butanoate	1276	1275	30	20	10	2
$\alpha$ -terpineol	1287	1289	260	300	250	2
phenylmethyl butanoate	1307		120	100	80	2
ethyl 3-hydroxyhexanoate	1332	1340	40	10	10	1
9-decen-1-yl acetate	1359	1383	220	160	90	2
(Z)-3-hexenyl hexanoate	1362	1370	810	950	530	2
hexyl hexanoate	1370	1371	2120	2550	1100	1
octyl butanoate	1374	1373	360	420	190	2
2-heptyl hexanoate	1388		510	580	220	2
pentyl octanoate	1393		70	110	40	2
isopentyl octanoate	1395		40	10	10	2
$\beta$ -ionone	1442	1474	370	440	260	1
heptyl hexanoate	1459		80	10	5	2
hexyl octanoate	1555	1564	240	320	80	2
total concentration ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )			11745	10485	5905	

<sup>a</sup> Linear retention index from DB-1. <sup>b</sup> Linear retention index from literature. <sup>c</sup> Key for reliability of identification: 1, linear retention index and mass spectrum of reference compounds; 2, linear retention index and mass spectrum similar to published data. <sup>d</sup> tr = traces ( $<5\text{ }\mu\text{g}/100\text{ g}$ ).

When compared with the reference juice (sample 1), the steam-heated puree (sample 2) exhibited higher concentrations of aroma compounds, mainly esters, but with a different ordering, that is, hexyl hexanoate, 2-heptyl hexanoate, hexyl butanoate, 2-heptyl butanoate, and octyl butanoate. Sample 2 also showed much higher concentrations of alcohols, in particular hexan-1-ol and (Z)-3-hexen-1-ol, and in monoterpene alcohols, linalool, geraniol, and nerol. Some compounds were found at similar concentrations, for example, the monoterpenes (except heat-generated *p*-cymene), some esters, that is, ethyl hexanoate, butyl hexanoate, hexyl

butanoate, hexyl hexanoate. Analysis of volatiles from a rind puree (sample 5) showed a particular richness in limonene, and also in ethyl-3-hydroxyhexanoate, (Z)-3-hexenyl butanoate, and in terpene alcohols, nerol, geraniol, and linalool. Thus, enrichment of the steam-heated puree in certain esters and terpene alcohols as compared with the reference juice can be partly explained by incorporation of some rind in the puree; indeed, the steam-heating treatment softened the outer portion of the fruit and part of the mesocarp was recovered after refining in the puree. Also some esters decreased after steam heating, namely ethyl butanoate,

Table 2. Aroma Components Concentrations Obtained by LLE Method

		sample				
		1	2	3	4	5
hydrocarbons	$\alpha$ -pinene	10	5	10	5	210
	camphene	0	5	0	0	0
	<i>p</i> -cymene	10	50	50	6	80
	limonene	1060	910	1740	30	2100
	( <i>E</i> )-ocimene	30	40	90	10	50
	$\alpha$ -terpinolene	0	10	10	0	30
	$\beta$ -farnesene	20	60	50	10	30
aldehydes	hexanal	20	20	5	0	30
	benzaldehyde	10	10	10	30	140
	phenylacetaldehyde	10	30	20	40	90
ketones	4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	40	60	70	0	0
	heptan-2-one	50	60	70	90	60
	$\beta$ -ionone	370	110	220	20	110
alcohols	( <i>Z</i> )-3-hexen-1-ol	50	290	120	200	30
	hexan-1-ol	70	1330	570	550	230
	heptan-2-ol	10	60	40	130	60
	octan-1-ol	20	140	80	50	50
terpenols	( <i>Z</i> )-linalool oxide	10	10	20	10	20
	linalool	60	610	180	690	240
	nerol	0	40	10	40	520
	geraniol	60	190	120	150	370
	$\alpha$ -terpineol	260	200	110	90	100
esters	ethyl butanoate	970	520	70	610	0
	methyl hexanoate	0	10	10	0	0
	ethyl 3-hydroxybutanoate	50	140	130	10	30
	butyl butanoate	140	60	20	20	80
	ethyl hexanoate	270	240	70	70	130
	( <i>Z</i> )-3-hexenyl acetate	90	90	70	60	100
	hexyl acetate	70	110	50	30	270
	butyl 2-methylbutanoate	10	70	20	10	0
	isopropyl hexanoate	20	100	20	10	60
	methyl 3-hydroxyhexanoate	5	30	10	5	20
	propyl hexanoate	140	260	290	110	110
	heptyl acetate	10	20	10	20	100
	phenyl acetate	40	170	80	170	130
	( <i>Z</i> )-3-hexenyl butanoate	600	250	120	40	920
	butyl hexanoate	200	150	110	5	0
	hexyl butanoate	1740	1520	1010	50	80
	ethyl octanoate	30	40	30	10	100
	octyl acetate	10	30	30	0	20
	2-heptyl butanoate	400	1070	630	20	160
	pentyl hexanoate	50	220	170	10	260
	heptyl butanoate	30	40	30	0	0
	phenylmethyl butanoate	130	20	20	10	140
	ethyl 3-hydroxyhexanoate	40	130	100	0	1840
	9-decen-1-yl acetate	220	80	90	0	0
	( <i>Z</i> )-3-hexenyl hexanoate	820	520	470	10	80
	hexyl hexanoate	2120	2540	2580	30	160
	octyl butanoate	360	570	550	20	60
	2-heptyl hexanoate	510	1750	1280	40	200
	pentyl octanoate	70	130	110	20	30
	isopentyl octanoate	40	80	60	0	90
	heptyl hexanoate	80	80	50	10	270
	hexyl octanoate	240	550	540	5	140
	total concentration ( $\mu$ g/100 g)	11745	15850	12495	3650	10080

butyl butanoate, (*Z*)-3-hexenyl butanoate, phenylmethyl butanoate, decenyl acetate, and (*Z*)-3-hexenyl hexanoate. Because yields were 26% juice/fresh fruit weight and 48% puree/fresh fruit weight for the reference juice and the steam-heated puree, respectively, the decrease of esters absent or weakly concentrated in the rind, ethyl butanoate, decenyl acetate, and (*Z*)-3-hexenyl hexanoate, could be explained by a 2-fold dilution of the juice by the rind. Conversely, this cannot explain the severe decrease of (*Z*)-3-hexenyl butanoate in which the rind puree is rich and also the concomitant large increase of (*Z*)-3-hexenol [not observed by Engel and Tressl (1983) in SDE extracts of native passion fruit juice (pH 3.0, 2 h)]. Furthermore, short-chain esters

seemed to be more sensitive than long-chain esters. Behavior of geraniol and  $\alpha$ -terpineol resulted from the 2-fold dilution, whereas the large enrichment in linalool could arise from acid hydrolysis of glycosylated precursors of linalool, in which passion fruit juice is particularly rich (Engel and Tressl, 1983; Chassagne et al., 1996). It could also have been generated by the heat treatment in the acidic condition of 3,7-dimethyloct-1-ene-3,7-diol, a precursor found in the water-soluble fraction of a chloroform extract of a yellow passion pulp (Engel and Tressl, 1983).

The puree from flash vacuum-expanded fruits (sample 3) had a lower total concentration in volatiles as compared with the puree obtained from fruits simply

steam-heated (sample 2); this is due to the instantaneous evaporation occurring when heated fruits are introduced in the vacuum chamber. Aromatic liquors (sample 4) represented 10% (w/w) of the steam-heated fruits (Brat et al., unpublished results). Impoverishment is somewhat related to the boiling temperature of the considered compounds. More specifically, for volatiles of which the concentration strongly drops after vacuum-expansion vs steam heating only (e.g., linalool, ethyl butanoate) they are relatively enriched in aromatic liquors (sample 4). Behavior of other volatiles remains unclear. Taking into account the yields,  $\approx 90\%$  of volatiles present initially in sample 2 were recovered in samples 3 and 4.

**Sensory Evaluation.** Because the vacuum-expansion provoked the instantaneous evaporation of 10% of the fruit weight as aromatic liquors (sample 4), we performed a sensory evaluation of the vacuum-expanded puree (sample 3) added with this proportion of aromatic liquors in comparison with the steam-heated puree and the reference juice. Results of ANOVA at the 5% level showed that the steam-heated puree and the vacuum-expanded puree added with 10% aromatic liquors are different from and less fruity than the reference juice. The Friedman test at the 5% level ranked the steam-heated puree between the reference juice and the vacuum-expanded puree added with aromatic liquors. Chan (1993) mentioned that the flavor and aroma of passion fruit is very sensitive to heat processing; accordingly, steam heating the fruits for 10 min up to 85 °C before vacuum-expansion must have somewhat altered the delicate fruity note of the inner juice. However, as previously mentioned, we did not detect, apart from *p*-cymene, heat-generated aroma compounds. Thus, results of this sensory evaluation indicate that passion fruit puree is actually an intermediate food product having an aroma profile different from a passion fruit juice because of incorporation of some rind in the juice.

Thus, the steam-heating step of the process afforded first a puree with increased concentration of total volatiles, in particular esters, in comparison with a reference single-strength juice, because of incorporation in the juice of part of the rind. After vacuum-expansion, the puree was impoverished in volatile components because of instant evaporation of some water when steam-heated fruits are introduced in the vacuum vessel. Most of these volatiles were recovered in aromatic liquors generated by the vacuum-expansion step, and they could be added back to the vacuum-expanded puree.

## ACKNOWLEDGMENT

Thanks are due to F. Davrieux (CIRAD-CP) for the GC-MS facilities and to the Conseil Régional Région Réunion (France) for a Doctoral scholarship (No. 21700).

## LITERATURE CITED

- Casimir, D. J.; Kefford, J. K.; Whitfield, F. B. Technology and flavor chemistry of passion fruit juices and concentrates. *Adv. Food Res.* **1981**, *27*, 243–295.
- Chan, H. T. Passion fruit, papaya and guava juices. In *Fruit Juice Processing Technology*; Nagy, S., Chen, C. S., Shaw, P. E., Eds.; Agscience: Auburndale, FL, 1993; pp 334–377.
- Chassagne, D.; Crouzet, J. C.; Bayonove, C. L.; Baumes, R. L. Identification and quantification of passion fruit cyanogenic glycosides. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 3817–3820.
- Cogat, P.-O. Installation pour extraire, concentrer et classer des composés biochimiques à partir de substances biologiques végétales ou animales. European patent 570 306 A1, European Patent Office, 1993.
- Cogat, P.-O. Procédé et équipements d'imprégnation de matières solides organiques fibreuses, par vaporisation sous vide de l'eau de constitution et injection en contrepression d'une solution. French patent 2 733 438, Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, 1995.
- Engel, K. H.; Tressl, R. Formation of aroma components from nonvolatile precursors in passion fruit. *J. Agric. Food Chem.* **1983**, *31*, 998–1002.
- Forss, D. A.; Holloway, G. L. Recovery of volatile compounds from butter oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1967**, *44*, 572–575.
- Friedman, M. The use of ranks to avoid the assumptions of normality implicit in the analysis of variance. *J. Am. Stat. Assoc.* **1937**, *32*, 675–701.
- Jennings, W.; Shibamoto, T. Retention indices in increasing order on polyethylene glycol Carbowax 20M. In *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*; Jennings, W., Shibamoto, T., Eds.; Academic Press: New York, 1980; pp 86–113.
- Likens, S. T.; Nickerson, G. B. Detection of certain hop oil constituents in brewing products. *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.* **1964**, 5–13.
- Parliment, T. H. Some volatile constituents of passion fruit. *J. Agric. Food Chem.* **1972**, *20*, 1043–1045.
- Werkhoff, P.; Güntert, M.; Krammer, G.; Sommer, H.; Kaulen, J. Vacuum headspace method in aroma research: flavor chemistry of yellow passion fruits. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1076–1093.
- Winterhalter, P.; Lander, V.; Schreier, P. Influence of sample preparation on the composition of quince (*Cydonia oblonga*, Mill.) flavor. *J. Agric. Food Chem.* **1987**, *35*, 335–337.

Received for review May 25, 2000. Revised manuscript received September 13, 2000. Accepted September 15, 2000.

JF000645I



**«Preparation of tropical fruit purees by flash vacuum-expansion» 2001.**

P. Brat, D. Ollé, M. Reynes, P. Alter, P.O. Cogat et J.-M. Brillouet.

*Acta Horticulturae*, sous presse.

# PREPARATION OF TROPICAL FRUIT PUREES BY FLASH VACUUM-EXPANSION

P. BRAT, D. OLLE, M. REYNES,  
P. ALTER and J.-M. BRILLOUET  
Centre de Coopération Internationale en Recherche  
Agronomique pour le Développement (CIRAD),  
Département FLHOR, Montpellier,  
F-34032  
FRANCE

P.-O. COGAT  
Aurore Développement, BP 195,  
Saint-Pierre (Réunion),  
F-97455  
FRANCE

**Key Words:** purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims), guava (*Psidium guajava* L.), mango (*Mangifera indica* L.), processing, vacuum, cell-wall polysaccharides, viscosity.

## Abstract

Purees were obtained from guava, mango and purple passion fruit, by the flash vacuum-expansion process and compared to traditionally prepared reference products. The vacuum-expanded purees had alcohol insoluble residue (AIR) levels higher than the reference products. The polysaccharide compositions of AIRs from expanded purees differed from those of the reference products, indicating that, due to the vacuum-expansion, additional tissues were incorporated in the purees. The vacuum-expanded purees exhibited consistencies and apparent viscosities higher than those of the reference products which was related to their AIR contents.

## 1. Introduction

Flash vacuum-expansion, a new process for treatment of plant materials, enables the production of food products (juices and purees, ..) which exhibit physicochemical and rheological attributes differing from those of products obtained by traditional schemes (*i.e.* blanching, crushing, and pulping). Briefly, entire fruits are first steam-heated to 60-90°C, then instantly introduced into a vacuum chamber (2-5 kPa) where they expand and disaggregate due to formation of micro-channels inside the tissues (Cogat, 1994; 1995) by evaporation of water and volatile compounds. During the steam-heating stage, endogenous oxidases are denatured; as the expansion process is being carried out in vacuum, oxidation and subsequent browning of the products are avoided. Processed materials exhibit viscosities higher than those of traditional products; they are also differently colored. Although this process is increasingly used for pre-treatment of grapes nowadays (Moutounet and Escudier, 2000) before fermentation into wine and for production of tomato puree, no detailed study was ever conducted to understand the detailed effects of the flash vacuum-expansion process on plant materials.

Three tropical fruit (passion fruit, guava, mango) were processed by flash vacuum-expansion and further refined. Reference (A) and vacuum-expanded (B) products were then characterized for cell-wall polysaccharides and viscosity, and the results are compared.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Fruits

Sound mature purple passion fruits (*Passiflora edulis* Sims) ( $32 \pm 10$  g;  $n = 40$ ), pink guavas (*Psidium guajava* L., cv. Beaumont) ( $235 \pm 24$  g,  $n = 10$ ), and mono-embryonic mangoes (*Mangifera indica* L., cv. Amélie) ( $300 \pm 30$  g,  $n = 10$ ) were air-freighted respectively from, Kenya, French West Indies, and Ivory Coast. After a thorough mixing of the fruits, three batches (10 kg) were constituted for each type of fruit.

## 2.2. Flash vacuum-expansion equipment

The equipment consists of a cylindrical stainless steel steam-heating chamber ( $r = 6$  cm;  $h = 24$  cm;  $v = 2.7$  L) fed at normal pressure with a water-steam generator and coupled through a manual pneumatic valve ( $10^3$  kPa; opening time 0.5 s) to a cylindrical quartz vacuum vessel ( $r = 15$  cm;  $h = 48$  cm;  $v = 34$  L) where a vacuum (3 kPa) is generated by a vacuum pump cooled by a closed water circuit connected to a condenser. Steam-heating liquors, generated by condensation of steam on the fruits and by exudation of some inner juice are collected at the bottom of the steam-heating chamber. Aromatic liquors, generated by the instantaneous evaporation of water and volatiles, are collected after passage through a plate exchanger.

## 2.3. Preparation of fruit juice and purees

Reference juice (passion fruit) and purees (guava, mango) were obtained by pulping whole fruits in a rotating pulper (Auriol, Marmande, France) equipped with a 1 mm screen. Pulping resulted in elimination of passion fruit rind and seeds, guava skin and seeds, and mango kernel and skin.

Fruits (2 kg) were also heated in the steam-heating chamber (final temperature  $95^{\circ}\text{C}$ ), then introduced into the vacuum vessel at 3 kPa. Disaggregated fruits were then pulped as above; aromatic liquors were also recovered.

## 2.3. Preparation of alcohol insoluble residues

Alcohol insoluble residues (AIR) were prepared as follows: samples (100 g) were added with ethanol (400 mL), and after thorough mixing, the slurry was boiled for 30 min, then filtered on a sintered glass crucible (porosity n° 4). The residue was then washed successively with 80% ethanol, ethanol, acetone and ether, dried overnight in a vacuum oven ( $50^{\circ}\text{C}$ ), and weighed. Since mature passion fruit contains starch (Pruthi, 1963), its AIR were enzymatically destarched according to Brillouet *et al.* (1988). Water-soluble polysaccharides (WSP) were isolated as follows: AIR (10 g) were stirred for 45 min at room temperature in 500 mL of slightly acidified distilled water (pH 4.0), and after centrifugation ( $18500 \times g$ ; 10 min), the pellet was washed with water (250 mL), and centrifuged. Both supernatants were pooled and added to 4 volumes of ethanol. Precipitated polysaccharides were recovered by filtration on a sintered glass crucible, and then freeze-dried.

## 2.4. Analytical methods

Soluble solids ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) were determined with a hand refractometer at room temperature. Titratable acidity was determined by titration with 0.1M NaOH. Total solids were determined by drying sample (2 g) for 3 h at  $60^{\circ}\text{C}$ , then overnight in a vacuum oven at  $50^{\circ}\text{C}$ . Neutral monosaccharides were released from AIR (5 mg) by hydrolysis with 2M trifluoroacetic acid for 75 min at  $120^{\circ}\text{C}$  (Albersheim *et al.*, 1967) and by Saeman hydrolysis as described by Hoebler *et al.* (1989), *i.e.*, 72% (w/w) sulfuric acid,  $25^{\circ}\text{C}$ , 45 min, then 1M sulfuric acid,  $100^{\circ}\text{C}$ , 3 h. Sugars were then derivatized into their alditol acetates (Blakeney *et al.*, 1983) and analysed by Gas Chromatography according to Hoebler *et al.* (1989) with inositol as internal standard. Uronic acids were measured by the *m*-phenylphenol procedure (Blumenkrantz and Asboe-Hansen, 1973) without desterification with, for AIR, preliminary dissolution in concentrated sulfuric acid (Ahmed and Labavitch, 1977). Proteins ( $N \times 6.25$ ) were determined by a micro-Kjeldahl procedure (Bietz, 1974). Color ( $L$ ,  $a$ ,  $b$ ) was determined with a Minolta CR-300 chromameter.

## 2.5. Rheological measurements

Consistency was measured with a Bostwick consistometer at  $20^{\circ}\text{C}$  by measuring the distance (cm) product flowed in 30 s. Apparent viscosity ( $\eta_a$ ) of the juice and purees was measured at  $25^{\circ}\text{C}$  using a Haake VT500 viscometer (Haake Inc., NJ, USA) with the MV-DIN measuring system at a shear rate of  $100 \text{ s}^{-1}$  for guava and mango and with the FL-100 measuring system at a shear rate of  $50 \text{ s}^{-1}$  for passion fruit. Yield stress ( $\tau_0$ ) was determined by increasing shear rate from 1 to  $100 \text{ s}^{-1}$ , and plotting shear stress ( $\tau$ ) vs. shear rate. Yield stresses ( $\tau_0$ ) were estimated by tangential extrapolation with shear stress axis.

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Heat balance

The vacuum-expansion process includes two steps, namely the preliminary steam-heating step, then the vacuum-expansion step. In order to confirm the efficiency of the process to recover a maximum of aromatic liquors in the expansion step, the theoretical volume of aromatic liquors (basis 1 kg of fruits) was estimated for passion fruit. Considering the very short time of the flash vacuum-expansion step, the transformation was supposed to be adiabatic. Firstly, energy brought by the steam-heated fruits ( $Q_{SHF}$ ) was compared to the energy absorbed by the flash expanded fruits ( $Q_{FEF}$ ) and the aromatic liquors ( $Q_{AL}$ ) by using the equation:

$$Q_{SHF} = Q_{FEF} + Q_{AL} \quad (1)$$

A rather good agreement was found between energy brought by steam-heated fruits (346 kJ) and energy absorbed by flash-expanded fruits and aromatic liquors (384 kJ). Then in order to determine the theoretical mass of aromatic liquors, equation (1) was developed:

$$(m_{SHF} \times \Delta H_{SHF}^c) = (m_{AL} \times \Delta H_{VAP}^c) + (m_{FEF} \times \Delta H_{FEF}^c)$$

when mass of steam-heated fruits ( $m_{SHF} = 0.954$  kg); mass of flash expanded fruits ( $m_{FEF} = 0.864$  kg); mass of aromatic liquors ( $m_{AL}$ ); temperature of steam-heated fruits ( $T_1 = 95^\circ\text{C}$ ); temperature of vacuum-expanded fruits ( $T_2 = 27^\circ\text{C}$ ); specific heat of steam-heated fruits [ $C_{pSHF} = 3.76$  kJ/(kg.K); calculated from Rahman, 1995]; specific heat of flash expanded fruits [ $C_{pFEF} = 3.71$  kJ/(kg.K); calculated from Rahman, 1995]; water total enthalpy at 3 kPa [ $\Delta H_{VAP}^c = 2550.4$  kJ/kg; calculated from Rahman, 1995].

A good agreement was found between theoretical (97 mL) and actual (106 mL) volumes of aromatic liquors, indicating an efficient condensing system. The flash vacuum-expansion process is thus a mean of slight concentration (~ 10%) of juices and purees.

#### 3.2. Yields

Reference passion fruit juice was obtained in a 26%/fruit weight yield (Table 1) in agreement with previously reported data (Chan, 1993). Flash vacuum-expansion treatment produced a puree in a 49%/fruit weight yield and, after re-incorporation of aromatic liquors, yield reached 54%. The vacuum-expanded puree from guava was obtained in a yield slightly higher than the reference puree, 58% vs. 50%, respectively. For mango, vacuum-expansion provided a puree in a yield similar to the reference puree (~60%). After re-incorporation of aromatic liquors which could improve the sensory attributes of the products, yields reached ~ 65%.

#### 3.3. Characterization of the products

Some physicochemical characteristics of the reference (A) and vacuum-expanded (B) products are shown in Table 2. The vacuum-expanded puree from passion fruit had a higher pH and a lower titratable acidity than the reference juice. This could be explained by a ~ 2x dilution of the inner juice from the aril by the rind of the fruits. Indeed, separate measurements on a rind puree gave: pH 4.82, and titratable acidity 9.5 mg citric acid /100ml. Total solids of vacuum-expanded purees from guava and mango were a little higher than those of the corresponding reference purees. This was explained by instant evaporation of ~ 10% of the fruit water when fruits were introduced into the vacuum chamber. After expansion, pH showed little variation.

The reference juice of passion fruit had high (L, b) values indicating a clear and yellow appearance. The vacuum-expanded puree had a red-purple appearance and exhibited an (a) value higher and (L, b) values lower than the reference juice. The (L) value of the expanded guava puree was slightly higher than those of the reference puree indicating higher lightness. This could be due to the incorporation of a proportion of the light pink mesocarp higher than in the reference puree.

The reference (A) and vacuum-expanded (B) products were analyzed for their cell-wall materials as alcohol insoluble residues (AIR) (Table 3). AIR compositions were also determined. The three vacuum-expanded purees had higher AIR contents than those of the reference juice and purees. AIR contents were

related to the structures of fruits (Fig. 1).

Passion fruit is a berry comprising a thin hard exocarp, a thin purple mesocarp layer, a white spongy endocarp surrounding an orange-yellow, pulpy, juicy, edible aril containing seeds (Purseglove, 1974). During preparation of the reference product by pulping entire fruits, the outer part was not damaged by the rotating screen but simply squeezed; thus a juice was obtained, having a very low AIR content made up of cell-walls originating from the thin-walled cells of the aril. During preparation of the vacuum-expanded puree, the whole fruits were steam-heated then expanded in vacuum: the heat treatment softened the fruit rind, while the vacuum-expansion loosened its tissues by creating micro-channels through instant evaporation of about 10% of the fruit water. Thus pulping of disaggregated fruits resulted in incorporation of part of the rind in addition to the juice itself: the AIR content of the puree was ~ 6x higher than that of the juice. Both AIRs exhibited different compositions reflecting their tissular origin. The juice AIR was highly contaminated by alcohol-precipitated soluble proteins from the aril: indeed the juicy portion of the fruit contains ~ 2% proteins (Purseglove, 1974). The polysaccharidic moiety had a typical cell-wall constitution with pectic polysaccharides (uronic acids, in association with rhamnose, galactose, and arabinose), and cellulose. The puree AIR had a different composition: the ratio between neutral non-cellulosic polysaccharides and cellulose was opposite to that observed in the juice AIR. It was relatively richer in cellulose and uronic acids and poorer in galactose and arabinose. Thus vacuum-expansion provided a product enriched in cells originating from the rind and having cellulose-rich walls. This observation was confirmed by the red-purple color of the puree in comparison with the orange-yellow appearance of the reference juice; the thin purple mesocarp layer which contains anthocyanins must have been disintegrated and incorporated into the puree.

Guava is a berry with a thin exocarp, a mesocarp layer of variable thickness, and a pulpy endocarp containing seeds. Beside parenchymatous cells, stone cells (or sclereids) are present, mesocarp being richer in that cell type than endocarp (Marcelin *et al.*, 1993). AIRs from both reference (A) and vacuum-expanded (B) purees had a typical cell-wall composition with dominant proportions of pectic polysaccharides (uronic acids in association with rhamnose and arabinose). Contrary to the two other fruits, xylose was present in high proportions: it originates from xylans present in the highly lignified stone cells (Marcelin *et al.*, 1993). AIR from the guava vacuum-expanded puree was relatively richer in this monosaccharide constituent than that of the reference puree, which means that after expansion, a higher proportion of mesocarp passed through the refining screen.

Mango is a fleshy drupe with a fairly thick exocarp, an edible mesocarp, non fibrous in Amélie cv., and a hard lignified endocarp. AIR from both purees were similar in composition with dominant proportions of pectic polysaccharides. Due to the mango fruit structure, both traditional and vacuum-expansion processes provided almost all the mesocarp portion of the fruits.

For a better understanding of the fine effects of the vacuum-expansion on the cell-walls, water-soluble polysaccharides (WSP) were extracted from different AIRs. The proportions of WSPs were similar in both reference and vacuum-expanded products: mango was the richest (~30%/AIR), followed by passion fruit (~ 20%), and then by guava (~ 7%). Therefore, AIR constitutions were apparently not altered by the process.

Then the rheological properties of the reference and vacuum-expanded products were analyzed (Table 4). The reference passion fruit juice was too fluid for its Bostwick consistency to be measured. Generally speaking, consistencies of the vacuum-expanded purees were higher than those of the reference products. Apparent viscosities and yield stresses were also increased. Evaporation of water during the vacuum-expansion step (~ 10% of the fruit weight) could not explain these increases since, even after reincorporation of aromatic liquors, apparent viscosities and yield stresses were still far higher than those of the reference products (data not shown). This typical behavior of vacuum-expanded purees was related to their AIR contents.

## References

- Ahmed A.E.R. and Labavitch J.M., 1977. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. *J. Food Biochem.* 1: 361-365.
- Albersheim P., Nevins D.J., English P.D., and Karr A., 1967. A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydr. Res.* 16: 127-150.
- Bietz J.A., 1974. Micro-Kjeldahl analysis by an improved automated ammonia determination following

- manual digestion. *Anal. Chem.* 46: 1617-1618.
- Blakeney A.B., Harris P.J., Henry R.J. and Stone B.A., 1983. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.* 113: 291-299.
- Brillouet J.-M., Rouau X., Hoebler C., Barry J.L., Carré B. and Lorta E, 1988. A new method for determination of insoluble cell walls and soluble nonstarchy polysaccharides from plant materials. *J. Agric. Food Chem.* 36: 969-979.
- Blumenkrantz N. and Asboe-Hansen G., 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* 54: 484-489.
- Chan H.T.JR, 1993. Passion fruit, papaya and guava juices. In *Fruit Juice Processing Technology*, (S. Nagy and P.E. Chen Shaw), Agscience, Auburndal, FL., p. 334-377.
- Cogat P.O. 1994. Installation pour le traitement de matières biologiques hydratées. European patent, EP 0 727 948 B1, n° PCT/FR94/01297, European Patent Office.
- Cogat P.O. 1995. Appareillage continu pour désaérer, chauffer, maintenir en température, refroidir sous vide des matières organiques solides. French patent, FR 2,656,547, n° 8917414.
- Hoebler C., Barry J.L., David, A. and Delort-Laval J., 1989. Rapid acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 37: 360-367.
- Marcelin O., Williams P. and Brillouet J.-M., 1993. Isolation and characterisation of the two main cell-wall types from guava (*Psidium guajava* L.) pulp. *Carbohydr. Res.* 240: 233-243.
- Moutounet M. and Escudier J.L., 2000. Prétraitement des raisins par flash-détente sous vide. Incidence sur la qualité des vins. *Bull. O.I.V.* 827-828: 5-19.
- Pruthi J.S., 1963. Physiology, chemistry, and technology of passion fruit. In *Advances in Food Research*, Academic Press, New York and London, vol.12, p. 216.
- Purseglove J.W., 1974. Passifloraceae. In *Tropical Crops Dicotyledons*, (J.W. Purseglove), Longman, London, p. 420-429.
- Rahman, S. 1995. Enthalpy, specific heat and latent heat of foods. In *Food Properties Handbook*, (S. Rahman), CRC Press, Boca Raton, FL., p.263-264.

Table 1. Yields (%/fruit weight).

	reference (A)	vacuum-expanded puree (B)	vacuum-expanded puree + aromatic liquors
passion fruit	26	49	54
guava	50	58	64
mango	60	59	65

Table 2. Some physicochemical characteristics of the processed products.

	passion fruit		guava		mango	
	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)
total solids (%/fw)	17.0	16.4	12.1	13.0	13.6	15.4
soluble solids (%/fw)	14.5	13.0	9.0	8.2	12.2	13.2
pH	3.22	3.81	2.92	2.70	4.2	4.1
titratable acidity (mg citric acid/100ml)	44.3	31.5	1.7	2.4	53.1	45.1
color						
L	54.3	32.9	50.3	53.4	50.2	52.2
a	5.2	16.5	10.0	11.0	2.1	2.0
b	31.4	8.9	15.8	17.9	29.6	35.0

Table 3. Yield and composition of alcohol insoluble residues.

	passion fruit		guava		mango	
	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)
AIR (%/fw)	0.6 <sup>a</sup>	3.9 <sup>a</sup>	3.5	5.7	1.9	2.7
WSP (%/fw)	0.1	0.9	0.2	0.4	0.5	0.9
composition of AIR (%/dw)						
uronic acids <sup>b</sup>	4.2	25.0	11.7	12.3	22.3	22.5
methanol	1.5	1.1	2.2	1.7	4.3	5.0
neutral non-cellulosic polysaccharides <sup>c</sup>	9.3	16.8	26.8	28.2	31.0	35.8
cellulose <sup>d</sup>	5.0	35.5	5.8	5.8	8.4	7.6
proteins (N x 6.25)	69.0	16.3	9.2	6.2	15.6	11.7
uronic acids <sup>e</sup>	20.5	29.7	25.9	26.5	38.8	37.0
rhamnose <sup>e</sup>	1.2	1.1	1.5	1.4	1.2	1.2
fucose <sup>e</sup>	1.2	1.0	0.9	0.9	1.3	1.4
arabinose <sup>e</sup>	10.4	4.0	16.6	13.1	16.8	19.1
xylose <sup>e</sup>	7.2	9.8	28.9	33.9	6.8	7.1
mannose <sup>e</sup>	3.7	1.2	3.3	3.3	5.0	4.5
galactose <sup>e</sup>	23.3	6.1	5.4	4.3	11.0	11.9
glucose (non-cellulosic) <sup>e</sup>	5.8	1.3	3.5	3.1	3.3	4.3
glucose (cellulosic) <sup>e</sup>	26.5	45.8	13.9	13.6	15.8	13.5

<sup>a</sup>Destarched AIR for passion fruit. <sup>b</sup>Expressed as «anhydrogalacturonic acid». <sup>c</sup>Neutral polysaccharides obtained by diluted acid hydrolysis and GC of the alditol acetates, and expressed as sum of «anhydrosugars». <sup>d</sup>Glucose obtained by difference between Saeman and dilute acid hydrolyses. <sup>e</sup>Mole % of constituent monosaccharides.

Table 4. Rheological characteristics of tropical fruit purees.

	passion fruit		guava		mango	
	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)
Bostwick consistency (cm in 30 s)	-	1.7	5.0	1.0	8.5	4.5
apparent viscosity (Pa.s)	0.2	5.3	0.6	1.4	0.4	1.1
yield stress (Pa)	2.1	188.7	9.5	17.6	5.7	15.9

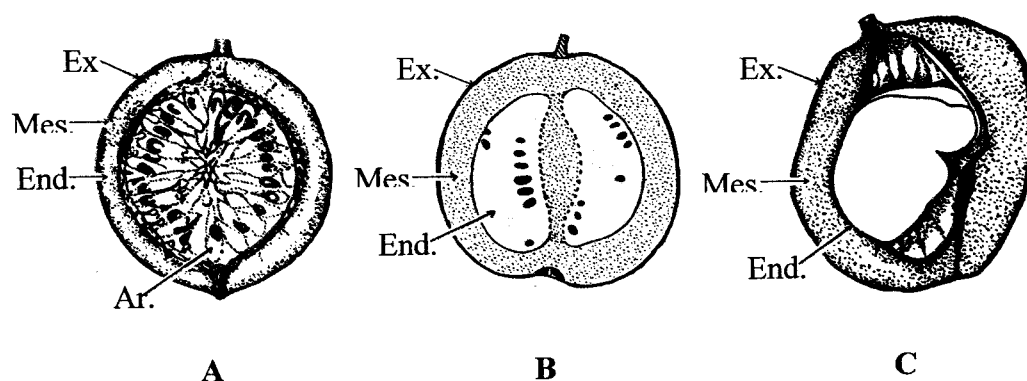


Fig. 1. Cross sections of passion fruit (A), guava (B), and mango (C) (Ex., exocarp; Mes., mesocarp; End., endocarp; Ar., aril)

**«Essential oils obtained by flash vacuum-expansion of peels from lemon,  
sweet orange, mandarin and grapefruit» 2001.**

**P. Brat, D. Ollé, A.L. Gancel, M. Reynes, P.O. Cogat et J.-M. Brillouet.**

*Fruits, sous presse.*



## **Essential oils obtained by flash vacuum-expansion of peels from lemon, sweet orange, mandarin and grapefruit**

**Pierre Brat, Didier Ollé, Anne-Laure Gancel, Max Reynes, Jean-Marc Brillouet<sup>\*</sup>**

Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD),  
Département FLHOR, TA 50/16, Avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 5, France.

---

<sup>\*</sup>Author to whom correspondence should be addressed

Tel: 33(0)467615800 (ext. 5295); Fax: 33(0)467614433; e-mail [brillouet@cirad.fr](mailto:brillouet@cirad.fr).

**Abstract – Introduction.** Essential oils represent an increasing economic importance in citrus by-product industry. Flash vacuum-expansion, a process leading to disintegration of plant tissues, was applied to the recovery of essential oils from lemon, sweet orange, mandarin, and grapefruit. **Materials and methods.** The flash vacuum-expansion process (steam-heating, then rapid introduction into a vessel under vacuum) was applied to peels from lemon, sweet orange, mandarin, and grapefruit. Essential oils were recovered with a condensor, then separated by centrifugation. Oil volatile compounds were separated and identified by coupled capillary gas liquid chromatography/mass spectrometry. **Results and discussion.** Peel essential oils yields were 2.41, 1.43, 0.64, and 0.73 kg.ton<sup>-1</sup> of fruit for lemon, sweet orange, mandarin, and grapefruit, respectively. Oils were enriched in limonene and other monoterpenes, while relative concentrations of monoterpene alcohols (linalool,  $\alpha$ -terpineol,  $\beta$ -citronellol, nerol, geraniol) and aldehydes (neral, geranial) were lowered in comparison to the volatile compounds of native peels. **Conclusion.** The flash vacuum-expansion process allowed production of citrus peel essential oils with yields comparable to the Food Machinery Corporation (F.M.C.) process. Oils were enriched in monoterpene hydrocarbons and correlatively impoverished in oxygenated volatile constituents.

## Essential oils / citrus / peel / flash vacuum-expansion process

### 1. introduction

Aside single strength and concentrated juices, massive amounts of peels are recovered from the citrus juice industry. Valorisation of these by-products is achieved in diverse manners: production of pectins, feed for livestock, recovery of essential oils, waxes, and flavonoids, and also minor uses as, lemon (*Citrus lemon* L.) and citron peel (*Citrus medica* L.) candying, bitter orange peel (*Citrus aurantium* L.) marmelade, and liquors [1-3]. Citrus essential oils are of major concern to food (soft drinks), detergent, cosmetic and perfume industries. Most of the citrus essential oils are nowadays recovered simultaneously to the fruit juice extraction as cold-pressed oils by the Food Machinery Corporation (F.M.C.) process [4,5]. Yields of essential oils depend on the citrus species, cultivar, area and period of production; typical yields with the F.M.C. procedure are: lemon 3 kg.ton<sup>-1</sup> of fruit, sweet orange 1.5 kg.ton<sup>-1</sup>, and grapefruit 1 kg.ton<sup>-1</sup> [6].

The flash vacuum-expansion process, in which plant materials are first steam-heated for a period of 5-10 min time at 70-90°C, then instantly introduced in a vacuum chamber (2-5 kPa), is occasionally used since a decade in the wine making industry [7]. When heated grapes enter the vacuum chamber, grape skin disintegrates due to instant evaporation of 10% of water and volatile components, thus facilitating diffusion of skin anthocyanins. After fermentation, red wines from vacuum-expanded grapes are more colored than those from traditionally processed grapes. Thus, this process can be viewed as an extraction process [8] which could serve for recovery of volatile compounds from agro-industry wastes.

Since citrus peel essential oils are contained in balloon-shaped vesicles located in the flavedo of citrus peel, we thought that the flash vacuum-expansion process would lead to rupture of vesicle walls, thus releasing oils which would be recoverable through a condensor. We tested this process on lemon, sweet orange, mandarin, and grapefruit peels, and the results are presented thereafter.

### 2. materials and methods

#### 2.1. fruits

Sound mature lemons [*Citrus limon* (L.) Burm, c.v. Primafiori], sweet oranges [*Citrus sinensis* (L.) Osb, c.v. Naveline], mandarins [*Citrus reticulata* Blanco, c.v. Villalate], and grapefruits [*Citrus paradisi* Macfayden, c.v. Ruby Red], were obtained from a local market, stored in the cold (4 °C), and processed a week after. Peels were obtained by gently hand-pressing halved fruits in a Santos® juicer.

## 2.2. solvents and chemicals

The solvents (*n*-pentane, dichloromethane) were of analytical grade. Reference compounds, if available, and *n*-alkanes ( $C_5$ - $C_{22}$ ) standards were from Aldrich Chimie (Saint Quentin Fallavier, France).

## 2.3. flash vacuum-expansion experiment

Peels (100 kg) were introduced through a loading funnel into an horizontal stainless steel steam-heating chamber (*photo 1*) ( $L = 230$  cm,  $l = 40$  cm,  $h = 50$  cm) equipped at its bottom with a rotating twin screw ( $L = 220$  cm,  $\varnothing = 15$  cm) for both conveying and steam-heating the peels at normal pressure through steam injection holes (*photo 2*). Peel exudates and condensed steam were collected through pipes at the heating chamber bottom and disgarded. After having passed through the steam-heating chamber (7 min), heated peels (85-90°C) were introduced through an airtight feeding pump into a large vacuum vessel (*photo 3*) ( $r = 30$  cm,  $h = 150$  cm,  $v = 424$  L) where vacuum (3 kPa) was generated by a vacuum pump cooled by a closed cooling water circuit [9]. Instantly evaporated aromatic liquors (water phase) and essential oils were collected after passage onto a condensor ( $h = 210$  cm,  $\varnothing = 23$  cm); oils were then recovered by centrifugation (9000 g, 5 min) and kept in the cold (-20°C) under argon.

## 2.4. hydrodistillation

Extraction yields of essential oils by flash vacuum expansion (*table I*) were determined by submitting native and vacuum-expanded peels to hydrodistillation. Peels (200 g) were added with distilled water (500 mL), thoroughly mixed at high speed for 3 min in a Waring blender (Waring, USA), and submitted for 3 h to hydrodistillation in a Clevenger-type apparatus.

## 2.5. extraction of volatile compounds

Aliquots (100 g) of native and vacuum-expanded peels were cryomilled in liquid nitrogen with a Danguomill 300 freezer-mill (Prolabo, Paris, France) for 3 min (top impact frequency). An aliquot of the finely pulverized peel (0.5 g) was stirred with 30 mL of azeotropic (pentane/dichloromethane, 2:1) mixture. Phase separation was achieved by centrifugation at 9000 g for 5 min. The upper organic phase was recovered, dried over anhydrous sodium sulfate, and finally concentrated at 37 °C with a 25 cm Vigreux distillation column to a volume of 2 mL. Prior to GC and GC-MS analysis, solvent extracts were diluted (1/10, v/v) in the above azeotropic mixture.

## 2.6. GC analysis

A Varian 3380 gas chromatograph was used with a flame ionization detector (FID), an on-column injector, a DB-Wax (column A, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) fused silica capillary column (60 m x 0.32 mm i.d. x 0.25  $\mu$ m film) or a DB-1 (column B, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) fused silica capillary column (30 m x 0.32 mm i.d. x 0.25  $\mu$ m film). Oven temperature was increased from 40 °C to 245 °C at a rate of 3 °C/min up where it was held for 20 min. Injector temperature was raised from 20 °C to 245 °C at 180 °C/min where it was held for 90 min. Detector temperature was 245 °C. Hydrogen was the carrier gas at 2.0 mL.min<sup>-1</sup>. Injected volumes were 2  $\mu$ L of concentrated extract. Response factors were taken as 1.0 for all compounds, except for limonene (1.3), with reference to *n*-hexanol as internal standard. Linear retention indices were calculated with reference to *n*-alkanes ( $C_5$ - $C_{22}$ ). Concentrations are given as the average of triplicate analyses.

## 2.7. GC-MS Analysis

A Varian 3300 gas chromatograph coupled to a Fisons Trio-1000 quadrupole mass spectrometer with an electron ionization mode (EI) generated at 70 eV was used. The ion source temperature was 200 °C and the filament emission current was 1 mA. The same columns as above were used for separation. Oven temperature was increased from 40 °C to 220 °C at a rate of 3 °C/min up where it was held for 20 min. Injector was heated from 20 °C to 245 °C at 180 °C/min. Detector temperature was 245 °C. Helium was the carrier gas at 1.1 mL.min<sup>-1</sup>. Electron impact mass spectra were recorded in the 40-600 a.m.u. range at 1 s/interval. Injected volumes were 1  $\mu$ L of concentrated extract.

Compounds were identified on the basis of linear retention indices on both columns (DB-Wax and DB-1) and EI mass spectra [10,11] from the literature or from authentic standard compounds.

### 3. results and discussion

#### 3.1. extraction of essential oils by flash vacuum-expansion

The essential oil contents of starting and vacuum-expanded peels were determined using hydrodistillation and the difference was compared to the oil weight actually recovered in the condensor after vacuum-expansion (*table I*).

Efficient recovery of peel essential oils by vacuum-expansion process varies from 2.41 kg.ton<sup>-1</sup> of fruit for lemon to 0.64 kg.ton<sup>-1</sup> for mandarin (*table I*). These values represented 70 to 87% to the theoretical yields, calculated by the difference between oil contents of native and vacuum-expanded peels, showing a good efficiency of the condensing system. Overall extraction yield varies from 27% of oils effectively contained in the grapefruit peels to 44% for lemon. These yields were comparable to the yields attainable by the F.M.C. process, 3, 1.5 and 1 kg.ton<sup>-1</sup> for lemons, sweet oranges, and grapefruits, respectively [6].

#### 3.2. composition of citrus essential oils

Quantitative analysis of volatile compounds were firstly performed on native peels and peels exiting the steam-heating chamber: similar amounts and relative distributions were observed in both cases showing that oils were, neither lost, nor damaged by the first steam-heating step.

Relative percentages of volatile compounds from native peels and condensed essential oils are given in *table II*. With regards to the native peel volatile compounds, the four citrus oils obtained by vacuum-expansion were relatively enriched in limonene, the major citrus peel monoterpene hydrocarbon [5], especially in the case of lemon. Same trend was observed for  $\beta$ -pinene while other monoterpenes remained more or less constant. Behavior of sesquiterpenes [*cis*- and *trans*- $\alpha$ -bergamotene,  $\beta$ -caryophyllene,  $\alpha$ -humulene, (*Z*)- $\beta$ -farnesene, valencene,  $\beta$ -bisabolene, and  $\delta$ -cadinene] was variable, either remaining constant, or decreasing after vacuum-expansion. This relative increase of limonene content is counterparted by a relative decrease of oxygenated compounds.

The relative distribution of volatile components obtained from lemon native peels laid in the range of those reported for Italian lemon peel oils [5] with ~ 65% limonene, ~ 9%  $\beta$ -pinene, ~ 8%  $\gamma$ -terpinene, ~ 1.5%  $\beta$ -myrcene, and ~ 1.5%  $\alpha$ -pinene. Monoterpene aldehydes, neral and geranial, were present at high levels, ~ 1% and ~ 3%, respectively. It must be mentioned that two monoterpene alcohols, nerol and geraniol, were present in very high relative concentrations as compared to Mediterranean or American oils [5,12]. After vacuum expansion, oil was enriched in monoterpene hydrocarbons (limonene,  $\beta$ -pinene,  $\gamma$ -terpinene, sabinene,  $\alpha$ -pinene, and  $\beta$ -myrcene). Monoterpene alcohols (linalool,  $\alpha$ -terpineol,  $\beta$ -citronellol, nerol, and geraniol) and their acetates were drastically reduced while concentrations of monoterpene aldehydes (citronellal, neral, and geranial) were divided by a factor 1.5-2. Aliphatic aldehydes (hexanal, octanal, nonanal, and decanal) were not affected.

The relative distribution of volatile components obtained from sweet orange native peels exhibited a very high proportion of mono- and sesquiterpene hydrocarbons (> 98%) in agreement with previously reported compositions [12]. Apart from valencene which was found in high relative concentration, other compounds (monoterpene and sesquiterpene alcohols and aldehydes) were also found in typical proportions [12]. Vacuum-expansion yielded an essential oil impoverished in monoterpene alcohols, while monoterpene aldehydes and acetates remained unaltered.

The relative distribution of volatile compounds from the native mandarin peels was similar to those from the limonene chemotype of mandarins (*Citrus reticulata* Blanco group)[13], showing a high proportion of limonene (~ 95%) followed by  $\beta$ -myrcene (~ 2%) and sabinene (~ 1%), and having a very low  $\gamma$ -terpinene content. It must be noted that two monoterpene aldehydes (neral and geranial) and acetates of monoterpene alcohols were not detected. As in the three other citrus species, relative proportions of monoterpene alcohols (linalol,  $\alpha$ -terpineol,  $\beta$ -citronellol, and nerol) were lowered by 2-3 x in the oils produced by vacuum-expansion. An aliphatic aldehyde, decanal, was x 4 concentrated in this oil. Sesquiterpene aldehydes ( $\alpha$ - and  $\beta$ -sinensal) were lowered by a factor 3.

The relative distribution of volatile compounds from the native grapefruit peels was typical [12,14], exhibiting a high limonene content (~ 95%) and decreasing proportions of  $\beta$ -myrcene (~ 1.9%),  $\alpha$ -pinene (~

0.5%), and sabinene (~ 0.3%). Linalool and  $\alpha$ -terpineol were the major monoterpene alcohols (~ 0.1-0.15%) of the native peel oil, and their relative levels were divided by 2 x after vacuum-expansion as other monoterpenols,  $\beta$ -citronellol, nerol, and geraniol. Finally the concentration of nootkatone, a typical grapefruit volatile component [15], decreased from 0.3 to 0.05% after vacuum-expansion.

#### 4. conclusion

The flash vacuum-expansion process when applied to peels from different citrus species (lemon, sweet orange, mandarin, and grapefruit) afforded essential oils in yields equivalent to those attainable by the F.M.C. process. Oils were relatively enriched in limonene with a correlative impoverishment in oxygenated compounds (monoterpene alcohols, aldehydes and esters) while aliphatic aldehydes either remained stable or proportionally increased.

#### References

- [1] Pruthi J.S., Parekh C.M., Lal G., An integrated process for the recovery of essential oil and pectin from mandarin orange waste, *Food Sci.* (1961) 372-378.
- [2] Rouse A.H., Crandall P.G., Nitric acid extraction of pectin from citrus peel, *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 89 (1976) 166-168.
- [3] Braddock R.J., Cadwallader K.R., Citrus by-products manufacture for food use, *Food Technol.* (1992) 105-110.
- [4] Food Machinery Corporation, <http://www.fmcfoodtech.com/ourgroupp/citrus/extrac1.htm> (2001).
- [5] Dugo G., The composition of the volatile fraction of the italian citrus essential oils, *Perfum. Flav.*, 19 (1994) 29-51.
- [6] Anonymous, Personal communication, Riverbend S.A., Santomera, Spain (2001).
- [7] Ageron D., Escudier J.L., Abbal P., Moutounet M., Prétraitement des raisins par flash-détente sous vide poussé, *Rev. Fr. Oenol.* 153 (1995) 50-54.
- [8] Cogat P.O., Procédé et matériel d'extraction, concentration, classement de composés volatils, entraînables, sapides et/ou solubles en mélange hydroalcoolique à partir de solides végétaux et animaux, Patent, n° 9205669 (1992), Institut National de la Propriété Industrielle, Paris, France.
- [9] Brat P., Brillouet J.-M., Reynes M., Cogat P.O., Ollé D., Free volatile components of passion fruit puree obtained by flash vacuum-expansion, *J. Agric. Food Chem.*, 48 (2000) 6210-6214.
- [10] Jennings W., Shibamoto T., Compounds and their retention indices, in: Jennings W., Shibamoto T. (eds), *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*, Academic Press, New York, 1980.
- [11] Electronic impact mass spectra library, Wiley, 275L.
- [12] Boelens M.H., A critical review on the chemical composition of citrus oils, *Perfum. Flav.*, 16 (1991) 17-34.
- [13] Lota M.-L., de Rocca Serra, D., Tomi F., Casanova J., Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco, *Biochem. Syst. Ecol.* 28 (2000) 61-78.
- [14] Coleman R.L., Lund E.D., Shaw P.E., Analysis of grapefruit essence and aroma oils, *J. Agric. Food Chem.* 20 (1972) 100-103.
- [15] Sawamura M., Kuriyama T., Quantitative determination of volatile constituents in the pummelo (*Citrus grandis* Osbeck forma Tosa-buntan), *J. Agric. Food Chem.* 36 (1988) 567-569.

**Table I.**

Theoretical and efficient yields<sup>1</sup> (kg.ton<sup>-1</sup>) in citrus peel essential oils obtained by flash vacuum-expansion.

	Lemon	Sweet orange	Mandarin	Grapefruit
Native peels	5.51 <sup>2</sup>	4.96	1.91	2.70
Vacuum-expanded peels	1.89 <sup>3</sup>	3.09	0.98	1.85
Δ	3.62 <sup>4</sup>	1.87	0.93	0.85
Vacuum-expanded essential oil	2.41 <sup>5</sup>	1.43	0.64	0.73
Yield (%)	44	29	33	27

<sup>1</sup>Expressed per ton of fruit.

<sup>2</sup>Maximum recoverable oil amount (obtained by hydrodistillation).

<sup>3</sup>Residual oil in processed peels (obtained by hydrodistillation).

<sup>4</sup>Theoretical recoverable amount (difference between native and vacuum-expanded essential oil peels contents obtained by hydrodistillation).

<sup>5</sup>Amount actually recovered from the condenser.

Table II.

Relative percentage of volatile components of peel essential oils from lemon, sweet orange, mandarin, and grapefruit.

Compound	Lemon				Sweet orange				Mandarin				Grapefruit			
	LRI <sup>1</sup>	LRI <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	B <sup>4</sup>	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
$\alpha$ -Pinene	1028	918	1.53	1.63	0.50	0.50	0.51	0.18	0.48	0.49						
$\alpha$ -Thujene	1032	923	0.33	0.41	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	nd <sup>5</sup>						
Camphene	1066	934	0.05	0.05	0.01	0.01	nd	nd	0.01	nd						
Hexanal	1083	780	nd	nd	0.04	nd	0.01	nd	0.05	nd						
$\beta$ -Pinene	1106	960	8.97	10.77	0.02	0.04	0.06	0.18	0.03	0.06						
Sabinene	1119	960	1.52	1.78	0.35	0.46	1.13	0.28	0.28	0.30						
$\delta$ -3-Carene	1139	996	nd	nd	0.64	0.44	nd	nd	nd	nd						
$\beta$ -Myrcene	1163	976	1.45	1.68	1.91	2.00	1.76	1.50	1.79	1.91						
$\alpha$ -Terpinene	1174	998	0.17	0.22	nd	nd	nd	nd	nd	nd						
Limonene	1198	1022	66.23	70.30	94.41	95.32	94.59	95.70	94.55	95.27						
$\beta$ -Phellandrene	1201	1009	0.28	0.28	nd	nd	nd	nd	nd	nd						
1,8-Cineole	1203	1010	0.02	0.02	nd	nd	nd	nd	nd	nd						
(E)-2-Hexenal	1211	824	0.01	nd	0.02	nd	0.03	nd	0.06	nd						
(Z)- $\beta$ -Ocimene	1232	1023	0.06	0.05	0.01	nd	0.01	0.01	0.01	0.01						
$\gamma$ -Terpinene	1241	1045	8.07	8.85	0.01	0.02	0.01	0.24	0.05	0.05						
(E)- $\beta$ -Ocimene	1247	1038	0.09	0.02	0.03	0.03	0.07	0.05	0.08	0.16						

Table II. continued

<i>p</i> -Cymene	1261	1001	0.07	0.09	nd	nd	nd	0.01	0.01	0.01
$\alpha$ -Terpinolene	1274	1072	0.38	0.39	0.13	0.08	0.04	0.03	0.02	0.01
Octanal	1282	985	0.02	0.05	0.10	0.15	0.05	0.05	0.17	0.35
Nonanal	1384	1077	0.07	0.07	0.02	0.03	0.01	0.01	0.04	0.05
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1460	-	0.07	0.01	0.02	nd	0.01	nd	nd	nd
Citronellal	1467	1128	0.10	0.07	0.06	0.04	0.07	0.10	0.08	0.06
Decanal	1486	1182	0.04	0.03	0.15	0.16	0.18	0.46	0.31	0.18
Isopinocampone	1523	-	0.01	nd	0.02	0.02	0.04	0.07	0.09	0.11
<i>p</i> -Menth-2-en-1-one	1542	-	0.12	0.09	nd	nd	nd	nd	0.01	nd
Linalool	1544	1085	0.26	nd	0.38	0.18	0.35	0.09	0.12	0.05
<i>cis</i> - $\alpha$ -Bergamotene	1556	1431	0.08	0.01	0.07	0.02	0.05	0.03	0.10	0.15
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamotene	1571	1417	0.52	0.24	0.02	0.01	0.03	0.18	0.04	nd
$\beta$ -Caryophyllene	1576	1393	0.33	0.15	0.04	0.05	0.10	0.09	0.30	0.38
Terpinen-4-ol	1590	1160	0.13	0.02	nd	0.01	0.01	nd	nd	nd
$\beta$ -Santalol	1633	-	0.02	0.01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\alpha$ -Humulene	1648	1424	0.03	0.02	0.01	0.01	0.02	0.03	0.05	0.04
Citronellyl acetate	1653	1333	0.03	0.02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
( <i>Z</i> )- $\beta$ -Farnesene	1658	1209	0.11	0.02	0.01	nd	nd	nd	0.03	0.04
Neral	1665	1208	1.13	0.58	0.05	0.05	nd	nd	0.05	0.03



Table II. continued

$\alpha$ -Terpineol	1687	1170	0.63	0.10	0.07	0.03	0.09	0.01	0.07	0.02
Dodecanal	1695	1384	0.03	0.01	0.04	0.02	0.08	0.06	0.08	0.02
Valencene	1696	1240	0.09	0.04	0.39	0.12	nd	nd	0.02	nd
$\beta$ -Bisabolene	1712	1500	0.48	nd	nd	nd	0.04	0.23	0.05	nd
Neryl acetate	1713	1341	0.16	nd	0.01	0.01	nd	nd	0.05	0.03
Geranial	1716	1240	2.90	1.66	0.13	0.09	nd	nd	0.15	0.04
$\delta$ -Cadinene	1739	1516	nd	nd	0.05	0.03	0.11	0.15	0.17	nd
Geranyl acetate	1747	1357	0.32	0.14	0.02	0.01	nd	nd	0.07	0.05
$\beta$ -Citronellol	1763	1208	0.19	0.01	0.04	nd	0.05	0.02	0.03	0.02
Nerol	1793	1208	1.07	0.02	0.05	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01
Geraniol	1843	1240	1.70	0.02	0.07	0.01	0.02	0.02	0.05	0.02
(E)-Nerolidol	2013	1547	0.03	0.01	0.01	nd	0.02	0.02	0.02	0.01
$\gamma$ -Eudesmol	2151	-	0.03	0.01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\alpha$ -Bisabolol	2200	1662	0.05	0.01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
$\beta$ -Sinensal	2201	1673	nd	nd	0.01	0.02	0.11	0.04	0.04	0.01
$\alpha$ -Sinensal	2272	1726	nd	nd	0.01	nd	0.33	0.16	0.05	nd
Nootkatone	2280	1802	0.01	0.05	0.05	0.02	nd	nd	0.33	0.05

<sup>1</sup>Linear retention index on DB-Wax.<sup>2</sup>Linear retention index on DB-1.<sup>3</sup>A = from native peels.<sup>4</sup>B = from vacuum-expanded essential oil. <sup>5</sup>nd = not detected.

**Photo captions**

**Photo 1.**

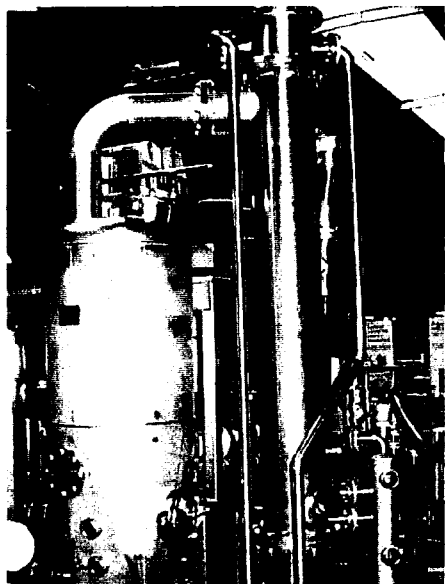
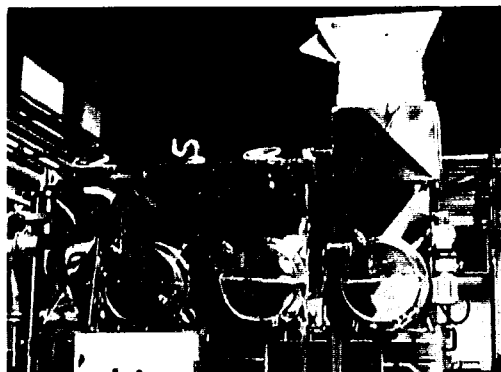
Steam-heating chamber of the flash vacuum-expansion process (with the permission of FABBRI S.A., 84320 Entraigues, France).

**Photo 2.**

Steam-heating injection screw (with the permission of FABBRI S.A., 84320 Entraigues, France).

**Photo 3.**

Vacuum chamber and oil recovering system (with the permission of FABBRI S.A., 84320 Entraigues, France).



**ANNEXE IV. POSTER**

**«Extraction d'huiles essentielles d'agrumes  
par le procédé de flash-détente®»**



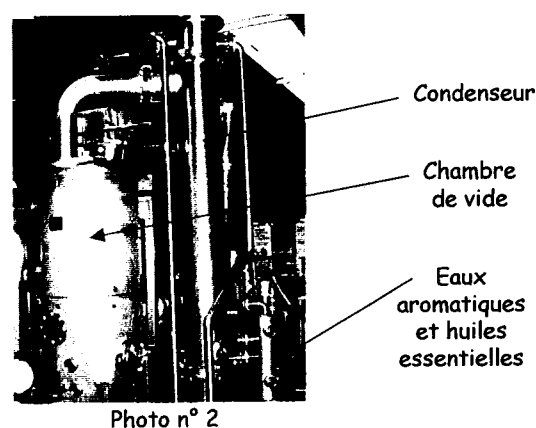
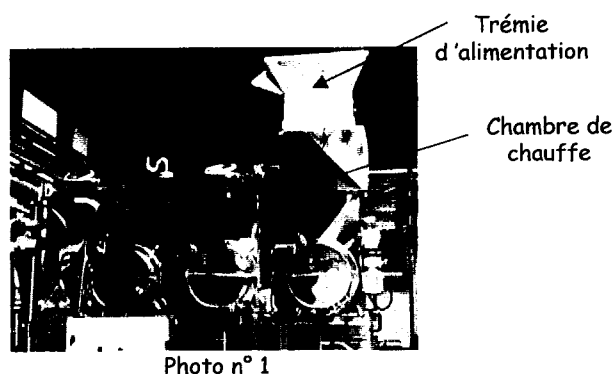
Pierre BRAT, CIRAD-FLHOR, Montpellier (34)

## INTRODUCTION

L'extraction d'huiles essentielles d'agrumes représente un enjeu économique croissant dans le domaine des co-produits industriels. Ces huiles, notamment utilisées dans la parfumerie, les déodorants ou comme additifs alimentaires, ont été extraites par mise en œuvre du procédé de Flash-Détente®. Ce procédé, déjà utilisé pour l'obtention de nouveaux produits intermédiaires (Brat et al., 2000<sup>a,b</sup>), a été appliqué à l'extraction d'huiles essentielles localisées dans le flavedo des écorces d'agrumes.

## MATERIELS ET METHODES

Quatre espèces d'agrumes ont été testées : pomelos (*Citrus paradisi*, cv. red ruby), oranges douces (*Citrus sinensis*, cv. naveline), mandarines (*Citrus reticulata*, cv. villalate) et citrons (*Citrus limon*, cv. primafiori). Les fruits ont tout d'abord été étuvés à 85-90 °C par de la vapeur d'eau (photo n°1) puis brutalement introduits dans une chambre de vide (3 kPa) surdimensionnée (photo n°2). La mise sous vide instantanée provoque l'explosion des glandes à huiles essentielles du flavedo qui sont ensuite condensées puis récupérées sous forme d'émulsion avec les eaux d'évaporation. Les huiles ainsi obtenues sont analysées par chromatographie en phase gazeuse et comparées aux huiles natives contenues dans le flavedo des fruits avant traitement, extraites d'un broyat de flavedo par un mélange pentane/dichlorométhane (2:1).



## RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 1 : teneurs (en litre par tonne de fruit) et rendements d'extraction en huiles essentielles obtenues par le procédé de Flash-Détente®

	pomelo	orange	mandarine	citron
Fruits frais (1)	3.17	5.84	2.25	6.48
Fruits après Flash-Détente® (2)	2.18	3.63	1.15	2.22
Huiles théoriquement récupérables (1) - (2)	0.99	2.21	1.1	4.26
Huiles récupérées (3)	0.86	1.68	0.75	2.83
Rendement d'extraction (3) / (1)	27%	29%	33%	44%

Le procédé de Flash-détente® permet de récupérer effectivement environ 70 % des huiles essentielles théoriquement récupérables (= différence des teneurs entre fruits frais et fruits après Flash-détente®); les volumes produits pour ces quatre espèces d'agrumes sont similaires (Tableau 1), voire supérieurs, aux volumes maxima obtenus par le procédé F.M.C. (Riverbend, 2000<sup>c</sup>). Les rendements d'extraction sont de 30 à 40 %.

Les huiles essentielles d'agrumes extraites par le procédé de Flash-Détente® sont enrichies en limonène par rapport aux huiles natives (+ 4 % dans le cas du citron) et plus généralement en mono- et sesquiterpènes. Ces huiles sont relativement plus riches en aldéhydes augmentant ainsi leur potentiel aromatique (Figure 1). Une nette diminution en alcools terpéniques est notée dans les quatre huiles d'agrumes extraites par Flash-Détente®.

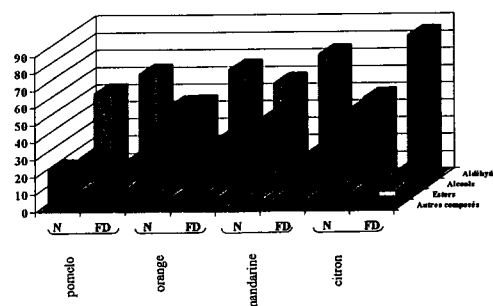


Figure 1 : Répartition des classes de composés aromatiques (hors hydrocarbures terpéniques) dans les huiles essentielles natives (N) et extraites par Flash-Détente® (FD).

(a) Brat et al., 2000. Free volatile components of passion fruit puree obtained by flash vacuum-expansion, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 6210-6214.  
(b) Brat et al., 2001. Preparation of passion fruit puree by Flash vacuum-expansion. Journal of Food Science, acceptée pour publication.  
(c) Riverbend, 2000. Communication personnelle.

## APPLICATION DU PROCEDE DE FLASH-DETENTE® SOUS VIDE AUX FRUITS TROPICAUX ET MEDITERRANEENS POUR LA PREPARATION DE PUREES ET HUILES ESSENTIELLES

EX

La flash-détente® sous vide, une nouvelle alternative aux procédés traditionnels de blanchiment-broyage, est un procédé consistant à étuver le matériel végétal (fruits, légumes) à 60-90°C puis à l'introduire brutalement dans une chambre sous vide poussé (30-50 mBar). Lors de la détente sous vide, l'évaporation instantanée d'une fraction de l'eau de constitution (~10 %) entraîne une désaggrégation du matériel végétal suite à l'expansion avec formation de micro-canaux intercellulaires.

Ce procédé adiabatique, mis en œuvre sur fruit de la passion pourpre, mangue et citron, a permis d'obtenir après raffinage des purées présentant des caractéristiques particulières par rapport aux jus et purées obtenus par un procédé traditionnel. Les purées flash détente® présentent des consistances et viscosités très nettement supérieures aux produits de référence suite à l'incorporation d'une partie de l'enveloppe externe des fruits et donc à des teneurs en parois cellulaires plus élevées, mais aussi de par l'accroissement de l'espace intercellulaire au niveau de la lamelle moyenne. Les purées flash détente® présentent aussi des colorations plus claires et plus intenses suite à l'incorporation de molécules colorées (anthocyanes) ou de tissus blanchâtres (albedo) provenant de l'enveloppe externe des fruits, avec, pour le citron, une amérisation de la purée flash détente®.

Enfin, des huiles essentielles ont été récupérées par application du procédé de flash-détente® à des écorces d'agrumes (citron, orange douce, mandarine et pomelo) avec des rendements comparables aux procédés d'extraction traditionnels. En comparaison avec des huiles pressées à froid, elles sont enrichies en hydrocarbures terpéniques et appauvries en composés oxygénés.

**Mots clés :** flash-détente®, fruit de la passion pourpre, mangue, agrumes, purées, parois, viscosité, couleur, composés volatils, huiles essentielles.

---

## PREPARATION OF PUREES AND ESSENTIAL OILS FROM TROPICAL AND MEDITERRANEAN FRUITS BY THE FLASH VACUUM-EXPANSION PROCESS

Flash vacuum-expansion®, a new alternative to traditional blanching-crushing processes, is a process consisting in steaming plant material (fruits, vegetables) at 60-90°C then instantly introducing it into a vacuum chamber (30-50 mBar). At the time of expansion, the instantaneous evaporation of a fraction of water (~10 %) leads to a disaggregation of plant material due to expansion with creation of intercellular micro-channels.

This adiabatic process, when applied to purple passion fruit, mango and lemon, allowed, after fining, obtaining of purees exhibiting peculiar characteristics with regards to juices and purees obtained by a traditional process. The vacuum-expanded purees exhibit consistencies and viscosities far higher than reference products due to incorporation of a fraction of fruit outer portion, thus to higher levels in cell walls, but also to an increase of the intercellular space at the middle lamella level. The vacuum-expanded purees show clearer and more intense colours due to incorporation of coloured molecules (anthocyanins) or of whitish tissues (albedo) arising from the outer portion of fruits, with, for lemon, a bittering of the flash vacuum-expanded puree.

Finally, essential oils were recovered by applying the flash vacuum-expansion process to citrus peels (lemon, sweet orange, mandarin and grapefruit) in yields comparable to those obtained by traditional extraction processes. When compared to cold-pressed oils, they are enriched in terpene hydrocarbons and impoverished in oxygenated compounds.

**Keywords :** flash vacuum-expansion, purple passion fruit, mango, citrus, purees, cell walls, viscosity, volatile compounds, essential oils.