



**HAL**  
open science

# Procédé novateur d'extraction de jus de fruits par micro-onde : viabilité de fabrication et qualité nutritionnelle des jus

Aurélie Cendres

► **To cite this version:**

Aurélie Cendres. Procédé novateur d'extraction de jus de fruits par micro-onde : viabilité de fabrication et qualité nutritionnelle des jus. Alimentation et Nutrition. Université d'Avignon, 2010. Français. NNT : 2010AVIG0319 . tel-00557288v2

**HAL Id: tel-00557288**

**<https://theses.hal.science/tel-00557288v2>**

Submitted on 18 Jan 2011

**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.



ACADEMIE D'AIX-MARSEILLE  
UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE

---

# THESE

présentée pour obtenir le grade de Docteur en Sciences  
de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

**SPECIALITE : Biochimie**

Procédé novateur d'extraction de jus de fruits par micro-onde :  
viabilité de fabrication et qualité nutritionnelle des jus

par Aurélie CENDRES

soutenue le Mercredi 29 Septembre devant un jury composé de

M. Farid CHEMAT	Professeur, Avignon,	Président du jury
M. Jan OSZMIANSKI	Professeur, Wroclaw,	Rapporteur
M. Gérard VILAREM	Ingénieur-HDR, Toulouse,	Rapporteur
Mme Catherine HUBERT	Docteur, resp. R&D, Levallois-Perret,	Examineur
M. Michel MIKOLAJCZAK	Ingénieur d'études, Pech-Rouge,	Examineur
Mme Catherine RENARD	Directeur de recherche, Avignon,	Directeur de thèse

---

Ecole doctorale Sciences des Procédés, Sciences des Aliments  
Laboratoire INRA, Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale



## REMERCIEMENTS

*Ce travail à été réalisé à l'UMR Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale de l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA) du centre de recherche de Avignon, dirigée par Monsieur Christophe N-Guyen Thé.*

*Je remercie, en premier lieu, Monsieur N-Guyen Thé de m'avoir accueilli dans son service.*

*Ce travail a été réalisé sous la direction scientifique de Madame Catherine Renard. Ses compétences, ses conseils et son implication pour la rédaction ont contribué, pour une grande part, à sa réalisation. Je tiens à la remercier vivement et à lui exprimer toute ma reconnaissance.*

*Monsieur Oszmianski, professeur à l'Université de Wroclaw (Pologne) et Monsieur Vilarem, ingénieur-HDR à l'Ensiacet de Toulouse ont accepté d'être rapporteurs de ce travail, je les en remercie vivement.*

*Mes remerciements s'adressent également à Madame Hubert, docteur et responsable du service Recherche et Développement du groupe Orangina-Schweppes et Monsieur Mikolajczak Ingénieur d'études à Pech Rouge qui ont accepté de juger ce travail.*

*Je tiens également à remercier Monsieur Chemat, professeur à l'Université d'Avignon, pour ses conseils durant cette thèse.*

*Durant cette thèse, j'ai réalisé un stage en Pologne à l'Institut de Recherche de Pomologie et Floriculture, je remercie Messieurs W. Plocharski et J. Markowski de m'avoir accueillie, et aussi pour leurs conseils, et leur implication durant ce stage. Je remercie également Monika K., Monika M. et Katia de m'avoir aidé dans la partie expérimentale et aussi pour m'avoir servi de guide dans la découverte de la Pologne. J'ai passé de fabuleux moments alliant culture géographique, historique mais aussi coutume locale !*

*Je tiens à remercier toute mon équipe fruits pour leur sympathie, leur réconfort sans faille, leur disponibilité et leur aide durant cette thèse. Merci à David Page, Christian Giniès dont j'attends avec impatience ma revanche au tennis, Sylvie Bureau, Sylvaine Régis, Maryse Reich, Carine Le Bourvellec, Jean-François Maingonnat, Barbara Gouble, Dominique Loonis, Marielle Bogé et aux autres personnes de mon équipe qui ont contribué à ce travail. Une spéciale dédicace à David, « merci de m'avoir tenu la porte, ça y'est j'y suis !!!Merci, jusqu'à la dernière minute tu as été là, et grâce à toi et la superbe moto (Bandit, Suzui, Japan), dépôt à temps !!! »*

*Un grand remerciement à mes amis thésards et stagiaires d'Avignon pour leur soutien, leur aide et leur sympathie, ceux de mon équipe : Mélanie, Nico, Aude, Toutoune, Chérif et ceux d'ailleurs : Chloé, Sébastien, Matthieu, Fanny, Rémy, Alban, Céline, Eric.*

*Je remercie également Julien, Kiki, Béné de l'équipe microbiologie, Iwona et Maria, de contrées lointaines, pour les bon moments passés ensemble, allant du chemin de la cantine, au bus de Mimizan...*

*Mes derniers remerciements et non des moindres s'adressent à mes parents, à mon frère, ma belle-sœur, et Titou pour leur soutien à tout moment. Je tiens aussi spécialement à remercier Thomas, pour tout son soutien, son aide et sa présence. A ces personnes, je leur dédie mon travail, « sans vous je ne serai pas là aujourd'hui. Vous avez fait de moi ce que je suis, je ne sais pas si le résultat est bon, mais au moins, je sais que pour vous ça vous va, et c'est capital à mes yeux ».*



## AVANT PROPOS

Une partie des travaux soumis dans ce manuscrit de thèse a donné lieu à la rédaction de deux articles scientifiques dans des journaux internationaux à comité de lecture. Un autre article est en préparation. Ces travaux ont également été valorisés scientifiquement par une communication orale et deux communications par affiche.

### • **Soumissions scientifiques dans des revues à comité de lecture**

- An innovating process for extraction fruit juice using microwave heating

Aurélie Cendrès, Farid Chemat, Jean-François Maingonnat & Catherine M.G.C. Renard

Soumission Mars 2010 : LWT : Food Science and Technology

- Microwave extraction of fruit juice from frozen fruits: kinetic of extraction and composition

Aurélie Cendrès, Farid Chemat, Jean-François Maingonnat & Catherine M.G.C. Renard

Soumission Juillet 2010

### • **Article en préparation**

- Fruit juice extraction by microwave : Impact of the processing variants on extraction of macroconstituents and polyphenols

Aurélie Cendrès, Farid Chemat, Carine Le Bourvellec, David Page & Catherine M.G.C. Renard

### • **Communication orale dans un congrès international**

CIGR postharvest, Potsdam (Allemagne), Septembre 2009

- Microwave extraction of fruit juice from frozen fruits: kinetic of extraction and composition

Aurélie Cendrès, Farid Chemat, Jean-François Maingonnat & Catherine M.G.C. Renard

### • **Communication par affiche dans des congrès internationaux**

FAV Health, octobre 2009, Avignon

- Phenolics composition of plum juice from enzymatic and microwave process

Aurélie Cendrès, Monika Fastyn, Jarek Markowski, Carine Le Bourvellec, Farid Chemat & Catherine MCG Renard

Polyphénols, Aout 2010, Montpellier

- Polyphenols diffusion during microwave juice extraction

Aurélie Cendrès, David Page, Carine Le Bourvellec, Farid Chemat & Catherine MCG Renard

## Table des matières

<b><u>INTRODUCTION</u></b> .....	<b>9</b>
<b><u>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</u></b> .....	<b>13</b>
<b><u>Chapitre I : Micro-ondes, applications industrielles, et impacts sur les aliments</u></b> .....	<b>15</b>
1 Généralités .....	16
2 Gamme de fréquence d'utilisation.....	17
3 Instrumentation.....	18
3.1 Le magnétron.....	18
3.2 Le guide d'ondes .....	19
3.3 Applicateur .....	19
3.4 Réacteur .....	21
4 Chauffage et procédés alimentaires.....	21
5 Applications industrielles des micro-ondes.....	23
5.1 Séchage.....	23
5.2 Décongélation.....	24
5.3 Traitement de déchets.....	25
5.4 Pasteurisation.....	25
5.5 Micro-ondes et sécurité .....	26
6 Propriétés diélectriques des aliments.....	27
6.1 Principe.....	27
6.2 Paramètres .....	29
6.3 Propriétés diélectriques des fruits.....	30
<b><u>Chapitre II : Production industrielle des jus de fruits</u></b> .....	<b>32</b>
1 Définition et réglementation.....	33
1.1 Jus de fruits.....	33
1.2 Jus de fruits obtenus à partir d'un concentré.....	34

1.3 Jus de fruits concentrés et deshydratés.....	34
1.4 Nectars de fruits.....	34
1.5 Ingrédients autorisés.....	35
1.6 Substances autorisées et seuils tolérés.....	35
1.7 Traitements autorisés.....	35
2 Fabrication de jus de fruits.....	37
2.1 Préparation des fruits : sélection, lavage, calibrage.....	37
2.2 Extraction des jus.....	38
2.3 Technologies d'aide au pressurage.....	44
2.4 Procédés de décontamination microbiologique.....	57
<u>Chapitre III : Constitution des fruits et impact des technologies de transformation.....</u>	<u>59</u>
Les constituants des fruits.....	60
1.1 Macroconstituants.....	60
1.2 Constituants mineurs.....	67
<u>Chapitre IV : La prune comme fruit modèle.....</u>	<u>99</u>
1 Prune: historique, description, production.....	99
2 La production de jus de prune.....	102
2.1 Paroi.....	102
2.2 Procédé.....	103
<b><u>MATERIELS ET METHODES.....</u></b>	<b><u>109</u></b>
1 Matériel végétal.....	109
1.1 Prunes.....	109
1.2 Raisins.....	109
1.3 Abricots.....	109
1.4 Lot expérimental.....	109
1.5 Réactifs et standards analytiques.....	110

2 Micro-onde .....	112
2.1 Description du matériel .....	112
2.2 Extraction de jus de fruit .....	113
3 Extraction par pressurage.....	115
4 Méthodes analytiques .....	116
4.1 Pénétrométrie.....	116
4.2 Matière sèche.....	116
4.3 Brix .....	117
4.4 Viscosité .....	117
4.5 Sucres et Acides .....	117
4.6 Polyphénols totaux .....	118
4.7 Dosage des anthocyanes .....	120
4.8 Protéines .....	121
4.9 Préparation du Matériel Insoluble à l'alcool .....	122
4.10 Dosage des oses neutres .....	122
4.11 Dosage du méthanol .....	124
4.12 Dosage de l'acide galacturonique.....	125
4.13 Dosage de polyphénols spécifiques.....	126
5 Analyse sensorielle .....	132
6 Analyse statistique.....	132
<b><u>RESULTATS ET DISCUSSIONS</u></b> .....	<b>134</b>
<u>Partie I : Mise en place d'un nouveau procede d'extraction du jus de fruits</u> .....	135
1 Origine.....	135
2 Caractéristiques générales des fruits .....	136
3 Optimisation du Procédé d'extraction .....	137
3.1 Extraction des jus et description.....	137

3.2 Influence de la matière première végétale.....	142
3.3 Procédés.....	151
3.4 Conclusion.....	157
4 Analyse sensorielle des jus de fruits.....	158
4.1 Test.....	158
4.2 Conclusion.....	159
5 Comparaison avec un procédé enzymatique.....	160
5.1 Méthode de fabrication des jus.....	160
5.2 Besoin énergétique.....	162
6 Conclusion.....	163
<u>Partie II : composition des jus en macroconstituants et polyphénols : impact du procédé.....</u>	<u>165</u>
1 Composition des fruits.....	166
1.1 Abricot.....	166
1.2 Raisin.....	166
1.3 Prune.....	167
2 Composition des jus de fruits.....	169
2.1 Jus d'abricot.....	170
2.2 Jus de raisin.....	171
2.3 Jus de prune.....	172
3 Impact des variables du procédé sur la composition des jus.....	174
3.1 Impact de la surmaturité.....	174
3.2 Impact de la congélation.....	175
3.3 Impact de la décongélation préalable.....	176
3.4 Impact du condenseur.....	176
3.5 Impact de la puissance.....	177
3.6 Conclusion.....	179

4	Dynamique d'hydrodiffusion .....	179
4.1	Les sucres .....	180
4.2	Les acides .....	180
4.3	Polyphénols .....	181
4.4	Conclusion.....	183
5	Du fruit au jus.....	183
5.1	Transfert du sucre .....	184
5.2	Transfert des acides .....	185
5.3	Transfert des polyphénols.....	186
5.4	Conclusion.....	188
6	Comparaison avec un procédé d'extraction classique.....	189
6.1	Impact du procédé .....	190
6.2	Conclusion.....	192
7	Conclusion.....	193
	<b><u>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</u></b> .....	<b>195</b>
	<b><u>BIBLIOGRAPHIE</u></b> .....	<b>201</b>

# *INTRODUCTION*

La consommation des fruits et légumes a un effet santé reconnu (Kim, Jeong *et al.*, 2003) qui a pu être associé à leur potentiel antioxydant. Cependant, la consommation quotidienne préconisée de 5 portions par le Plan National Nutrition Santé (PNNS) semble difficile à atteindre. Parmi les freins à la consommation de ces produits, leur prix élevé, leur saisonnalité, leur fragilité, leur faible durée de conservation sont les raisons couramment évoquées par les consommateurs.

Les jus de fruits, de par leur praticité, peuvent être un moyen attractif pour contribuer à remplir les objectifs du PNNS en termes de consommation de fruits et légumes. D'ailleurs, un marché porteur se développe autour de jus de fruits aux nouveaux goûts et aux hautes valeurs nutritionnelles, liées, en particulier, à des teneurs élevées en antioxydants dont les polyphénols. Cependant l'innovation « procédé » est limitée dans cette filière. Les industriels sont essentiellement équipés de presses, or ce procédé n'est pas adapté à l'extraction de jus à partir de tous les types de fruits. En effet, certains fruits, comme les fruits rouges, présentant des teneurs élevées en polyphénols, ne se prêtent que très mal au pressurage. Des prétraitements enzymatiques prolongés sont nécessaires pour vaincre ces difficultés de pressurage, favorisant l'apparition d'une couleur brune des jus (Siddiq, Arnold *et al.*, 1994; Will et Dietrich, 2006). De plus, les rendements en jus et en composés d'intérêt nutritionnel sont faibles.

Pour pallier ces problèmes, nous avons mis en place un procédé innovant d'extraction de jus de fruits. Ce procédé dérive du brevet européen déposé par les co-possesseurs Chemat, Vian *et al.* (2007) et la société Milestone (fabriquant du four micro-onde). L'invention repose sur l'hydrodiffusion de composés biologiques par l'irradiation micro-onde. L'hydrodiffusion consiste à chauffer instantanément par micro-onde l'eau de la matière première. La pression interne des cellules du fruit va augmenter provoquant ainsi leur éclatement et le relargage de leurs molécules fonctionnelles comme les antioxydants. Ce procédé a été validé pour l'huile essentielle (Vian, Fernandez *et al.*, 2008) mais aucun travail préalable à cette thèse n'a testé l'extraction de jus de fruit par micro-onde.

Nous proposons d'obtenir par ce procédé un jus de fruit naturel, 100% pur jus, sans aucun auxiliaire de fabrication et sans aucune transformation préalable du fruit tels que le dénoyautage et l'enzymation. Les travaux effectués au cours de ces trois années visaient deux objectifs :



- l'adaptation du procédé micro-onde à l'extraction des jus de fruits ;
- la caractérisation de l'impact des variantes du procédé sur la composition des jus.

La première partie étudie les conditions d'extraction de jus de fruits par micro-onde. Dans le but d'optimiser ce procédé et de mieux appréhender les phénomènes liés à l'extraction, nous avons étudié l'influence de la matière première végétale, en faisant varier les espèces de fruit (abricot, raisin, prune), les variétés (prune cv. Président et Najbolia) et l'état des fruits : frais, surmatures, congelés, déstructurés et décongelés, ce qui correspond à des variations de l'état et de l'accessibilité de l'eau. Une étude de l'influence de la puissance, ainsi que de l'ajout d'un condenseur, a aussi été réalisée. Un modèle phénoménologique a été établi, celui-ci permet de suivre des paramètres complémentaires tel le débit d'extraction. Les rendements en jus ont été reliés aux variations de la matière première et du procédé, et comparés à une extraction classique. L'acceptabilité de ces jus a été validée par une analyse sensorielle.

La seconde partie de notre projet a consisté à étudier la composition des jus obtenus par micro-onde en fonction des variables préalablement citées, à étudier la dynamique d'extraction des composés nutritifs des jus au cours du traitement et à calculer les rendements de transfert de ces composés du fruit au jus. La comparaison avec le jus obtenu par pressurage permettra de situer notre procédé à l'égard de la concurrence des autres procédés.

La prune a constitué notre modèle d'étude principal pour plusieurs raisons :

- Ce fruit est pauvre en sucre, de plus ses fortes teneurs en antioxydants font de la prune un fruit à haute valeur nutritionnelle.
- L'extraction et la consommation de jus de prune ne sont pas développées en France, car ce fruit se prête très mal au pressurage, ce qui entraîne des coûts de production élevée. L'Europe de l'Est (Allemagne, Pologne) ont quant à eux un marché du jus de prune, cependant, ce qui est effectivement commercialisé est le plus souvent un nectar (dilution par une addition d'eau sucrée) et non un pur jus.

- Une collaboration dans un projet Européen a facilité les déplacements nécessaires à la réalisation d'un jus par pressurage, afin de positionner notre procédé pour les rendements en jus et les transferts de composés nutritifs du fruit au jus.

Avant de présenter les résultats de nos études, les travaux antérieurs feront le point sur les différents aspects impliqués dans ce travail : les micro-ondes et leur utilisation en agro-alimentaire, les technologies d'extraction de jus, la composition de fruits et de jus. Les méthodes et matériels expérimentaux utilisés seront décrits dans la seconde partie. Dans une troisième partie, seront présentés les résultats expérimentaux, tout d'abord les aspects traitant plus spécifiquement du procédé, puis ceux décrivant la composition des jus obtenus. Enfin une conclusion générale fera le point des résultats les plus marquants.

*SYNTHESE*  
*BIBLIOGRAPHIQUE*

Dans le rapport de la Commission de l'Organisation de Coopération et de Développement Economique d'OSLO (OCDE, 1997), il est entendu par « innovation technologique de procédé, la mise au point/l'adoption de méthodes de production ou de distribution nouvelles ou notablement améliorées. Elle peut faire intervenir des changements affectant – séparément ou simultanément – les matériels, les ressources humaines ou les méthodes de travail ».

Un procédé innovant d'extraction par micro-onde a fait l'objet d'un brevet déposé par l'Université d'Avignon en 2007 pour l'extraction d'huile essentielle. Dans le cadre de ma thèse, ce même procédé a été adapté pour l'extraction de jus de fruit par micro-onde. Dans ce sujet qui allie procédé technologique et alimentaire, la synthèse bibliographique reprendra les connaissances actuelles sur le micro-onde et sur les jus de fruits ainsi que leurs composés nutritifs.

- ➔ La première partie décrira les micro-ondes avec une approche théorique pour discerner les différences entre énergie électromagnétique et énergie thermique conventionnelle. Cette partie traitera des propriétés diélectriques des aliments et des principaux procédés d'extraction par micro-ondes dans le domaine de l'agro-alimentaire.
- ➔ La deuxième partie traitera des jus de fruits, boissons recommandées dans le cadre du Plan National Nutrition Santé comme 1 portion de la consommation préconisée des 5 fruits et légumes par jour. Les différents jus de fruits seront définis selon les normes du Codex Alimentarius, et les différentes étapes de fabrication de jus de fruits seront décrites. Les aides aux pressurages et les méthodes de décontaminations microbiologiques seront développées.
- ➔ La constitution des principaux composés nutritifs des jus de fruits sera abordée lors de la troisième partie de cette synthèse bibliographique.
- ➔ Enfin, le fruit modèle choisi, la prune, sera décrit plus en détails en quatrième partie.

# CHAPITRE I

## MICRO-ONDES, APPLICATIONS INDUSTRIELLES, ET IMPACTS SUR LES ALIMENTS

### 1 Généralités

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde intermédiaire entre l'infrarouge et les ondes de radiodiffusion. L'utilisation de ces ondes pourra être répartie en deux catégories distinctes: l'onde pourra être porteuse d'informations comme dans les télécommunications (téléphones portables, satellites, GPS, radars...) ou vecteur d'énergie (chauffage, décongélation, séchage, cuisson...) grâce à la friction et à l'agitation moléculaire produites par la migration des ions et la rotation dipolaire. A ce jour, cette application est largement utilisée dans le milieu industriel et les foyers, mais a cependant nécessité de nombreuses années de recherche avant d'être populaire et acceptée par le grand public. La découverte des micro-ondes s'est faite fortuitement : c'est au cours de la seconde guerre mondiale, lors de travail sur l'optimisation des radars, que se profile l'invention. En 1946, le docteur Percy Spencer en travaillant à proximité d'un radar en activité, remarqua que la barre chocolatée qui se trouvait dans la poche de sa blouse avait fondu. Rapidement, il testa d'autres matrices (pop corn, œufs...), et se rendit compte que les micro-ondes pouvaient véhiculer une énergie substantielle. Les recherches secrètes qui suivirent portèrent le nom de « *The Speedy Weenie* ». En 1950, un brevet est déposé par la société Raytheon concernant l'utilisation des micro-ondes pour la cuisson des aliments (Figure 1). L'invention intéressa alors de nombreux ingénieurs et industriels qui s'affrèrent au développement de cette nouvelle technologie. Le premier four à micro-ondes est commercialisé en 1953 sous le nom de « *Radarange* » (Gallawa, 2007).

Jan. 24, 1950

P. L. SPENCER  
METHOD OF TREATING FOODSTUFFS  
Filed Oct. 8, 1945

2,495,429

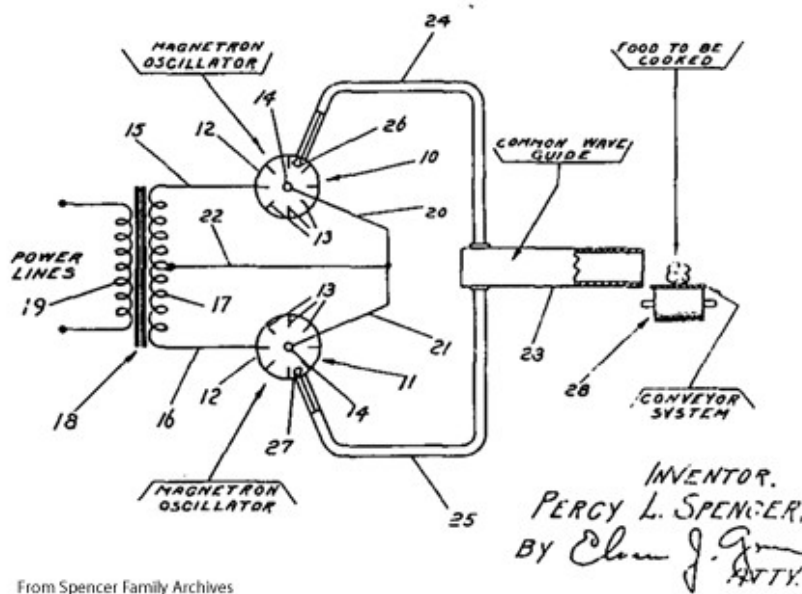


Figure 1: Brevet original déposé par la société Raytheon concernant l'utilisation du micro-onde pour la cuisson des aliments (Gallawa, 2007).

Depuis quelques années, les fours micro-ondes ont pu faire leur entrée dans les laboratoires et devenir un axe de recherche considérable. Aujourd'hui, de nombreux auteurs ont relaté les avantages des micro-ondes dans divers procédés physiques et/ou chimiques que ce soit au niveau de l'industrie ou du laboratoire.

Ces ondes électromagnétiques ont pu être appliquées dans des domaines variés comme : la synthèse organique (Pichowicz, Simpkins *et al.*, 2006), l'environnement, l'agroalimentaire (Zhang, Qi *et al.*, 2006; Viro, Tomao *et al.*, 2007), la médecine (Fang, Meaney *et al.*, 2010), l'extraction... . L'application du micro-onde dans le domaine agro-alimentaire est dépendante du procédé de transformation mais aussi des propriétés intrinsèques des aliments.

## 2 Gamme de fréquence d'utilisation

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques de haute fréquence non ionisantes comprises entre les ondes radiophoniques et les infrarouges. La gamme de fréquences des micro-ondes est comprise entre 300 MHz et 300 GHz, ce qui correspond à des longueurs d'ondes s'étendant d'environ 1 m à 1 mm. Les dimensions des longueurs d'ondes peuvent donc être sensiblement équivalentes aux objets à traiter, ainsi la pénétration de l'onde dans la matrice étudiée peut être considérée comme efficace. La place des micro-ondes dans le spectre électromagnétique est représentée en figure 2.

En 1959, la commission fédérale de communication a adopté à Genève un accord 6 A. visant l'utilisation des micro-ondes dans les domaines médicaux, industriels et scientifiques. Ainsi, les plages de fréquences suivantes ont été autorisées :  $915 \pm 25$  MHz,  $2450 \pm 13$  MHz,  $5800 \pm 75$  MHz et  $22125 \pm 125$  MHz. Ceci permet de ne pas créer d'interférences avec les fréquences des systèmes de télécommunications. De manière générale, les foyers domestiques sont équipés de fours travaillant à une fréquence de 2,45 GHz avec une puissance comprise entre 600 et 1000 W (Datta et Anantheswaran, 2001).

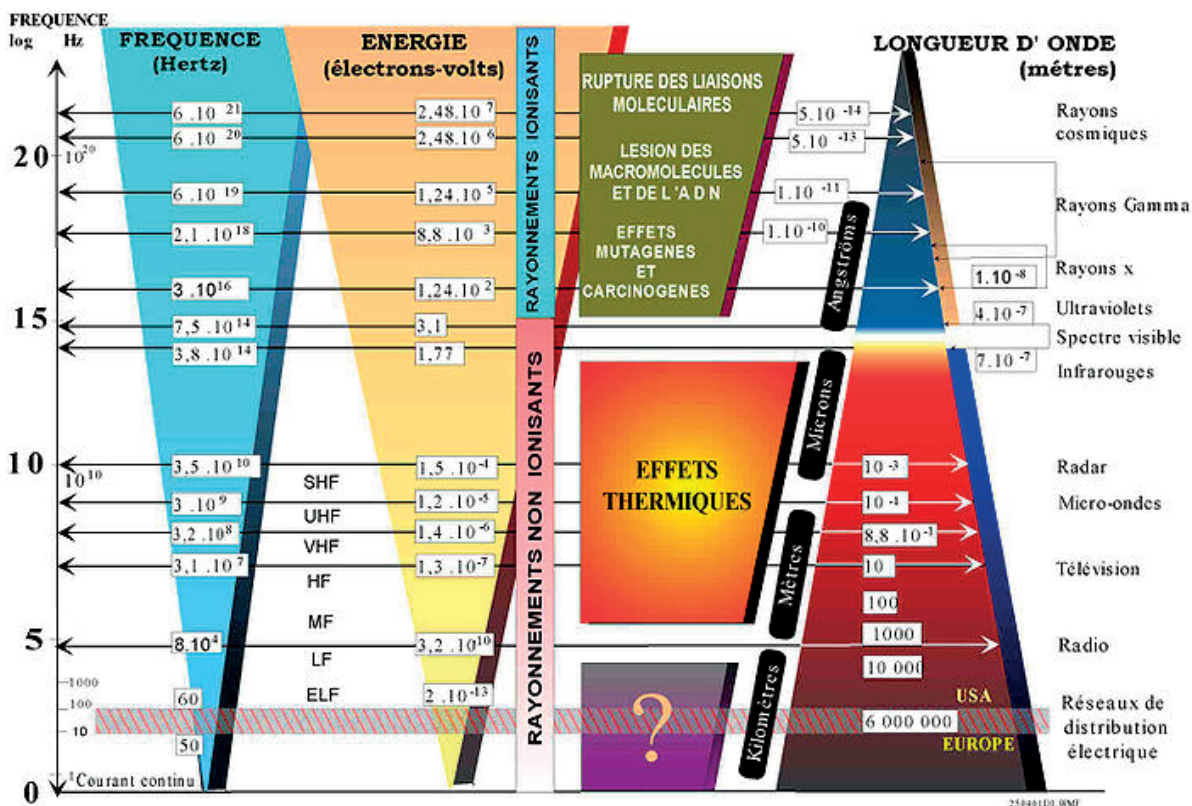


Figure 2: Les micro-ondes dans le spectre électromagnétique (Virot, 2009).

### 3 Instrumentation

Un four micro-onde se compose de trois parties différentes : un magnétron, un guide d'ondes et un applicateur. Grâce au courant du secteur (220 V, 50 Hz), une onde électromagnétique va être initiée par le magnétron ; cette onde magnétique, diffusée par l'antenne à une fréquence très élevée sera propagée dans le guide d'ondes en direction de l'applicateur dans lequel se trouve l'échantillon à traiter. Ces éléments constituent les pièces fondamentales d'un four micro-onde. En outre, de nombreux éléments peuvent être ajoutés et adaptés en fonction des besoins de l'expérience (Gallawa, 2007).

#### 3.1 Le magnétron

Le magnétron constitue le cœur du four micro-ondes, c'est lui qui sera à la base de la production d'énergie électromagnétique (Figure 3). Le magnétron se compose d'un tube à symétrie circulaire maintenu entre deux aimants permanents (ou électro-aimants), eux-mêmes fixés de manière transversale au tube. Ce tube est muni d'une cathode, pouvant être entourée d'un filament hélicoïdal en tungstène ou thorium, et d'une anode cylindrique creuse composée de plusieurs cavités résonnantes. Il règne dans ce tube un vide poussé, appelé « espace d'interaction », qui effectuera la conversion de l'énergie électrique en une énergie cinétique circulaire d'électrons et enfin, en une énergie magnétique rayonnante à haute fréquence.

La cathode (chargée positivement), reliée au secteur avec une fréquence de 50 Hz, sera chauffée de façon directe ou indirecte, et pourra ainsi produire des électrons qui seront attirés vers l'anode négative sous l'action d'un champ électrique  $E0$ . Ces électrons sont accélérés par le champ continu ; la présence d'une induction magnétique continue  $B0$  appliquée par les électroaimants leur font suivre une trajectoire circulaire. Ces magnétrons sont aussi appelés « tube à champs croisés » (champs électriques et magnétiques).

Le champ électrique, formé par les cavités résonnantes constituant l'anode va pouvoir exercer sur les électrons en mouvement de rotation des forces alternativement opposées dans la direction du mouvement.

Un nuage d'électrons regroupés en paquets pourra alors être constitué. Les cavités de l'anode deviennent le siège de courants induits par les courants variables du nuage d'électrons qui, à leur tour, seront capables d'exciter une antenne (qui permet l'acheminement de l'onde



vers le guide d'ondes). A l'extérieur, ces courants à haute fréquence se traduiront par la création d'une onde électromagnétique. Dans le vide, et en raison de leur masse extrêmement faible, les électrons seront en mesure de tourner extrêmement vite. C'est pourquoi il est possible de créer, de par le magnétron, une énergie électromagnétique à fréquence très élevée. Une coupe transversale schématique d'un magnétron à cavités résonnantes peut être examinée en figure 3. La plupart des magnétrons sont réglés pour délivrer des ondes ayant une fréquence de 2,45 GHz. La puissance délivrée va être différemment répartie : 50% de cette puissance sera utilisée à but énergétique, le reste sera converti par les électrons en effet Joule, qui devra être dissipé à l'aide d'un système de refroidissement (Datta et Anantheswaran, 2001; Gallawa, 2007).

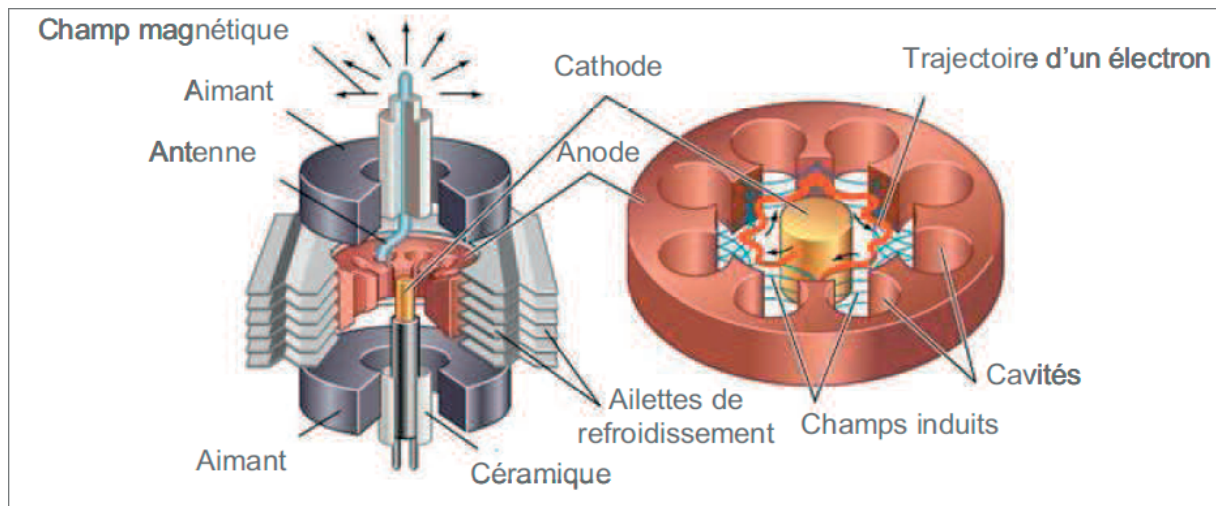


Figure 3 : Coupe schématique d'un magnétron (Virot, 2009)

### 3.2 Le guide d'ondes

Après avoir été libérées par l'antenne, les ondes électromagnétiques vont être convoyées dans un guide d'ondes en vue de leur propagation dans l'applicateur. Le guide d'ondes est un conducteur creux recouvert d'un métal conducteur.

### 3.3 Applicateur

L'applicateur est l'enceinte fermée hermétiquement dans laquelle est positionné l'échantillon à traiter. Il doit permettre un transfert optimal de l'énergie électromagnétique

créée en direction du matériel traité. Il existe deux grandes catégories d'applicateurs, les cavités mono-mode, et les cavités multi-modes.

➤ Cavité mono-mode

Dans ce mode, les configurations géométriques de la cavité permettent, à la fréquence employée, d'appliquer sur l'échantillon une seule configuration de champ. Cette application permet un contrôle précis du champ électrique et la génération d'un seul type de fréquence.

Dans un tel cas, l'échantillon est placé de manière à recevoir une densité d'énergie élevée, induisant un chauffage rapide du milieu et des conditions expérimentales accélérées (réactions accélérées, extractions de qualité, chauffage rapide, etc.). Cependant, ce type de cavités n'admet que de faibles volumes et quantités de matrices à traiter. On admettra alors que le « faisceau magnétique » sera focalisé sur l'échantillon. On parle de cavités « mono-mode » ou de cavité à « ondes concentrées ».

➤ Cavité multi-modes

Dans ce type de cavités, l'échantillon à traiter n'est limité ni en quantité ni en volume. Les enceintes sont plus larges et induisent plusieurs modes de résonance, les ondes sont réfléchies sur les parois de l'enceinte. Un certain nombre d'ondes incidentes peut alors être appliqué sur l'échantillon. Un brasseur d'onde est souvent utilisé pour répartir le plus uniformément possible les ondes électromagnétiques. Ainsi, le chauffage de l'échantillon n'est pas dépendant de sa position dans l'enceinte du four. Un plateau tournant est de même fréquemment usité pour parvenir au même objectif. Il est efficace lors de l'utilisation de plusieurs réacteurs et permet d'augmenter le degré d'exposition et de chauffer les échantillons de manière uniforme. Le four micro-onde domestique est l'exemple le plus répandu de fours à cavité multi-modes.

➤ Choix de la cavité

En fonction du type d'étude désiré, le choix de la cavité micro-onde peut être primordial. Si le but est de réaliser des essais sur de petites quantités, de réaliser des études très précises, d'étudier l'impact des micro-ondes, leurs effets sur la matière ou sur un processus chimique, les cavités mono-mode seront privilégiées. L'échantillon pourra être placé dans un maximum de champ électrique et ainsi permettre une efficacité optimale. En

revanche, une cavité multi-modes sera préférée dans le cadre d'expériences de type préparatives ou sur plusieurs échantillons placés simultanément dans l'enceinte.

### 3.4 Réacteur

Le choix des réacteurs est aussi étroitement lié aux propriétés électriques de la matière (Datta et Anantheswaran, 2001). La figure 4 illustre les trois types de matériaux pouvant être utilisés pour façonner les réacteurs. Ces différences liées aux propriétés sont définies ci-dessous :

- Le matériau est « conducteur », il réfléchit l'énergie électromagnétique et ne chauffe pas,
- le matériau est « transparent », il est isolant (*e.g.* le Téflon) et ne s'échauffera pas sous l'action des micro-ondes, mais il « laissera passer » les ondes,
- le matériau est « absorbant », il emmagasine l'énergie micro-ondes et chauffera sous son action. Ce type de réacteur peut être utilisé dans le cadre de milieux totalement apolaires.

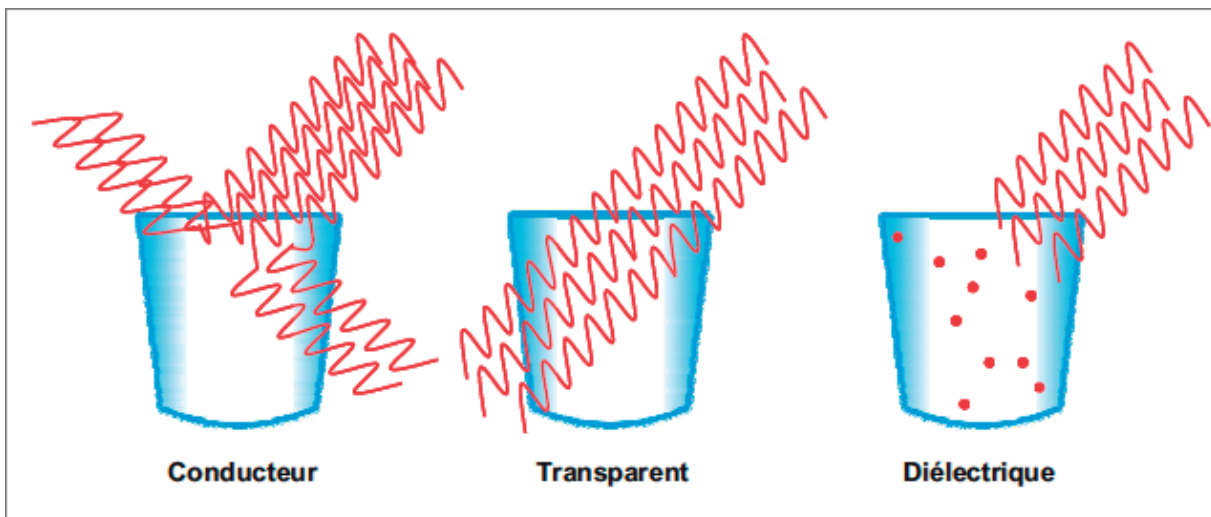


Figure 4 : Différents matériaux pouvant être utilisés comme réacteur (Viot. 2009).

## 4 Chauffage et procédés alimentaires

La plupart des cuissons est accomplie à l'aide d'un chauffage conventionnel par conduction thermique, à l'aide de différents types d'appareillage (Figure 5) : des plaques chauffantes, des résistances, des fours à convection, des flammes, une circulation d'eau chaude, de la vapeur... Ce type de chauffage est souvent considéré comme limitant : les parois du récipient traité freinant le transfert de chaleur, la montée en température du milieu peut être extrêmement lente et retarder significativement le processus. Le chauffage conventionnel induit un gradient de température allant de l'extérieur du récipient vers l'intérieur (Figure 5).

D'autres types de chauffage aux résultats encourageants se développent dans le secteur agro-alimentaire comme le chauffage ohmique ou le chauffage infrarouge (IR). Le principe de fonctionnement du chauffage ohmique est basé sur l'effet joule. La matrice sert elle-même de résistance et l'énergie est transformée en chaleur par le produit. Cette technique de chauffage est plus rapide que par convection et permet un chauffage homogène dans la matrice (Bozkurt et Icier, 2010). Pour la technologie IR, dont la longueur d'onde est comprise entre 0,78  $\mu\text{m}$  et 1000  $\mu\text{m}$ , l'exposition des aliments aux radiations IR génère de la chaleur qui est absorbée, réfléchiée ou dispersée par les aliments. L'intensité d'absorption diffère suivant l'aliment et la longueur d'onde, en IR lointain (15  $\mu\text{m}$  à 1000  $\mu\text{m}$ ), les composés principaux des aliments (eau, sucres, protéines) absorbent mieux l'énergie qu'à 2,5  $\mu\text{m}$  (Krishnamurthy, Khurana *et al.*, 2008).

Pour les micro-ondes, l'agitation moléculaire est la source principale de production de chaleur. Ainsi, la matrice, le mélange ou le volume traité absorbe l'énergie directement et s'échauffe rapidement, devenant lui-même source de chaleur. Il s'agit d'un chauffage en volume et non en surface, les parois externes du récipient sont plus froides que le cœur de la solution. La présence d'un champ électromagnétique induit des gradients de température inversés par rapport à un chauffage conventionnel (Figure 5). Des surchauffes locales peuvent apparaître dans le cadre de vitesse de réactions très rapides et créer des points chauds qui s'opposent aux phénomènes de convection observés dans un chauffage conventionnel.

L'emploi des micro-ondes permet donc de réaliser un chauffage rapide du milieu étudié avec des montées en température rapides. Le chauffage s'effectue directement au cœur

de la matrice étudiée sans détérioration en surface (contrairement par exemple au chauffage conventionnel dans lequel les phénomènes de croûtage se produisent) et sans perte d'énergie utilisée pour le chauffage du récipient.



Figure 5: Comparaison entre chauffage conventionnel, chauffage par micro-onde, chauffage par infrarouge (Krishnamurthy, Khurana *et al.*, 2008; Bozkurt et Icier, 2010).

## 5 Applications industrielles des micro-ondes

### 5.1 Séchage

De nombreuses industries ont exploité le séchage par micro-ondes (Figure 6). On pourra le retrouver dans l'industrie textile (fixation des colorants sur tissus), dans le séchage du bois et la destruction des parasites, pour le séchage du papier, le séchage de poudres à but pharmaceutique, le séchage de pâtes à biscuits... Aujourd'hui de nouvelles méthodes efficaces sont proposées notamment dans l'agroalimentaire. De plus, le micro-onde peut être utilisé pour améliorer une méthode existante. La combinaison séchage par micro-ondes et flux d'air sec chaud montre plusieurs avantages dans le séchage des fruits et légumes (« snacks ») : temps de séchage réduit et qualité nutritionnelle des produits mieux préservée (Zhang, Qi *et al.*, 2006). Il existe trois façons de combiner l'utilisation des micro-ondes avec le flux d'air sec chaud : l'énergie micro-onde peut être appliquée au début du procédé de déshydratation, dans ce cas l'intérieur du produit est rapidement chauffé à la température de vaporisation de l'eau. Ce procédé peut aussi servir en milieu du procédé de déshydratation, dans ce cas la surface de la matrice végétale est sèche et l'eau est concentrée à l'intérieur du produit,

l'application de l'énergie micro-onde entraîne la vaporisation. Et enfin, en fin de procédé pour faciliter le séchage final (Zhang, Qi *et al.*, 2006; Vadivambal et Jayas, 2007).

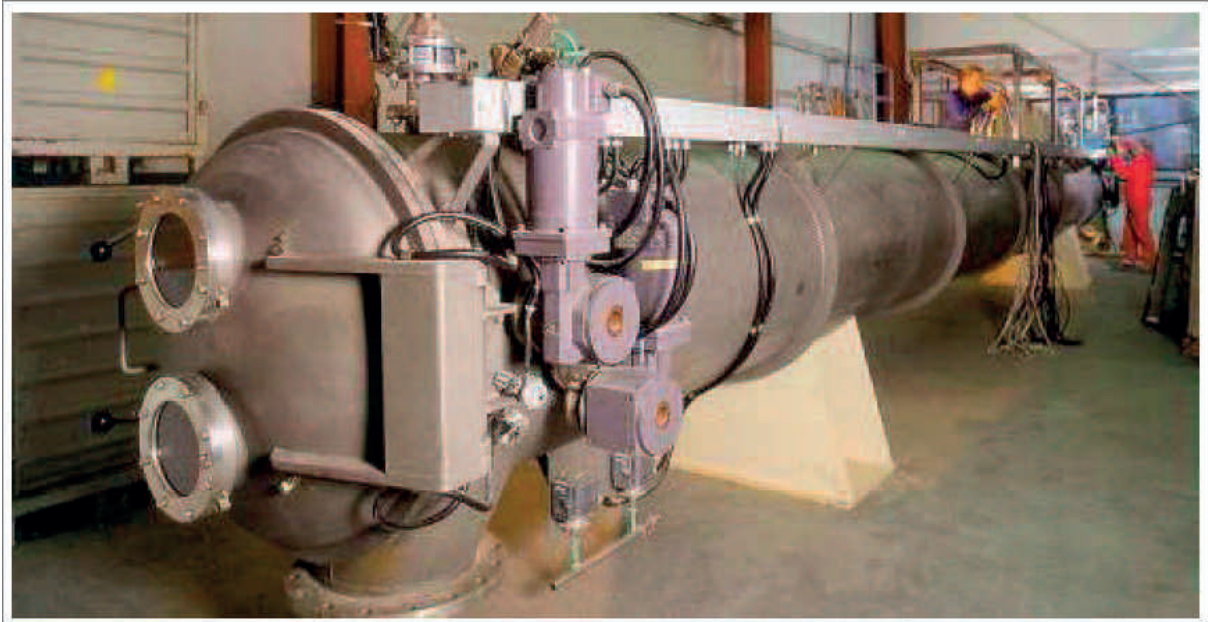


Figure 6 : Séchage des fruits tropicaux sous vide assisté par micro-ondes (Viro, 2009).

## **5.2 Décongélation**

La décongélation par micro-onde apporte une alternative performante au niveau industriel (Figure 7). La glace est transparente à l'énergie micro-onde. Cependant, une faible présence d'eau non congelée permet la production de chaleur (Schiffmann, 2001). Les micro-ondes permettent d'atteindre des températures précises : il est en effet possible de travailler à des températures proches du point de fusion de la matrice traitée. L'étape de décongélation peut alors être intégrée facilement dans une chaîne de production alimentaire où des étapes de décongélation, découpage et recongélation pourront être réalisées en un temps réduit. L'emploi des micro-ondes dans ce procédé va permettre de préserver les qualités organoleptiques, microbiologiques et nutritionnelles des aliments (Akkari, Chevallier *et al.*, 2006). Les micro-ondes apportent dans ce genre d'applications un gain de temps considérable et inégalable par une méthode conventionnelle (*e.g.* décongélation d'une viande en seulement 30 min contre 24 h en chambre de décongélation).





Figure 7 : Décongélation de viandes et poissons assistée par micro-ondes (Virot, 2009).

### **5.3 Traitement des déchets**

L'emploi des micro-ondes a été engagé dans la voie du retraitement des déchets, il permet ainsi d'explorer de nouvelles voies sanitaires dans des domaines éloignés comme le nucléaire, l'environnement (désorption de contaminants) ou le domaine médical. Ces secteurs requièrent généralement un inertage par incinération. Le chauffage diélectrique a pu être employé avec succès dans le retraitement de déchets anatomiques issus du milieu hospitalier (Ohtsu, Yamada *et al.*, 2010).

### **5.4 Pasteurisation**

La pasteurisation est un traitement thermique s'effectuant entre 75 et 85°C pendant un temps limité afin d'atteindre le seuil de thermorésistance des bactéries. Paterson, Cranson *et al.* (1995) montrent une réduction de  $10^2$  UFC.cm<sup>2</sup> après utilisation du micro-onde à 2450 Hz. Vijaya-Raghavan, Orsat *et al.* (2005) présentent des travaux de pasteurisation d'asperges en bocaux en utilisant l'énergie micro-onde à 915 MHz. Ce procédé entraîne un chauffage

uniforme et permet le maintien d'une température létale pendant une durée suffisante pour assurer la sécurité microbiologique du produit. De plus, ce procédé réduit le temps de pasteurisation de 30 min comparé à une pasteurisation en bain-marie et par ce fait, limite la dégradation thermique du produit (Vijaya-Raghavan, Orsat *et al.*, 2005). Une pasteurisation du foie gras par micro-onde est obtenue avec une durée diminuée de 50 % comparée à un procédé classique et confère de plus des qualités organoleptiques supérieures (Massoubre, 2003). La teneur en *E.coli* dans les viandes est plus nettement réduite par un procédé micro-onde comparée à un procédé traditionnel (Yilmaz, Arici *et al.*, 2005).

### **5.5 Micro-ondes et sécurité**

Les micro-ondes peuvent s'avérer dangereuses lorsqu'elles dépassent une certaine puissance. C'est pour cela que les techniciens télécoms qui interviennent sur les antennes GSM ne s'en approchent que lorsqu'elles sont désactivées.

Du point de vue chimique, les micro-ondes ne permettent pas d'affecter le matériel biologique, elles n'ont pas d'effet ionisant. Cependant, de nombreuses études ont rapporté qu'une exposition directe et prolongée aux micro-ondes pouvait induire des effets thermiques et athermiques, provoquant chez l'Homme une altération diffuse des systèmes neuro-végétatifs, cardio-vasculaires, lésions du cristallin... Pour pallier à ces effets sur l'Homme, la C.E.I. (Commission Electrotechnique Internationale) et l'O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé) testent et font évoluer régulièrement des normes de sécurité concernant l'emploi des fours micro-onde industriels et domestiques. Le niveau de fuite maximal toléré par les normes est de 5 mW/cm<sup>2</sup> mesuré à 5 cm du four micro-onde. De nouvelles contraintes de sécurité sont de ce fait fréquemment publiées, obligeant les constructeurs à être rigoureux. On relèvera, par exemple, les obligations de blindage des portes du four, les règles de sécurité concernant le verrouillage des portes, les réglementations sur les fréquences disponibles, les plaques signalétiques, les contrôles de fuites, etc.



## 6 Propriétés diélectriques des aliments

### 6.1 Principe

Quand l'énergie micro-onde est incidente sur une matrice alimentaire, une partie de l'énergie est absorbée, l'autre est rejetée. La partie absorbée est appelée énergie calorifique et c'est à partir de cette énergie que l'aliment réagit, alors que la partie rejetée, l'onde réfléchie, augmente en fonction de l'intensité du rayonnement.

Le niveau et la distribution de l'absorption d'énergie micro-onde sont décrits par les équations électromagnétiques de Maxwell. Les ondes électromagnétiques sont composées d'un champ électrique et magnétique. Les équations de Maxwell expriment la propagation des ondes électromagnétiques dans le matériel :

$$\nabla \times H = j\omega \varepsilon E \quad (1)$$

$$\nabla \times E = -j\omega \mu H \quad (2)$$

$$\nabla \times \mu H = 0 \quad (3)$$

$$\nabla \times \varepsilon E = 0 \quad (4)$$

$H$  = vecteur du champ magnétique,

$E$  = vecteur du champ électrique,

$\varepsilon$  = permittivité du matériel (en  $F.m^{-1}$ ), représente l'interaction entre le champ électrique induit par les micro-ondes et le matériel,

$\mu$  = perméabilité du matériel (en  $H.m^{-1}$ ), caractérise la capacité du matériel à interagir avec le champ magnétique du micro-onde. Pour les matrices alimentaires, il n'y a pas de composés qui puissent agir avec le champ magnétique, la perméabilité des aliments est assimilée à la perméabilité du vide,

$\omega = 2\pi f$ , fréquence angulaire,

$j$  = densité de courant en  $A.m^3$ ,

$\nabla$  = rotationnel.

La permittivité du vide,  $\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12} \text{ F.m}^{-1}$  permet la normalisation de la permittivité d'un matériau ou d'un milieu en définissant une permittivité relative  $\epsilon_r$  ( $\text{F.m}^{-1}$ ).  $\epsilon_r$  est composé de 2 paramètres différents:  $\epsilon'$  (constante diélectrique, en  $\text{F.m}^{-1}$ ) et  $\epsilon''$  (facteur de perte diélectrique,  $\text{F.m}^{-1}$ ). Ce paramètre est dépendant de la fréquence et traduit la facilité (Sahin et Sumnu, 2006) avec laquelle une molécule peut interagir avec les ondes électriques.

$$\epsilon_r = \epsilon' - \epsilon'' \quad (5)$$

La constante diélectrique correspond au stockage d'énergie micro-onde par la matrice alimentaire et le facteur de perte diélectrique correspond à la dissipation de l'énergie par la matrice alimentaire sous forme de chaleur. Pour une matrice ayant  $\epsilon''$  élevée, le transfert d'énergie est faible et donc l'énergie micro-onde ne pénètre pas profondément dans la matrice (Sahin et Sumnu, 2006).

L'absorption des micro-ondes par les aliments est dépendante de deux mécanismes : la conduction ionique et la rotation dipolaire (Figure 8).

✓ La rotation dipolaire

Le chauffage micro-onde est essentiellement le résultat du phénomène de rotation dipolaire. Il est lié au mouvement rotatif alternatif de molécules possédant un moment dipolaire qui tentent de s'aligner avec le champ électrique. Sous l'effet du champ électrique alternatif, les dipôles s'orientent dans un sens, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens lors du renversement de la polarité du champ. L'énergie électrique ainsi fournie au milieu est convertie en énergie cinétique de par la rotation des dipôles.

L'eau dans les aliments est le composé principal responsable de la chaleur diélectrique : à cause de leur nature dipolaire, les molécules d'eau tentent de s'aligner avec le champ électrique et ainsi les dipôles sont alternés très rapidement. Ce sont les rotations des molécules d'eau qui produisent la chaleur. Toute molécule possédant un moment dipolaire permanent non nul, c'est-à-dire toutes les molécules excepté les molécules apolaires connaissent ces mêmes phénomènes.

✓ La conduction ionique

La conduction ionique représente l'aptitude du milieu à permettre au courant de circuler. Les ions conducteurs vont migrer sous l'action des micro-ondes et provoquer des chocs et collisions moléculaires à chaque changement de signe du champ alternatif.

Les ions sont principalement présents dans les aliments salés et migrent sous l'influence du champ électrique, ce qui induit la production de chaleur.

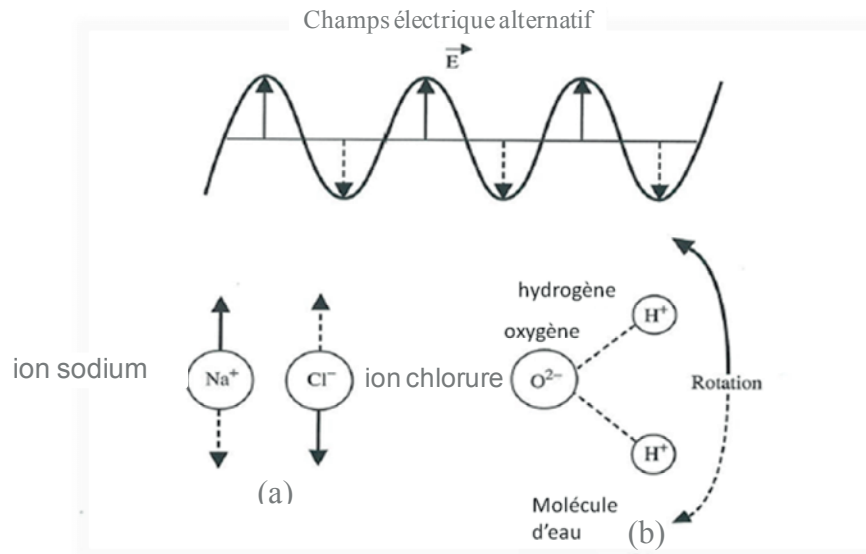


Figure 8 : Interaction des aliments avec l'énergie micro-onde. (a) rotation dipolaire, (b) conduction ionique (Sahin et Sumnu, 2006).

## **6.2 Paramètres**

### **6.2.1 Composition du milieu**

Les propriétés diélectriques des aliments dépendent de leur composition. Les composantes principales des aliments sont l'eau, les glucides, les protéines, les triglycérides, les acides et les sels. La constante diélectrique et le facteur de perte diélectrique sont dépendants de la présence d'eau libre ou liée, des charges en surface, des liaisons hydrogènes... intrinsèques à l'aliment.

La teneur en eau est un facteur déterminant dans les propriétés diélectriques. L'eau existe dans une matrice alimentaire sous forme liée ou libre. L'eau libre est présente dans les capillaires de l'aliment et l'eau liée se retrouve physiquement absorbée à la surface des agrégats dans un aliment sec. D'une manière générale, plus les forces de liaisons sont élevées entre l'eau et les protéines ou glucides, plus la contribution des constantes diélectriques est faible. L'effet de l'eau liée est donc négligeable sur les propriétés diélectriques, ainsi les

propriétés diélectriques des aliments diminuent avec la perte d'eau dans les aliments (Feng, Tang *et al.*, 2002).

Les glucides (sucres, amidon) ne montrent pas de réelles propriétés diélectriques à 2450 Hz, mais lorsqu'ils sont en solution, l'effet de l'eau libre est importante. Liao, Raghavan *et al.*(2003) ont montré que les constantes diélectriques de solutions de glucose (10 à 60%) augmentent avec la température d'une manière quadratique tandis qu'elles diminuent linéairement avec la concentration de glucose (Liao, Raghavan *et al.*, 2003).

### 6.2.2 Conditions du procédé

Lors de la décongélation des aliments par micro-ondes, les constantes diélectriques augmentent avec l'augmentation de température. Une fois le produit décongelé, les constantes diélectriques diminuent excepté pour les aliments salés. Dans ce cas, l'augmentation du facteur  $\epsilon''$  est dû à la diminution de viscosité et l'augmentation de la mobilité des ions.

Pour les aliments à haute teneur en eau libre, l'efficacité du chauffage micro-onde diminue avec l'augmentation de température car les liaisons hydrogènes deviennent plus rares et ainsi les molécules montrent des mouvements plus intenses nécessitant moins d'énergie pour rompre les liaisons intermoléculaires (Tang, Hao *et al.*, 2000).

Les changements physiques se produisant lors de la transformation alimentaire tels que la déshydratation du produit et la dénaturation des protéines affectent les propriétés diélectriques des aliments. La dénaturation des protéines entraîne une perte de solubilité et donc une augmentation de viscosité dans les matrices alimentaires.

## 6.3 Propriétés diélectriques des fruits

Les propriétés diélectriques de 10 fruits sont présentées dans le Tableau I (Nelson et Datta, 2001) : les constantes diélectriques à 2450Hz, fréquence d'utilisation du micro-onde ménager ( $\epsilon'$  et  $\epsilon''$ ), la teneur en eau et la densité des tissus des fruits.

Tableau I : Caractéristiques et permittivités des fruits frais à 23°C (Nelson et Datta, 2001).

Fruit	% d'eau dans la matière fraîche	Densité du tissu (g.cm <sup>-3</sup> )	$\epsilon'$ (F.m <sup>-1</sup> )	$\epsilon''$ (F.m <sup>-1</sup> )
			2450 Hz	2450 Hz
Pomme	88	0,76	54	10
Banane	78	0,94	60	18
Raisin	82	1,10	65	17
Kiwi	87	0,99	66	17
Citron	91	0,88	71	14
Mangue	86	0,96	61	14
Orange	87	0,92	69	16
Pêche	90	0,92	67	14
Poire	84	0,94	64	13
Fraise	92	0,76	71	14

Ainsi, le citron, la fraise et la poire ont les constantes diélectriques les plus élevées, donc un stockage d'énergie micro-onde plus efficace, ce qui permet un chauffage micro-onde plus efficace que pour la banane et la pomme, qui présentent des constantes diélectriques plus faibles. De plus le facteur de perte diélectrique est faible dans les fruits donc la dissipation de l'énergie par la matrice alimentaire sous forme de chaleur est limitée et la profondeur de pénétration augmentée.

# CHAPITRE II

## PRODUCTION INDUSTRIELLE

### DES JUS DE FRUITS

La faible consommation de fruits et légumes est associée à l'augmentation des risques de cancers ou autres maladies chroniques. Aux Etats-Unis, une étude datant des années 1994-1996, avant le lancement des campagnes internationales sur le bienfait de la consommation des fruits et légumes, rendait compte de l'état de consommation des américains. Seulement 29% des jeunes âgés de 2 à 19 ans et 44% des plus de 20 ans consommaient les 5 fruits et légumes quotidiens recommandés (Marsh, Cullen *et al.*, 2003). Selon l'étude française SU.VI.MAX (2000), la consommation moyenne de fruits et légumes est de 330 g par jour pour les hommes et de 300 g par jour pour les femmes, ce qui correspond à 60% de la population en dessous des recommandations nutritionnelles.

Pour pallier cette sous-consommation de fruits et légumes, due entre autres à une faible durée de conservation, aux saisons courtes de consommation, aux prix élevés, le jus de fruit apparaît être une bonne alternative. D'ailleurs les recommandations nutritionnelles mondiales intègrent clairement le jus de fruits comme une portion de la consommation quotidienne en fruits et légumes.

En accord avec la norme générale CODEX des jus de fruits et nectars, « les jus de fruits ont les principales caractéristiques nutritionnelles, chimiques, physiques et organoleptiques du ou des fruits dont ils proviennent », avec l'avantage de la facilité de consommation et d'une plus longue conservation (International Federation of Fruit Juice Producers, 2005). Dans ce chapitre, les jus de fruits seront définis selon les critères réglementaires de leur constitution (CODEX STAN 247-2005, 2005). Les différentes étapes de fabrication de jus de fruits seront décrites ainsi que les techniques d'aides aux pressurages et les techniques de décontamination microbiologique des jus.

## **1 Définition et réglementation**

Au terme du décret européen n°2003-838, les jus de fruits sont classés en trois catégories : jus de fruits, jus de fruits à base de concentré et nectar. Le Tableau II synthétise les données de professionnels de fabrication des jus (UNIJUS) sur la spécificité de chaque catégorie de jus. En plus des mentions obligatoires qui doivent figurer sur toutes les denrées alimentaires, certaines mentions ou allégations volontaires peuvent être ajoutées sous réserve de respecter le règlement 2009/106/CE du décret n° 2003-838. Cependant, la norme générale Codex pour les jus et les nectars de fruits (CODEX STAN 247-2005) élargit et précise cette classification.

### **1.1 Jus de fruits**

La norme générale codex (CODEX STAN 247-2005) définit le jus de fruits comme le liquide non fermenté, mais fermentescible, tiré de la partie comestible de fruits sains, parvenus au degré de maturation approprié et frais ou conservés dans des conditions saines conformément aux dispositions pertinentes de la commission du Codex alimentarius.

Certains jus peuvent être obtenus à partir de fruits comprenant des pépins, graines et peaux qui ne sont habituellement pas incorporés dans le jus, bien que des parties ou composantes de pépins, graines et peaux impossibles à retirer par des bonnes pratiques de fabrication soient acceptées.

Le jus est obtenu par des procédés adaptés qui conservent les caractéristiques physiques, chimiques, organoleptiques et nutritionnelles essentielles du fruit dont il provient. Le jus peut être trouble ou clair et peut contenir des substances aromatiques et des composés volatils restitués, à condition qu'ils proviennent des mêmes espèces de fruits et soient obtenus par des moyens physiques adaptés. De la pulpe et des cellules obtenues par des moyens physiques adaptés à partir du même type de fruits peuvent être ajoutées.

Un jus simple est obtenu à partir d'un seul type de fruits. Un jus mélangé est obtenu en mélangeant deux ou plusieurs jus ou jus et purées obtenus à partir de différents types de fruits.

### **1.2 Jus de fruits obtenus à partir d'un concentré**

La norme générale codex (CODEX STAN 247-2005) définit le jus de fruits obtenu à partir d'un concentré comme le produit obtenu en remettant dans le jus de fruits concentré

l'eau extraite du jus lors de la concentration, ainsi qu'en restituant les arômes et, le cas échéant, les pulpes et les cellules que le jus a perdues mais qui ont été récupérées lors du processus de production du jus de fruits dont il s'agit ou de jus de fruits de la même espèce. L'eau ajoutée doit présenter des caractéristiques appropriées, notamment du point de vue chimique, microbiologique et organoleptique, de façon à garantir les qualités essentielles du jus.

Le produit ainsi obtenu doit présenter des caractéristiques organoleptiques et analytiques au moins équivalentes à celles d'un type moyen de jus obtenu à partir de fruits de la même espèce au sens du point 1.1.

### **1.3 Jus de fruits concentrés et déshydratés**

La norme générale codex (CODEX STAN 247-2005) définit le jus de fruits concentré comme le produit obtenu à partir de jus de fruits d'une ou plusieurs espèces par l'élimination physique d'une partie déterminée de l'eau de constitution. Lorsque le produit est destiné à la consommation directe, cette élimination est au moins de 50 %.

La norme générale codex (CODEX STAN 247-2005) définit le jus de fruits déshydraté comme le produit obtenu à partir de jus de fruits d'une ou plusieurs espèces par l'élimination physique de la quasi-totalité de l'eau de constitution.

### **1.4 Nectars de fruits**

La norme générale codex (CODEX STAN 247-2005) définit le nectar de fruits comme:

a) le produit fermentescible mais non fermenté, obtenu en ajoutant de l'eau et des sucres et/ou du miel aux produits définis aux points 1.1 ; 1.2 ; 1.3, à de la purée de fruits ou à un mélange de ces produits.

L'addition de sucres et/ou de miel est autorisée dans une quantité non supérieure à 20 % en poids par rapport au poids total du produit fini.

Dans le cas de la fabrication de nectars de fruits sans addition de sucres ou à faible valeur énergétique, les sucres peuvent être remplacés totalement ou partiellement par des



édulcorants, conformément à la directive 94/35/CE du Parlement européen et du Conseil du 30 juin 1994 concernant les édulcorants destinés à être employés dans les denrées alimentaires.

b) par dérogation au point a), les fruits comme la banane, papaye, goyave, grenade ainsi que l'abricot peuvent servir, individuellement ou en mélange, à la fabrication de nectars sans addition de sucres, de miel et/ou d'édulcorants.

### **1.5 Ingrédients autorisés**

L'addition de vitamines et de minéraux peut être autorisée au cours de la fabrication du jus de fruits sous réserve de la directive 90/466/CEE. L'addition de sucres et citron est autorisée dans les jus de fruits selon des normes bien précises. Par exemple, pour corriger le goût acide d'un jus de fruits, la quantité de sucres ajoutée ne peut pas dépasser (en matière sèche)  $15 \text{ g.L}^{-1}$  de jus ; à des fins d'édulcoration, la concentration en sucres ne doit pas excéder  $150 \text{ g.L}^{-1}$ . Le dioxyde de carbone en tant qu'ingrédient est autorisé. Autre exemple, l'acide ascorbique est un additif très utilisé dans la production de jus à cause de ses propriétés antioxydantes. Cette vitamine donne une valeur ajoutée et protège la couleur des jus.

### **1.6 Substances autorisées et seuils tolérés**

La réglementation précise que :

- ✓ Le fruit ne conservera pas plus d'eau provenant des opérations de lavage, d'étuvage ou d'autres préparatifs qu'il n'est inévitable sur le plan technique.
- ✓ Les jus de fruits et les nectars de fruits doivent avoir la couleur, l'arôme et la saveur caractéristiques du jus de la variété de fruits à partir de laquelle ils sont obtenus.
- ✓ Le produit final doit être sain et propre à la consommation humaine, donc différents points de contrôle doivent avoir lieu avec des normes très encadrées au niveau des limites maximales fixées par la Commission du Codex Alimentarius des résidus de pesticides et autres contaminants.

## 1.7 Traitements autorisés

Les procédés mécaniques d'extraction, les procédés physiques (tel le chauffage micro-onde) et les procédés d'extraction à l'eau sont autorisés pour la fabrication des jus de fruits.

L'ajout d'enzymes pectolytiques, protéolytiques, d'hémicellulases ou enzymes, amylolytiques est autorisé dans le but de faciliter le procédé d'extraction. L'utilisation des enzymes cellulolytiques (cellulases) n'est pas autorisée dans la réglementation européenne (2009/106/CE, 2009) ce qui proscrit de fait les jus obtenus par liquéfaction.

Des adjuvants inertes de filtration, de précipitation et d'adsorption sont également tolérés en respect avec les directives communautaires concernant les matériaux destinés à entrer en contact avec les denrées alimentaires.

Le tableau II présente les données établies par les professionnels des jus de fruits concernant la spécificité de chaque dénomination des jus.

Tableau II : Spécificités des jus (Données Union Nationale Interprofessionnelle des Jus de Fruits)

Dénomination	Où	Teneur en fruits	Autres ingrédients	Pasteurisation	Durée de conservation	
Purjus 100%	Frais	Rayon frais	100%	Non	Non	1 semaine
	Réfrigéré	Rayon frais	100%	Non	Oui	4 à 5 semaines
	Ambiant	Rayon liquide	100%	Non	Oui	12 mois
Jus de fruits à base de concentré	Réfrigéré	Rayon frais	100%	Eau de reconstitution : oui Sucre : rarement utilisé, autorisé avec mention obligatoire	Oui	4 à 5 semaines
	Ambiant	Rayon liquide	100%	Eau de reconstitution : oui Sucre : rarement utilisé, autorisé avec mention obligatoire	Oui	12 mois
Nectar	Réfrigéré	Rayon frais	25 à 50 % minimum	Eau : oui Sucre : autorisé avec mention obligatoire	Oui	3 à 4 semaines
	Ambiant	Rayon liquide	25 à 50 % minimum	Eau : oui Sucre : autorisé avec mention obligatoire	Oui	12 mois

## 2 Fabrication de jus de fruits

La préservation des qualités organoleptiques et nutritionnelles des jus au cours de leur élaboration et de leur distribution implique une adaptation permanente de l'outil de production. L'obtention de jus de fruits prêts à consommer nécessite une succession d'opérations unitaires qui doivent être optimisées pour assurer un niveau de production

suffisant sans nuire ni à la qualité, ni à la sécurité. La fabrication de jus de fruit telle qu'elle est pratiquée au niveau industriel peut être schématisée dans les grandes étapes successives de la production (Figure 9).

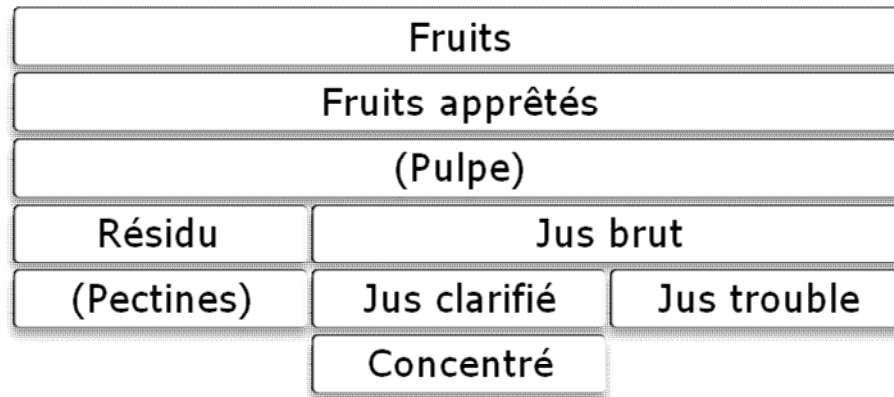


Figure 9: Les grandes étapes de production de jus de fruits

Au niveau industriel, la majorité de ces étapes est automatisée. Le jus extrait est alors traité avant ou après conditionnement, de façon à en assurer la stabilité microbiologique et colloïdale. Le coût de transport et de stockage des jus de fruits est élevé, il est souvent plus économique pour les industriels de concentrer les jus puis de les rediluer dans la région de distribution.

### **2.1 Préparation des fruits : sélection, lavage, calibrage**

A leur réception à l'usine, les fruits, supposés cueillis à bonne maturité, sont généralement stockés quelques jours dans des conditions limitant leur altération. Le temps de stockage est dépendant du fruit : les pommes peuvent être stockées jusqu'à une semaine sur des aires bétonnées en tas n'excédant pas 1 mètre, les agrumes 5 à 6 jours. Les petits fruits rouges sont très fragiles et sont ainsi traités dès réception pour éviter leur fermentation, ou ils sont surgelés pour un traitement différé.

Les fruits sont sélectionnés à l'entrée de la ligne de pressurage, les fruits abîmés et/ou hors normes sont éliminés. Par exemple, le test de flottaison permet de trier les pommes saines dans des caniveaux hydrauliques. Par ce principe, un premier tri sélectif est réalisé. Les fruits sont ensuite automatiquement lavés et calibrés, de manière à correspondre à la taille des systèmes de pressurage. Les prétraitements des fruits varient selon chaque espèce : les pommes

et poires sont réduites en cossettes à l'aide de râpes. Les agrumes sont uniquement calibrés. Les fruits à noyaux sont dénoyautés, soit par des dénoyauteuses rotatives, soit dans des pulpeurs après un premier traitement thermique à la vapeur. Ces étapes de procédés sont bien définies. Un des procédés d'extraction du noyau des prunes (Will et Dietrich, 2006) consiste à chauffer à 90°C les prunes dans un tube d'échange de chaleur et les laisser 20 min dans une cuve. Puis la préparation du fruit au pressurage se termine par un dénoyautage en pulpeur.

## **2.2 Extraction des jus**

### **2.2.1 Généralités sur le pressurage**

Le pressurage va consister en l'expression du jus. Le jus est contenu dans la vacuole de chaque cellule parenchymateuse du tissu comestible des fruits. Chaque cellule est entourée d'une paroi primaire constituée par un gel rigide de pectines, de cellulose et d'hémicelluloses; entre les parois primaires de deux cellules adjacentes, est disposée une lamelle moyenne composée principalement de pectine. Cette partie sera plus amplement détaillée en chapitre III 1.2.2. Pour extraire le jus, il faut ainsi désorganiser les tissus pour obtenir une pulpe composée de cellules séparées, de fragments de paroi baignant dans le liquide issu des vacuoles. Une fois obtenu, le jus est séparé des particules solides (Drilleau, 1988).

De nombreux paramètres sont à prendre en compte dans le pressurage des fruits : l'épaisseur de pulpe, sa porosité, sa résistance mécanique, la viscosité et la densité du jus, la pression exercée.... La formation d'une couche de râpure, une fois le pressurage effectué, va limiter le drainage. Il est nécessaire de limiter le pressurage trop rapide afin de limiter l'épaisseur de la couche de râpure (Figure 10). Singh et Kulshreshtha, (1996), ont établi un modèle mathématique reliant la déformation du gâteau de racine de carottes et la vitesse d'écoulement du jus, en fonction du temps et de la pression appliquée. Ce modèle permettrait de prédire la vitesse d'écoulement du jus et de la déformation en adéquation satisfaisante avec les résultats expérimentaux.

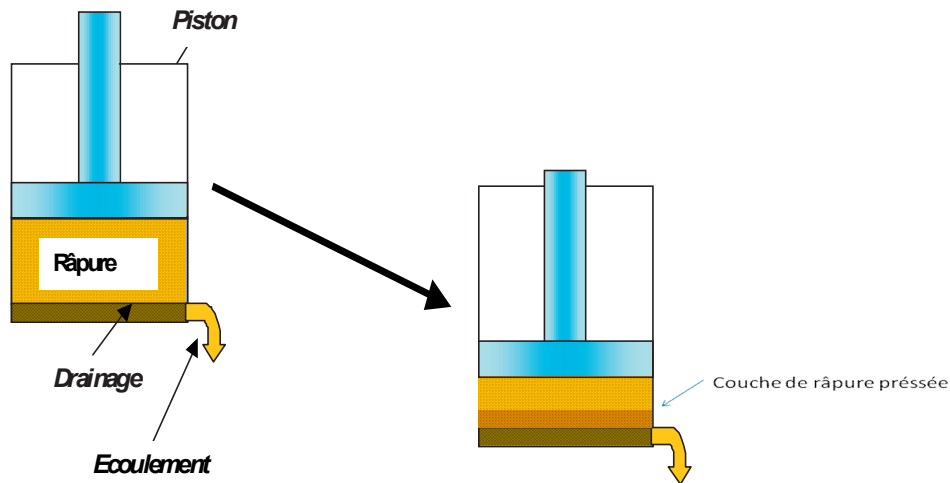


Figure 10 : Schéma d'un dispositif de pressurage

Des observations empiriques ont permis de montrer que l'alternance de phases de pression et de relaxation favorise successivement l'éclatement des cellules et l'écoulement du jus. En effet, les résultats d'extraction de jus de pomme par une presse sous cloche et une presse à bande, montrent un rendement identique d'extraction avec un temps cinq fois plus court pour la presse à bande. Un profil de pression différent (Figure 11) permet d'expliquer ces résultats. Pour l'extraction sous presse à cloche, le procédé commence par une montée progressive suivie d'une stagnation de la pression tandis que pour la presse à bande, il y a une alternance de phases de hautes et de basses pressions (Turk, 2010).

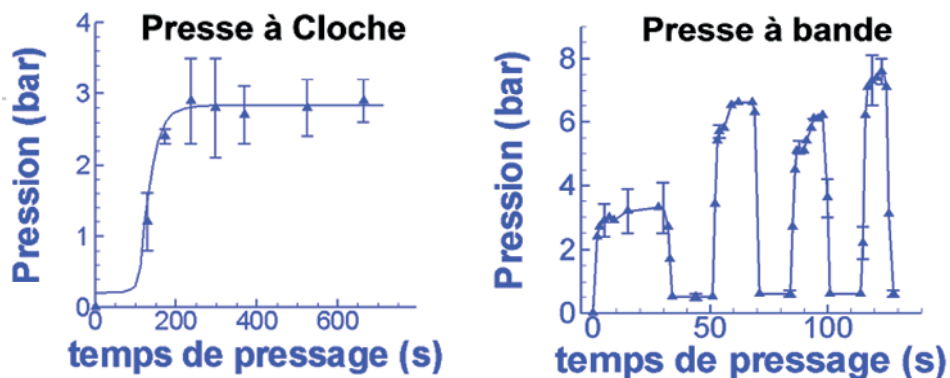


Figure 11 : Régimes de pression observés dans une presse sous cloche et une presse à bande (Turk,2010).

### 2.2.2 Pressoirs et extracteurs

Actuellement, deux grands types de pressoirs sont utilisés pour le traitement industriel des pulpes de fruits : ce sont les pressoirs discontinus, à paquets ou à corbeille, et les pressoirs continus à bandes. Cependant, d'autres essais d'extraction avec la pomme ont été réalisés à l'aide d'extracteurs centrifuges (Israel et Leufstedt, 1993; Kern, Guldenfels *et al.*, 1993), mais les faibles rendements obtenus n'ont pas convaincu les industriels.

#### 2.2.2.1 Pressoirs discontinus

Les pressoirs à paquets (Figure 12) sont encore utilisés à l'échelle de production artisanale comme par exemple pour le jus de pomme. Ils ont cependant disparu des usines des pays occidentaux en raison de leur faible productivité. Ils permettent d'extraire le jus sur des fruits préalablement broyés ou entiers. Sous l'action de pistons hydrauliques, il se crée une force de pression permettant le pressurage des fruits situés entre les différents paquets. Ce mode de pressurage est préférentiellement appliqué aux petites quantités de fruits

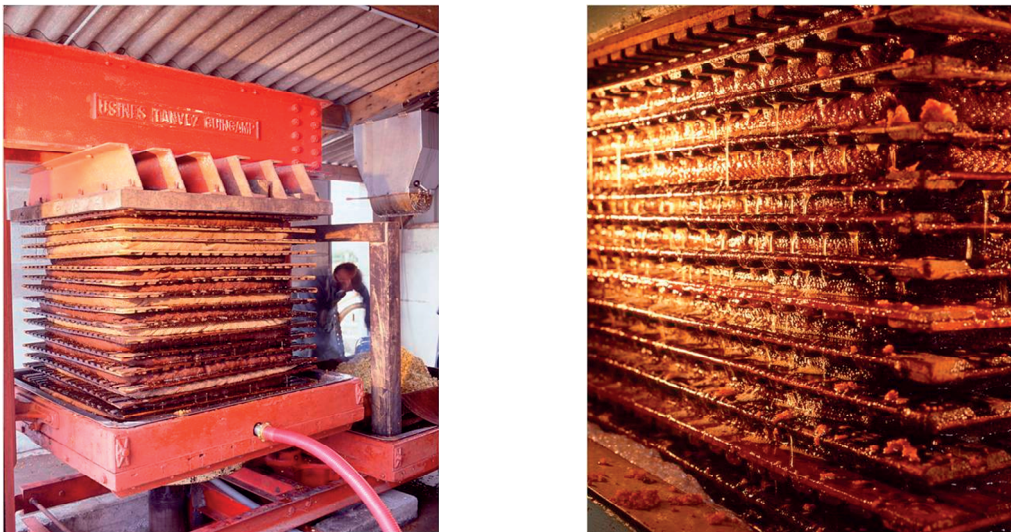


Figure 12: Photographies d'un pressoir à paquet (Source : FNPFC/UNICID)

Les pressoirs à corbeille (Figure 13.a) autorisent le travail de pratiquement tous les types de végétaux. Leur conduite programmable permet d'adapter la pression aux caractéristiques physiques de la matière première de façon à obtenir le meilleur rendement. Le corps du pressoir est constitué d'une corbeille dont le volume peut atteindre 6 m<sup>3</sup> et de deux

flasques, une fixe et creuse jouant le rôle de tablier, l'autre mobile celui de piston. Ces deux éléments sont reliés par une centaine de drains rainurés, entourés d'un manchon filtrant en toile.

Au niveau du mécanisme de pressurage (Figure 13.b), la pulpe, introduite dans la corbeille, va subir l'action du piston et sera comprimée contre le tablier (étape 1). Le jus s'écoule au travers des éléments de drainage (étape 2). La rotation du corps du pressoir lors du rebêchage entraîne un malaxage de la pulpe favorisant son contact avec les drains (étape 3). Ceux-ci faisant objet de tamis, le jus obtenu est peu chargé en bourbe. A la fin du pressurage, piston et corbeille se retirent, le résidu tombe dans une trémie munie d'une vis d'Archimède (étape 4). Le système, entièrement clos de l'introduction du fruit jusqu'à la sortie du jus, permet d'assurer une bonne qualité hygiénique du produit.

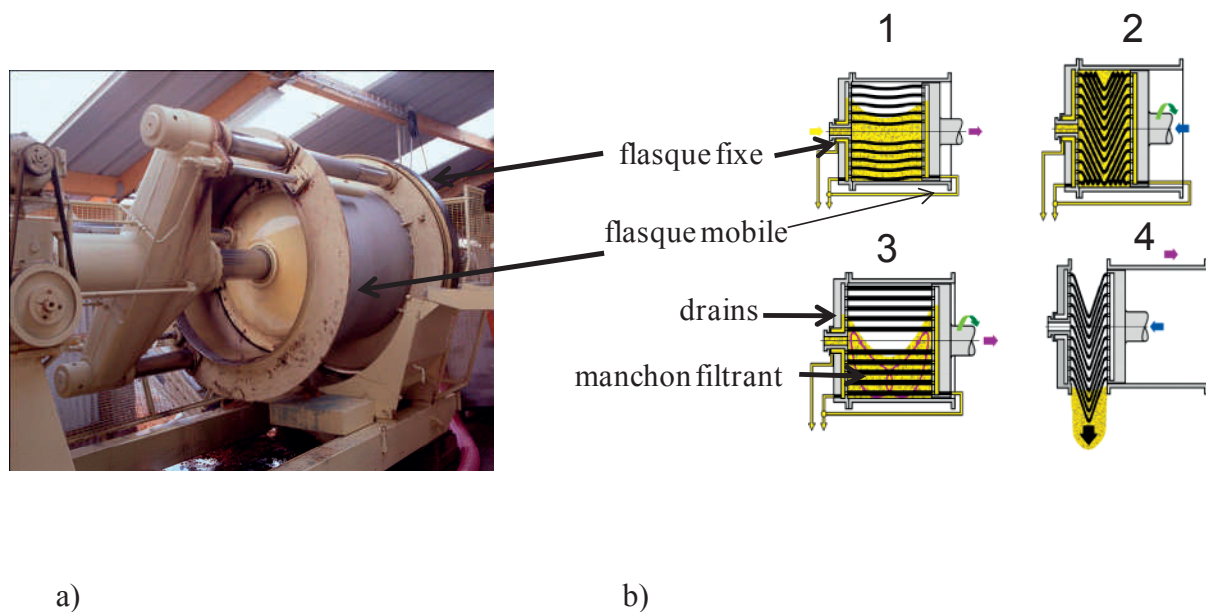


Figure 13 : a) Photographie d'une presse à corbeille Bucher b) Principe de fonctionnement d'un pressoir à corbeille.

### 2.2.2.2 Pressoirs continus

Les pressoirs à bande (Figure 14) dérivent des techniques des pressoirs à paquets. Le lit de pulpe (étape 1) est entraîné entre deux toiles sans fin à travers un train de rouleaux et de contre-rouleaux (étapes 2 et 3) dont l'écart en se réduisant exerce une pression progressivement croissante sur la pulpe. Le jus s'écoule à travers la toile inférieure dans un



bac collecteur (étape 4). A la fin du dispositif, les toiles s'écartent et permettent le relargage des résidus dans une trémie d'évacuation. Le nettoyage des toiles est assuré par des batteurs et des jets d'aspersion.

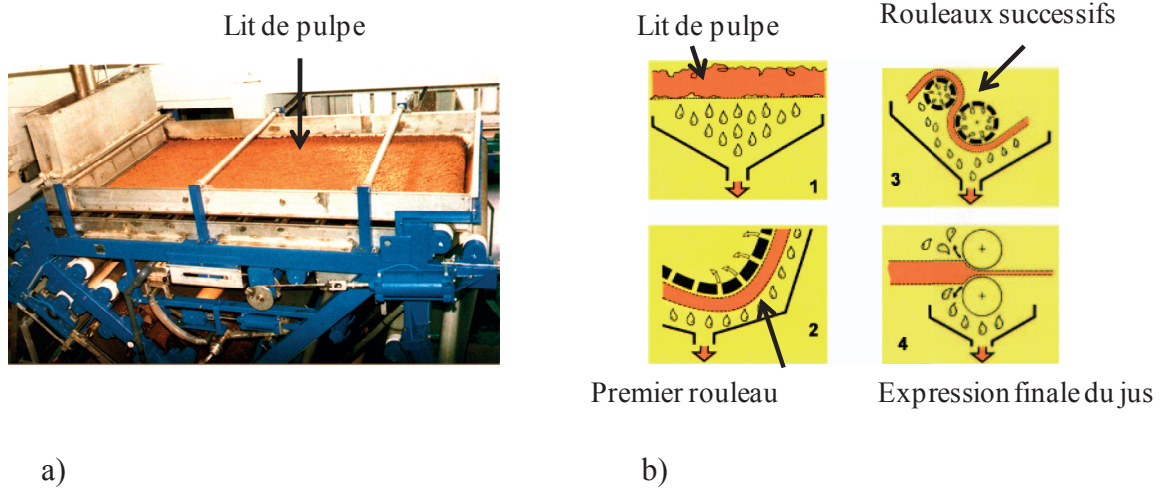


Figure 14 : a) Photographie d'un pressoir à bande. b) Schéma explicatif du fonctionnement d'un pressoir à bande (Baron, 2002).

### 2.2.3 Cas particulier des agrumes

Dans les agrumes, la présence d'huile essentielle dans l'épiderme interdit le pressurage de la totalité du fruit. La fabrication de jus d'agrumes présente une contrainte qualitative. Les normes imposent une teneur en huile essentielle inférieure à 0,02% en volume du jus final.

Le jus des agrumes est extrait selon deux types d'extraction principaux: les extracteurs Brown et FMC. Ce second procédé représente 55% à 60% de la production mondiale de jus d'orange (Brat et Cuq, 2007). Les extracteurs Brown (Figure 15) permettent l'extraction préalable des huiles essentielles. Les fruits sont placés dans des alvéoles semi-sphériques et sont conduits sur un couteau permettant leur séparation. Chaque demi-fruit, restant dans son alvéole, se place devant une tête d'extraction, qui par un double mouvement de translation et rotation, permet le pressurage des carpelles, sans risquer l'éclatement des pépins contenant des composés amers. Le contrôle de la pression et de la vitesse de déplacement des têtes d'extraction permet de s'adapter à l'épaisseur de l'écorce (Baron, 2002).

Afin d'éviter l'extraction des huiles essentielles de l'épiderme lors de la montée en pression, les fruits sont passés au préalable dans un extracteur d'huile permettant la



perforation des cellules sécrétrices de l'épiderme. Les huiles sont recueillies dans de l'eau circulant en sens inverse.

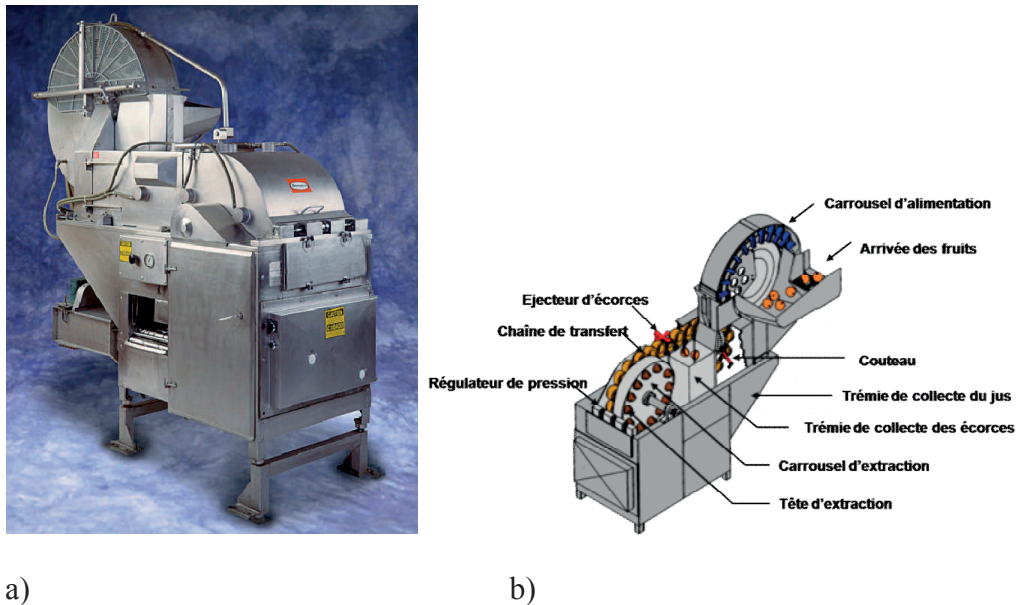


Figure 15 : a) Extracteur d'huiles essentielles b) Schéma explicatif des différents constituants de l'extracteur Brown (Baron, 2002).

Le système « *inline* » développé par FMC permet une séparation instantanée des huiles essentielles et des jus par un procédé d'aspiration du jus au moyen de canules. Le jus ne sera jamais en contact avec les huiles essentielles. La légende de la figure présente le principe de fonctionnement (Figure 16). La coupelle supérieure descend et pousse le fruit sur le couteau circulaire inférieur, les coupelles maintiennent le fruit (2). Les constituants intérieurs du fruit sont aspirés dans le tube tamis (*strainer tube*) par le mouvement descendant du piston. La coupelle supérieure descend de façon synchronisée (3). Le mésocarpe est dilacéré et évacué à travers les griffes de la coupelle inférieure. La coupelle supérieure obture le tube. Le piston remonte et presse la pulpe, le jus s'écoule à travers le tamis et est recueilli par le collecteur (4). Les particules trop grosses (fragments du mésocarpe, pépins, parties découpée de l'épiderme) sont éliminées par le centre creux du piston.

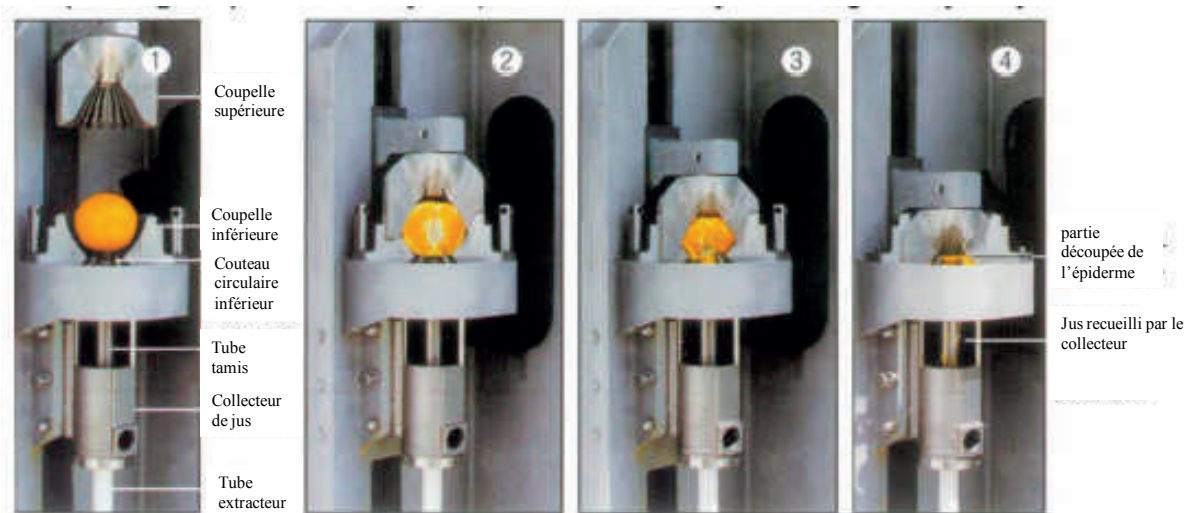


Figure 16 : Extracteur « in line » FMC et principe d'extraction (source FMC Food Technology)

### 2.3 Technologies d'aide au pressurage

Dans le milieu des années 1930, la technologie du jus de fruits tend à se développer et avec elle apparaissent les difficultés de clarification et de rendement. Le pressurage seul ne permet pas une extraction maximale des jus, ce qui représente une perte financière pour les industriels. De plus, certains fruits comme la mangue et la prune ne se prêtent que très mal au pressurage (Chang, Siddiq *et al.*, 1995; Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001; Will et Dietrich, 2006). Le développement des recherches a permis la première application d'enzymes pectolytiques dans cette technologie pour la clarification des jus de pomme en 1930 (Mehlitz, 1930).

Pour l'extraction des jus, il est nécessaire d'agir en amont du pressurage par des actions physiques et/ou enzymatiques afin d'augmenter le rendement en facilitant l'extraction par une déstructuration augmentée du fruit, et/ou en aval pour supprimer le trouble et obtenir des jus clarifiés.

### 2.3.1 Traitements physiques d'aide au pressurage

#### 2.3.1.1 Action mécanique et physique

Dans le cas du traitement des pommes, il y a addition d'eau au cours du rebêchage (presseur à corbeille) ou par rémiage des marcs et à nouveau pressurage (presseur à bande). Par exemple, le rémiage permet d'obtenir un rendement de 90% pour un lit de pomme qui donnait un rendement de 82% en pressurage simple (Hartmann, 1993).

La flash détente<sup>TM</sup> est une technique initialement mise en place pour le traitement préfermentaire des vins et qui a fait l'objet d'un brevet (Escudier, Moutonet *et al.*, 1993). Son principe est d'assurer en continu, dans un temps minimum, un thermotraitement de la vendange éraflée et égouttée, et son refroidissement rapide par le vide poussé. Cette technique permet une extraction améliorée des composés pelliculaires (anthocyanes et tannins) par une déstructuration plus efficace de la pellicule de raisin en comparaison à un traitement pré-fermentaire classique. Par expansion, cette technique a aussi été développée pour l'extraction de pulpes et d'huiles essentielles d'agrumes par le Centre de coopération internationale en recherche agronomique (Cirad) de Montpellier. Cette technique consiste après une étape de blanchiment à introduire le matériel végétal sous vide (30 mBar environ). La température de vaporisation de l'eau dans ces conditions de vide se situe à environ 30°C, ce qui provoque l'évaporation instantanée d'une partie de l'eau du végétal. Cette perte en eau engendre un broyage fin dû à la création de micro canaux intercellulaires. Les eaux d'évaporation, particulièrement riches en composés aromatiques pourront être réintroduites dans les produits après flash détente. Les purées de mangues sont plus consistantes et plus visqueuses avec une intensité colorante supérieure, autorisant un ratio de dilution supérieur dans un but d'élaboration de nectars. Après dilution, des nectars plus stables sont produits, ayant une séparation de phase plus lente. L'étape de blanchiment assure une inhibition quasi totale de l'activité enzymatique endogène (polyphénoloxydase, PME), tandis que la viscosité supérieure du produit diminue les phénomènes de chute du trouble dans le produit fini (Brat, 2001).

### 2.3.1.2 Combinaison de procédés, aide aux pressurages

Outre l'utilisation d'enzymes pour permettre d'augmenter les rendements d'extraction en jus (*cf.* 2.3.2), des procédés comme les champs électriques pulsés (CEP) ou les micro-ondes peuvent être appliqués pendant la macération. Schilling, Toepfl *et al.* (2008) ont montré une efficacité des champs électriques pulsés ( $3 \text{ kV.cm}^{-1}$ ) sur la pulpe de pomme destinée au pressurage. Le rendement d'extraction des polyphénols et des composés antioxydants est augmenté. Ce procédé ne montre pas de différence de rendement par rapport à une macération classique mais permet un rendement supérieur à une pulpe non traitée. De plus, la combinaison des CEP à une température de  $60^\circ\text{C}$  permet l'inactivation de la polyphénol oxydase responsable du brunissement dans les jus de pomme (Schilling, Schmid *et al.*, 2008). Grimi, Lebovka *et al.* (2009) ont démontré qu'un prétraitement des raisins par CEP permet une extraction facilitée du jus et une augmentation du rendement par une déformation accentuée des raisins.

Les micro-ondes ont aussi été utilisées en prétraitement des fruits. Un traitement préalable par micro-ondes à 2450 Hz de purée de pomme (au cours de la macération) destinée à l'extraction de jus a été testé à trois températures différentes ( $40^\circ\text{C}$ ,  $50^\circ\text{C}$ ,  $60^\circ\text{C}$ ). Il permet une augmentation du rendement d'extraction par rapport à une macération sans traitement micro-onde avec un meilleur transfert des polyphénols. L'analyse sensorielle ne montre aucune différence entre ces deux jus (Gerard et Roberts, 2004).

### 2.3.2 Enzymes d'aide au pressurage

Le principal traitement permettant d'aider le pressurage des fruits consiste à utiliser des enzymes de dégradation des parois. Avec des intensités et des spécificités d'actions différentes, il est distingué : les enzymes d'aide au pressurage, les enzymes de clarification, les enzymes d'aide à la macération permettant l'obtention essentiellement de nectar, et les enzymes de liquéfaction.

La macération et la liquéfaction de la pulpe ont pour but de dilacérer et déchirer les fruits et améliorer l'écoulement des jus. Chaque fruit a une quantité spécifique de pectine, hémicellulose et cellulose. Le ratio de ces polysaccharides va être important dans le choix de la concentration et le temps d'incubation de l'enzyme exogène à utiliser (Grassin et Fauquembergue, 1996). Cependant, dans le marché européen du jus de fruit, le conseil

européen ne permet pas le traitement de liquéfaction ou semi-liquéfaction (2009/106/CE, 2009). Ce procédé sera développé dans ce chapitre car il est malgré tout, toléré hors Union Européenne.

#### 2.3.2.1 Enzymes utilisées pour ces traitements

Les pectines sont la principale source de rétention des liquides dans le fruit. Sans l'utilisation d'enzyme, les pectines insolubles présentent un pouvoir de gélification et causent la rétention du jus durant le pressurage.

Pour cette raison, les enzymes commerciales utilisées dans la fabrication de jus sont essentiellement pectolytiques. La corrélation entre la dégradation des pectines et le rendement en jus a été établi par Shalom, Tyagi *et al.* (1999) dans la liquéfaction des jus de prunes.

L'utilisation des pectinases concerne deux problèmes principaux : la dissolution de la protopectine et la dégradation de la pectine soluble. Il existe différents types d'action des enzymes suivant le jus désiré : des enzymes d'extraction, de liquéfaction et de macération.

Les enzymes les plus utilisées dans la production des jus de fruits sont les pectinases issues du microorganisme *Aspergillus niger*. En effet, *Aspergillus niger* peut synthétiser à la fois des Pectine Estérases (PE), dénommée aussi Pectine Méthyl-Estérase (PME), des Polygalacturonase (PG) et des Pectine Lyases (PL) (Pilnik et Voragen, 1993) (Tableau III).

Tableau III: Les différents types de pectinases présentes dans les microorganismes (Pilnik et Voragen, 1993).

	PME	PG endo	PG exo	PAL endo	PAL exo	PL endo
<b>CHAMPIGNONS</b>						
<i>Aspergillus (niger)</i>	++	++	++			+
<i>Penicillium</i>	+	+				+
<i>Fusarium</i>	+	+		+		
<i>Rhizopus</i>	+	++				+
<i>Sclerotina</i>	+	+				
<i>Collectotrichum</i>			+			
<b>LEVURES</b>						
<i>Kluyveromyces</i>			++			
<b>BACTERIES</b>						
<i>Bacillus (polymyxa)</i>				+++		
<i>Clostridium</i>					+	
<i>Erwinia</i>				+++	+	+
<i>Pseudomonas</i>				+++		
<i>Arthrobacter</i>				+		

*PME* : Pectine Méthyl Estérase, *PG* : Polygalacturonase, *PL* : Pectines Lyase, *PAL* : Pectate Lyase

Les enzymes pectinolytiques sont divisées en deux groupes : les enzymes déestérifiantes (enzymes saponifiantes) représentées par les pectine méthyl-estérases (PME), qui libèrent du méthanol et ainsi modifient le degré d'estérification, et des enzymes dépolymérisantes endo ou exo, PG agissant par hydrolyse et PL ou PAL (pectate lyase) agissant par  $\beta$ -élimination permettant de diminuer le degré de polymérisation. Les enzymes dites « endo » attaquent le polymère au hasard alors que les enzymes dites « exos » ont une action récurrente à partir de l'extrémité du polymère (Voragen, Thibault *et al.*, 1995) (Massiot, 1988). L'enchaînement des réactions enzymatiques et leurs sites d'action et de coupure sont représentés en Figure 17.

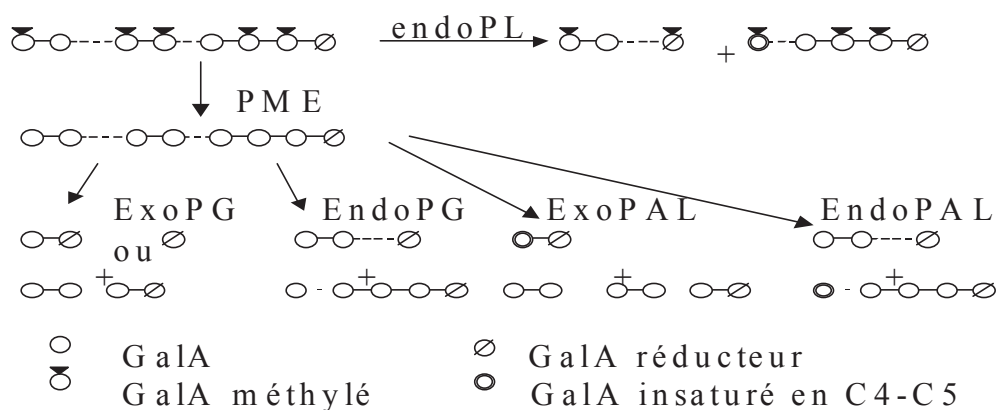


Figure 17 : Action des enzymes pectinolytiques exogènes (Massiot, 1988).

*Gal A* : Acide Galacturonique, *PME* : pectine méthyl-estérase, *PG* : polygalacturonase, *PL* : pectine lyase, *PAL* : pectate lyase

Les enzymes d'extraction sont utilisées pour augmenter le rendement des jus obtenus à partir des pressurages des pulpes. Les préparations enzymatiques mises en œuvre contiennent essentiellement les enzymes pectinolytiques : PME, PG et PL. Le tableau IV présente la localisation d'action de ces enzymes sur la paroi cellulaire.

Tableau IV : Modification enzymatique des parois cellulaires (Baron, 1990).

Traitement	Enzymes utilisées	Action	Type de jus
<b>Macération</b>	PG	Lamelle moyenne	Nectar
<b>Solubilisation partielle</b>	PME-PG	Lamelle moyenne Paroi primaire (pectines)	Aide au pressurage
<b>Liquéfaction</b>	PME-PG-Cellulase	Lamelle moyenne Paroi primaire	Extraction du jus brut

Les enzymes de macération sont utilisées principalement pour la fabrication de nectars. Elles sont caractérisées par une très forte activité PG et une activité pectine méthylestérase (PME) insignifiante. Leur rôle est d'hydrolyser partiellement les pectines de la

lamelle moyenne afin de dissocier les cellules tout en conservant les parois intactes. Le jus obtenu est visqueux et contient une suspension de cellules.

Les enzymes liquéfiantes vont permettre l'hydrolyse de la paroi pour permettre l'éclatement des cellules et la libération des sucs vacuolaires et cytoplasmiques. Dans ce procédé, les enzymes impliquées sont constituées par un mélange de PG, PME et de cellulases. Tous les niveaux de la paroi sont attaqués, la paroi disparaît physiquement. Cette technique est intéressante pour le travail de fruits pour lesquels aucun matériel de pressurage spécifique n'a été développé ou pour l'extraction de constituants cellulaires qui restent absorbés sur la pulpe (Baron, 1990).

La libération de méthanol est positivement associée à la présence et l'utilisation de la PME. En effet, la PME entraîne la libération de méthanol par l'hydrolyse des méthyl-esters des pectines. Lors de la production de jus de fruits, il est important de noter que le méthanol est indésirable et très réglementé à cause de son effet néfaste sur la santé. Les teneurs en méthanol pour les jus fraîchement pressés varient de 1,14 à 6,67 mg.100 mL<sup>-1</sup>. Après 3 h de stockage cette teneur est augmentée et varie de 1,13 à 14,82 mg.100mL<sup>-1</sup> pour les jus de raisin et de citron. La dose létale de méthanol pur est estimée à 1–2 mL.kg<sup>-1</sup>; cependant, des décès ont été rapportés pour une faible dose de 0,1 mL.kg<sup>-1</sup> (équivalent à 6–10 mL chez l'adulte). La limite entre boisson non alcoolisée (jus de fruits) et alcoolisée est fixée à 10 mg de méthanol pour 100 mL<sup>-1</sup> de boisson. Lors de la conservation du jus de tomate fraîchement pressée, la teneur en méthanol atteint le seuil autorisé (Hou, Lin *et al.*, 2008). Le traitement thermique permet de réduire significativement la libération de méthanol par inactivation de la PME.

#### 2.3.2.2 Choix des enzymes et activités combinées

Dans la pulpe, l'utilisation de ces enzymes va permettre de renforcer l'activité faible des pectinases endogènes. Les cocktails enzymatiques utilisés en industrie sont nombreux. Leur spécificité d'action dépendra du choix des enzymes et des paramètres inclus dans le procédé comme la concentration, la température et le temps d'incubation. Ces paramètres permettront une déstructuration plus ou moins élevée de la paroi et/ou des pectines. Il est donc nécessaire de choisir la préparation enzymatique en rapport au fruit initial et au jus désiré.

L'enzymage est de règle pour la production de jus à partir de petits fruits rouges. Dans le cas de fruits riches en pectines (cassis, framboise...), le travail mécanique de la pulpe produit un jus très visqueux. La pulpe forme une structure semi-gélifiée dont il est difficile



d'extraire le jus. L'action des enzymes pectinolytiques sera de dégrader cette structure afin de faciliter l'écoulement du jus. Dans le cas des fruits très mûrs, l'utilisation de ce type d'enzymes est aussi requise. En effet, le stockage prolongé des pommes avant le pressurage entraîne un changement de la composition des fractions de polysaccharides telles que les pectines, cellulose et hémicelluloses provoquant entre autres la diminution de l'élasticité et de la cohésion cellulaire (Grassin et Fauquembergue, 1996). Ainsi, sous l'action mécanique la pulpe s'écrase complètement et il n'existe plus de surface de drainage suffisante pour l'écoulement des jus. Les enzymes permettent un gain de rendement en jus jusqu'à 10 points dans le cas des pommes de maturité avancée (Figure 18).

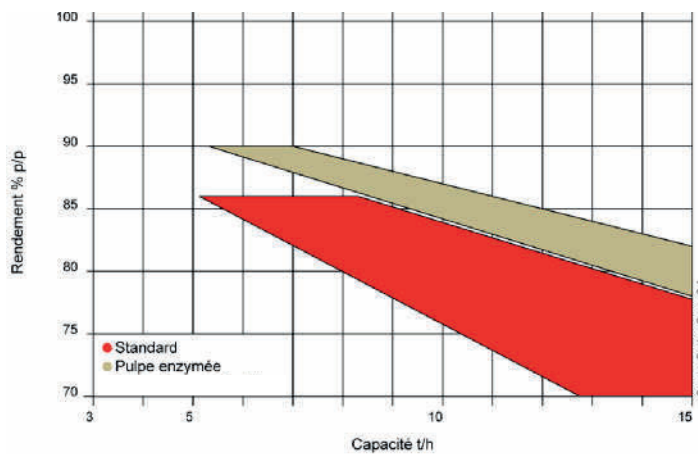


Figure 18 : Rendement observé sur les pommes mûres (source Bucher-Guyer S.A).

Dans le cas du traitement par liquéfaction, il est important de considérer le degré de méthylation des fruits initiaux. Par exemple, les pectines de pomme sont à environ 90% méthylées, les préparations commerciales d'enzymes les plus efficaces seront ainsi constituées de PME associées aux PG. Ces enzymes sont incorporées à la pulpe avec des concentrations variant de 40 à 200 g.t<sup>-1</sup> pendant une durée comprise entre 30 et 60 min à température optimale de l'enzyme (30-50°C) (Grassin, 1997). De nombreux travaux ont montré l'utilité des enzymes dans les rendements d'extraction. En exemple, Chauhan, Tyagi, *et al.* (2001) ont montré pour la liquéfaction de la pulpe d'abricot, de prune et de mangue avec une composition enzymatique PME (1,15 unité.g<sup>-1</sup>) et PG (6,68 unité.g<sup>-1</sup>) que le rendement en jus est dépendant de la durée d'incubation, de la température et de la concentration en enzymes. Pour la pulpe d'abricot une concentration de 0,5% à 45°C pendant 4h permet d'obtenir les rendements maximaux (82%). Pour la mangue, 6h d'incubation à 45°C à une concentration de 0,9%, permet d'obtenir le rendement maximal (59%). Les concentrations en

enzymes utilisées étaient cependant très supérieures aux concentrations utilisées industriellement. Sans enzymation, il n'y a aucune extraction de jus de mangue et un rendement de 17% pour l'abricot.

En ajoutant des pectine-lyases à une préparation enzymatique de PG et PME dans la pulpe de prune, la production de nectar est facilitée (Jeyamkondan, Jayas *et al.*, 1999; Will et Dietrich, 2006).

### 2.3.2.3 Stabilisation du trouble

Dans les jus troubles, il est nécessaire que le trouble ou l'opalescence reste homogène pour préserver les qualités organoleptiques de ce type de jus, comme la couleur et la sensation du jus en bouche. Le trouble est attribué à une suspension de particules composée de pectines, protéines, lipides, hémicellulose, cellulose et d'autres composants mineurs (Baker et Bruemmer, 1969; Klavons, Bennett *et al.*, 1991).

Le risque majeur de déstabilisation du trouble est la clarification spontanée du jus au cours du stockage. En effet, si les enzymes endogènes ne sont pas inactivées, sous l'action de la PME endogène, les pectines solubles gélifient sous forme de pectinate de calcium emprisonnant les particules en suspension. La rétractation du gel par synérèse expulse un sérum limpide donnant un aspect bi-phasique au jus (Rouse et Atkins, 1952).

Des actions peuvent être menées à plusieurs niveaux afin de prévenir la déstabilisation des jus. L'addition de chélateurs de calcium serait un moyen de stabiliser le trouble en évitant la formation de pectinate de calcium, mais ceux-ci sont interdits dans les jus (Baron, 2002). Il est donc nécessaire d'agir au cours du procédé de transformation en inactivant la PME ou en dégradant les pectines solubles. Dans le jus de carottes, l'inactivation totale de la PME nécessite un traitement thermique de 10 min à 70°C ou 5 min à 80°C (Reiter, Stuparic *et al.*, 2003). L'utilisation des champs électriques pulsés à haute intensité permet une inactivation de la PME et une diminution de la viscosité comparable à un traitement thermique (90°C, 30 s) dans le jus de pastèque (Aguilo-Aguayo, Soliva-Fortuny *et al.*, 2010).

L'utilisation des ultra-sons dans le jus d'orange (1500 W, alternation des pulsations toutes les 5s) permet l'inactivation totale de la PME et une stabilité du jus augmentée (Tiwari, Muthukumarappan *et al.*, 2009).

#### 2.3.2.4 Clarification

La clarification consiste à déstabiliser le trouble dans les jus dû à la fois à l'opalescence des colloïdes pectiques en pseudo-solution (diamètre inférieur à 0,1  $\mu\text{m}$ ) et aux particules en suspensions stabilisées par les pectines insolubles qui jouent le rôle de colloïdes protecteurs (diamètre entre 0,5  $\mu\text{m}$  et 10  $\mu\text{m}$ ). Les éléments plus gros, constitués de débris cellulaires ou d'amas de cellules, sont considérés comme « les pulpes » et ne participent pas aux troubles (Baron, 2002).

Au départ (années 1930), la clarification se faisait par simple décantation. Les membranes ont constitué un procédé innovant avec un fort développement dans les années 1960-1970. Seulement, sans l'utilisation de pectinases, des problèmes de colmatage apparaissent. Après ces traitements enzymatiques, il est nécessaire de filtrer les jus afin de retenir les particules précipitées (Drilleau, 1988).

Après ces traitements, le jus est limpide, mais les conditions de rendement et de débit dépendent du type de filtration, de la composition macromoléculaire du jus ainsi que de la technique d'extraction enzymatique des jus.

#### Enzymes utilisées pour l'aide à la clarification

L'utilisation d'enzymes de clarification des jus se fait après pressurage sur les jus bruts. La clarification permet d'obtenir des jus limpides, « brillants » et plus stables. Les jus riches en pectines sont visqueux et présentent un aspect plus ou moins opalescent en raison de la présence des colloïdes. Les pectines sont responsables de la viscosité des jus et maintiennent les particules en suspension (1 nm à 30  $\mu\text{m}$ ) en empêchant les charges électrostatiques de s'agréger avec les protéines nécessaire en vue d'une clarification (Grassin et Fauquembergue, 1996).

Le rôle des enzymes clarifiantes est de déstabiliser l'équilibre colloïdal en dégradant les macromolécules de pectines solubles. La fraction pectique recouvrant les particules en suspension est également solubilisée par l'action des enzymes clarifiantes. Les enzymes clarifiantes sont constituées d'un mélange de PME et PG. La PME dégrade les liaisons esters, la PG peut alors couper les liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) entre les acides galacturoniques. Les particules peuvent ensuite flocculer par interactions électrostatiques avec les protéines chargées

positivement et sédimenter (Figure 19) (Pilnik et Voragen, 1993). De plus, la dégradation des pectines solubles évite la viscosité et la gélification lors de la concentration des jus et la formation d'une couche de diffusion lors de la filtration.

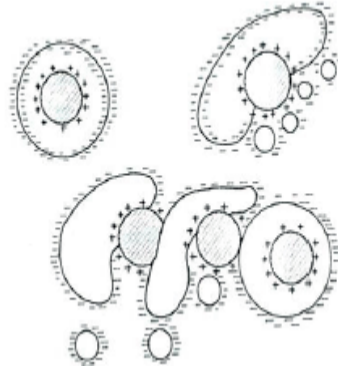


Figure 19 : Déséquilibre colloïdal et agrégation des particules (Pilnik et Voragen, 1993).

La présence de PL ou PME est nécessaire dans le cas de jus contenant des pectines hautement estérifiées telle que la pomme (degré de méthylation (DM) supérieur à 80%), pour permettre une action efficace de la PG. En effet, l'activité de la PG est nulle à un degré de méthylation (DM) de 75% et son activité croît avec la diminution du DM. Au contraire, la PL clive les pectines entre les résidus d'acides galacturoniques méthylés et son activité décroît avec la diminution du DM (Grassin et Fauquembergue, 1996; Baron, 2002). Dans les jus contenant des pectines faiblement estérifiées comme dans les jus de raisin (DM de 44 à 65%), la PL n'augmente pas les performances de clarification, c'est donc la PG qui a l'action principale (Pilnik et Voragen, 1993; Grassin et Fauquembergue, 1996).

Dans les jus pauvres en protéines, la floculation est favorisée par l'adjonction de protéines exogènes, le plus souvent de la gélatine (Bannach, 1984). Des tests préalables doivent être réalisés afin de ne pas être en excès. Dans leur production expérimentale de jus de pomme clarifié, Will, Schulz *et al.* (2002) utilisent la gélatine à  $100 \text{ g.hL}^{-1}$ . L'excès de protéines peut provoquer l'effet inverse de celui initialement désiré et entraîner un trouble au cours de la pasteurisation (lié à une thermo-coagulation) ou du stockage (réaction des protéines avec les polyphénols (Le Bourvellec et Renard, 2010)). L'excès de protéines peut être corrigé par collage à la bentonite (silicate d'alumine hydraté).

Après liquéfaction, les jus contiennent des pectines et des polysaccharides neutres originaires de la dégradation des parois cellulaires et résistants aux enzymes pectolytiques classiques. L'accumulation de ces polymères, en fin de liquéfaction entraîne des difficultés

supplémentaires pour la clarification (Drilleau, 1988; Will, Handschuh *et al.*, 1992). En effet, sur huit variétés de pommes traitées par liquéfaction, les suspensions colloïdales trouvées dans les jus varient de 9,7 à 19,6 g.L<sup>-1</sup> (Mehrlander, Dietrich *et al.*, 2002). Des travaux menés dans les années 1990 (Schols, Posthumus *et al.*, 1990), ont permis d'identifier une famille nouvelle de pectinases, les rhamnogalacturonanases, qui dégradent les polymères « Modified Hairy Regions » (MHR) jusqu'aux oligomères.

Des techniques innovantes permettent la clarification des jus de citron en séparant les particules par application d'un champ électrique pulsé à 500V.m<sup>-1</sup>. Les résultats de cette étude montre une amélioration de la couleur, l'absence de pectine dans ces jus et une stabilité des jus à plus long terme (Sarkar, De *et al.*, 2008).

## **2.4 Procédés de décontamination microbiologique**

### **2.4.1 Microorganismes pathogènes et traitements de décontamination**

En règle générale, à cause de leur pH bas, les jus de fruits présentent peu de risques microbiologiques. Un pH inférieur à 4,5 est létal pour des germes pathogènes comme *Listeria monocytogenes* ou *Clostridium botulinum* (Parish et Higgins, 1989).

Cependant, des épidémies de diarrhées et des syndromes d'urémie hémolytique en 1991 dans le Massachussets (Etats-Unis) ont été associées à la consommation de jus de pomme non pasteurisés présentant la souche pathogène *E.Coli O157 :H7* (Besser, Lett *et al.*, 1993). En Lybie, sur 146 jus non pasteurisés, la teneur en microorganismes viables varie de 1,7.10<sup>5</sup> (jus d'amande) à 5,1.10<sup>3</sup> (jus de citron) (Ghenghesh, Belhaj *et al.*, 2005). Sur ces microorganismes trouvés dans les jus, beaucoup sont pathogènes pour l'homme comme la souche *E. Coli O157*.

A la sortie de la chaîne de production, les jus de fruits doivent être exempts de microorganismes en quantité pouvant présenter un danger pour la santé et ceci jusqu'à la date limite de consommation. Le Tableau V récapitule les valeurs maximales tolérées pour les jus de fruits frais.

Tableau V : Microorganismes dans les jus de fruits : valeurs maximales tolérées

Microorganismes	Valeurs limites en UFC.g-1	Remarques
Flore lactique	1000	
Levures et moisissures	1000	
Escherichia Coli	10	Critères procédés règlement (CE) nf 2073/2005
Salmonella /25 g	Absence	Critères procédés règlement (CE) nf 2073/2005
Listeria monocytogenes / 25 g	100	Critères procédés règlement (CE) nf 2073/2005

La lutte contre les microorganismes est ainsi indispensable pour assurer la qualité sanitaire et microbiologique des jus, en assurer la stabilité et prolonger leur durée de consommation. Il existe plusieurs traitements de décontamination basés sur la thermorésistance, barorésistance... des microorganismes.

Le procédé classiquement utilisé pour la pasteurisation s'effectue ainsi : les bouteilles pleines fermées sont aspergées d'eau de plus en plus chaude jusqu'à atteindre des températures de l'ordre de 90°C, ce qui chauffe le produit de 82°C à 85°C. Cette technique de " pasteurisation ", mise au point par Pasteur, nécessite des procédures longues de chauffage puis de refroidissement pouvant provoquer la cuisson du jus de fruits et la dégradation de ses arômes. La pasteurisation présente des effets négatifs : à 80°C, un brunissement non enzymatique peut apparaître, la perte de nutriments thermolabiles et la formation de produits indésirables comme le 5-hydroxyméthylfurfural (5HMF) (Baron, 2002). Cependant de nombreuses études montrent que ces nouveaux composés formés lors de la réaction de Maillard ont une forte activité antioxydante (Kim, Jeong *et al.*, 2003; Del Caro, Piga *et al.*, 2004).

La première substitution à la pasteurisation classique est le chauffage rapide : le remplissage des emballages en verre se fait avec un jus porté à 95/97°C. L'ensemble jus/bouteille après fermeture ayant une température de 82°C à 85°C s'auto-pasteurise. Cet ensemble est ensuite rapidement refroidi. Cette technique dite " flash pasteurisation " réduit de moitié l'intensité du traitement thermique. Une bonne maîtrise de l'asepsie permet de réduire encore le barème thermique (Baron, 2002; Aymerich, Picouet *et al.*, 2008).

La flash pasteurisation peut être suivie par un remplissage aseptique à froid. Les emballages sont stérilisés en ambiance aseptique avant l'opération de remplissage. Les jus de

fruits sont stérilisés par flash pasteurisation (passage à 95/97°C) puis refroidis en quelques secondes à la température ambiante avant d'être introduits à froid dans l'emballage aseptique. Cependant des règles d'hygiène strictes doivent être respectées afin d'éviter une recontamination postpasteurisation. De nombreux distributeurs de jus de fruits (Andros, Pampryl) maîtrisent ce procédé de remplissage à froid, leur emballage ne résistant pas à la température de pasteurisation.

Cette même technique sous pression permet de porter le jus au dessus de 100°C ; les températures de chauffage peuvent atteindre jusqu'à 130°C, avec une réduction de durée de traitement. Par exemple, il est possible de pasteuriser le jus d'orange en 3 secondes à 107°C. Cette technique de refroidissement rapide entraîne une réduction des temps de traitement thermique ce qui préserve d'autant plus la qualité gustative et nutritionnelle des jus de fruits.

Il y a une demande des consommateurs pour des jus de fruits ayant subi le moins de procédés thermiques afin de conserver au maximum les propriétés initiales des fruits (Mittal et Griffiths, 2005). Pour bénéficier d'un statut jus fraîchement pressé, les jus ne doivent pas subir de traitement thermique mais uniquement mécanique (Union Interprofessionnelle des Jus de fruits et Nectar, 2009) et avoir la qualité microbiologique règlementaire (Tableau V). Un grand intérêt est donc porté à l'innovation avec des traitements de décontaminations alliant un procédé à faible température, des qualités nutritionnelles conservées et une inactivation des germes pathogènes (Gasperi, Aprea *et al.*, 2009).

Un de ces procédés reposant sur la barorésistance des microorganismes peut être appliqué. Sur des jus de fruit (pomme, orange, abricot et cerise) inoculés volontairement par *E.Coli O157: H7* et *Salmonelle*, un procédé haute-pression est appliqué. Un traitement de 5 min à 350 MPa à une température de 40°C permet l'inactivation complète de l'inoculum (Bayindirli, Alpas *et al.*, 2006). Houska, Strohmalm *et al.* (2006) montrent une diminution de 5 log<sub>10</sub> des microorganismes viables présents au départ dans différents jus de fruits après un traitement à haute pression (500 MPa pendant 10 min). Cependant, cette technique ne permet pas l'inactivation des enzymes pectolytiques et les jus présentent un déphasage dès le début de stockage (Denès, 1999).

D'autres procédés consistent en l'utilisation d'un champ électrique pulsé à haute intensité (HICEP) capable d'inactiver l'ensemble des microorganismes dans les aliments sans perte significative de flaveur, couleur et nutriments (Elez-Martinez, Soliva-Fortuny *et al.*, 2006; Sobrino-Lopez, Raybaudi-Massilia *et al.*, 2006). Dans les jus de pomme, orange, poire et fraise inoculés volontairement par *E.Coli O157: H7* et *Salmonelle*, une haute intensité de

champ électrique pulsé (intensité du champ électrique : 35 kV .cm<sup>-1</sup>, durée du pulse : 4µs) combinée à un antiseptique naturel (acide citrique) est appliquée aux jus s'écoulant entre 80 et 100 mL.min<sup>-1</sup>. Comparé à une HICEP seul, il est remarqué un effet synergique et additif de l'acide citrique dans la destruction de *E.Coli O157: H7* et *Salmonelle* (Mosqueda-Melgar, Elez-Martinez *et al.*, 2008).

#### 2.4.2 Validité des procédés de décontamination

La validité d'un procédé de décontamination microbiologique se fait par des mesures du contenu des jus en microorganismes pertinents avant et après traitement. Il est entendu par microorganismes pertinents les microorganismes pathogènes les plus résistants. Selon la norme de 2001 (CFR 120.24) requise par la Food and Drug Administration (FDA), il doit y avoir une diminution de 5.log<sub>10</sub> en contenu pathogènes après le traitement pour une période allant jusqu'à la fin de la date de consommation du jus de fruits.

Si des traitements incluent l'utilisation d'agent chimique antimicrobien, son efficacité doit être reconnue par la FDA pour cette utilisation, et, dans un même temps, cet agent doit être apte à l'usage alimentaire et ainsi bénéficier du statut GRAS « Generally Recognized As Safe ».

#### 2.4.3 Conditionnement

Le jus décontaminé est conditionné en emballage individuel (produit fini), ou bien en vrac : fûts (aseptiques ou congelés), bins (emballages aseptiques de 1000 litres), cuves, citernes... Les jus en vrac seront livrés aux élaborateurs de produits finis qui effectuent le conditionnement final, suite à une re-pasteurisation du jus (Baron, 2002).



# CHAPITRE III

## CONSTITUANTS DES FRUITS ET IMPACTS DES TECHNOLOGIES DE TRANSFORMATION

Une étude américaine réalisée sur 3 ans par la National Health and Nutrition Examination Survey a montré une relation entre la prise de nutriments, la prise de poids et la consommation de jus de fruits quotidienne (100% pur jus) chez les adolescents. Cette étude montre que la consommation quotidienne de jus de fruits permet de diminuer la consommation en matière grasse, en acide gras saturé et diminue l'ajout de sucre dans les aliments. Cependant, il n'y a pas de différence de poids observables entre les deux groupes (Akhtar-Danesh et Dehghan, 2010). La consommation de jus de fruits permet une régulation de l'apport en matière grasse et en sucre en apportant d'autres sources de nutriments. Les jus de fruits présentent plusieurs intérêts au niveau nutritionnel, avec un fort apport hydrique, un apport lipidique insignifiant, un apport calorique modéré (entre 40-90 kcal pour 200 mL, données UNIJUS (Union Interprofessionnelle des Jus de fruits et Nectar, 2009)), et une source de nutriments telle que les antioxydants.

Ce chapitre présentera les principaux constituants des fruits, leur implication au cours du procédé de transformation et l'impact des technologies de transformation en jus ainsi que leur « apport » à différents niveaux sensoriel et nutritionnel.

La majorité des composés nutritionnels sont extraits lors de la fabrication du jus. Cependant le rendement peut varier suivant le procédé, la localisation et la solubilité des constituants du fruit. La quantité de pectines et de constituants retrouvés dans les jus sera aussi dépendante de la déstabilisation pariétale induite par le procédé d'extraction.

# 1 Les constituants des fruits

Les fruits sont constitués majoritairement d'eau, de sucres, d'acides et de fibres alimentaires (Souci, Fachmann *et al.*, 2000). Les fruits présentent un attrait nutritionnel par leur teneur élevée en antioxydants, apporté par les vitamines et certains microconstituants comme les caroténoïdes et les polyphénols. Ce chapitre sera ciblé sur les trois fruits étudiés au cours de cette thèse : les raisins, les abricots et les prunes. La prune sera plus particulièrement détaillée en chapitre IV.

## 1.1 Macroconstituants

### 1.1.1 Eau

L'eau est le constituant majeur des fruits. L'eau n'apporte aucune valeur énergétique aux fruits cependant son existence joue un rôle très important. Elle influence la structure, l'apparence, le goût des fruits et leur susceptibilité à la dégradation.

La teneur moyenne en eau données par la Table de Composition des Aliments (Souci, Fachmann *et al.*, 2000) est de 85,3% ; 81,1% et 83,7% pour les abricots *Prunus armeniaca L.*, les raisins *Vitis vinifera L.* et les prunes *Prunus domestica L.* respectivement.

### 1.1.2 Sucres et acides

#### 1.1.2.1 Impact organoleptique

La qualité organoleptique des fruits et jus de fruit, la stabilité et la flaveur sont fortement dépendantes de la composition en sucre. Les sucres n'ont pas tous le même pouvoir sucrant, le tableau VI présente les valeurs attribuées aux différents sucres par rapport au référent saccharose (Amerine, Roessler *et al.*, 1965). Les sucres, dans les fruits, représentent

une très large proportion de la matière sèche soluble. Le taux de solides solubles contenus dans les fruits et les jus de fruits est souvent estimé par la mesure du degré Brix (°B).

Tableau VI : Pouvoir sucrant des sucres. Le pouvoir sucrant du saccharose (sucre de table) est établi à 1 (Amerine, Roessler *et al.*, 1965).

<b>REFERANT : Saccharose</b>	<b>1,00</b>
<b>Fructose</b>	1,75
<b>Glucose</b>	0,75
<b>Sorbitol</b>	0,50
<b>Maltose</b>	0,40
<b>Galactose</b>	0,35
<b>Lactose</b>	0,20

Bien que la teneur en acides organiques soit plus faible que celle des sucres, leur impact est important pour la qualité des fruits. La teneur en acides est souvent mesurée de façon globale par l'acidité totale, exprimée soit en milliéquivalents H<sup>+</sup>, soit par rapport à un acide choisi. Comme pour les sucres, le ressenti en bouche des acides organiques varie avec la molécule impliquée. Le goût acide est plus prononcé avec l'acide tartrique qu'avec l'acide malique à un pH de 3,30. Au même pH, le ressenti de l'aigreur est prédominant avec l'acide malique>acide lactique>acide citrique>acide tartrique (Amerine, Roessler *et al.*, 1965). Des hautes teneurs en acides ont souvent un impact négatif dans la palatabilité des jus.

C'est en fait l'ajustement de la balance Sucre/Acide qui détermine la perception et l'acceptabilité des jus. Sur les jus de raisin, avec un ratio Brix/Acide de 7, le jus est fortement rejeté alors qu'un ajustement du ratio à 11, par l'ajout de sucre, sirop, ou d'autre jus, permet d'inverser le résultat (Chang, Siddiq *et al.*, 1994). Crisosto, Garner *et al.* (2004) montrent, à partir d'une analyse sensorielle sur le jus de prune, qu'avec une acidité titrable inférieure à 0,6 %, le jus de prune est rejeté par 18 % des consommateurs tandis que si celle-ci est supérieure à 1%, le rejet est de 60%. Dans leur étude, ils ont aussi montré qu'avec un degré Brix supérieur à 12%, l'acceptation du jus par les consommateurs est de l'ordre de 75% et dans ce cas, l'acidité n'affecte pas le degré d'appréciation.

### 1.1.2.2 Teneurs en sucres

Le glucose, le fructose et le saccharose sont très nettement majoritaires. Le glucose et le fructose sont non hydrolysables et dotés d'un pouvoir réducteur, contrairement au

saccharose (Figure 20). Un autre sucre très fréquemment présent dans les fruits est le sorbitol, un polyalcool.

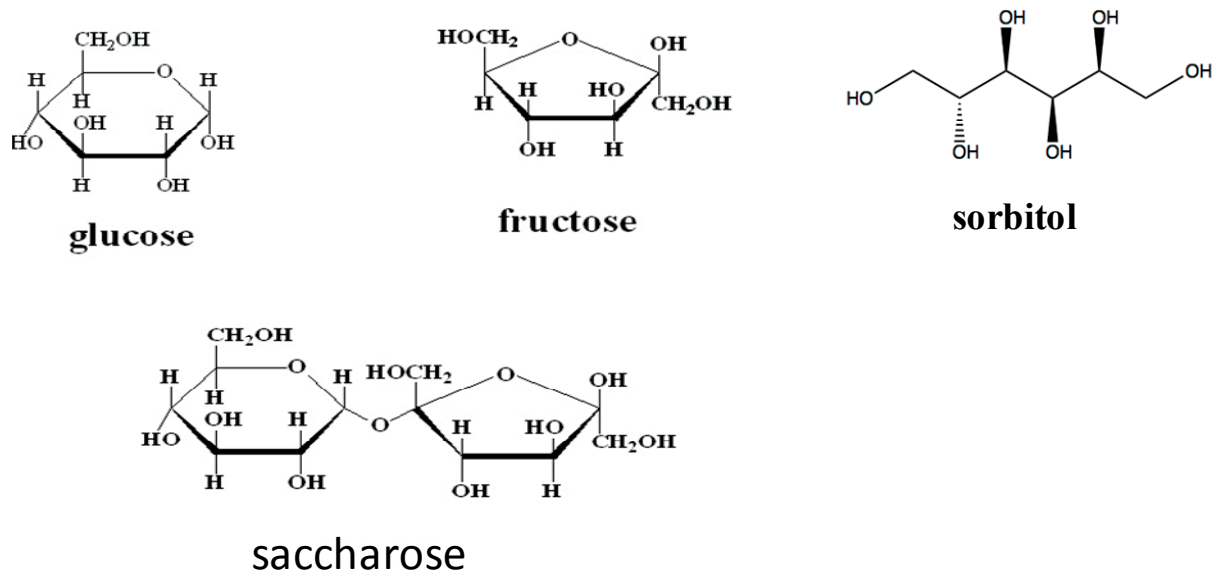


Figure 20: Structure des principaux sucres constituant les fruits ([www.pharma.com](http://www.pharma.com))

Le tableau VII recense la composition et les concentrations des principaux sucres trouvés dans la bibliographie pour les raisins, les prunes et les abricots.

Le suivi sur 2 ans de la teneur en sucres de 98 cultivars de raisins a permis de préciser la dominance du glucose et du fructose sur l'ensemble des sucres, avec un rapport glu/fru variant de 0,56 à 1,1 (Liu, Wu *et al.*, 2006). Les teneurs varient de 46 à 123 g.kg<sup>-1</sup> pour le glucose et de 47 à 131 g.kg<sup>-1</sup> pour le fructose. Le saccharose est hydrolysé en glucose et fructose au cours de la maturation de la baie (Vicens, 2007), et est donc faiblement présent dans le raisin excepté dans certains cultivars hybrides. La teneur moyenne en sucres donnée par la Table de Composition des Aliments (Souci, Fachmann *et al.*, 2000) est de 152 g.kg<sup>-1</sup>. Cependant ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif car les teneurs en sucres et acides dépendent de nombreux facteurs comme la variété, la maturation à l'instant t, l'ensoleillement (Liu, Wu *et al.*, 2006) ... . La teneur en sucres des jus de raisin varie de 150 g.L<sup>-1</sup> pour les données industrielles UNIJUS à 100 g.L<sup>-1</sup> en moyenne pour des jus issus de raisins d'Amérique du Sud faiblement sucrés (Lester, Manthey *et al.*, 2007). Des jus de raisins obtenus par macération et sonification présentent des teneurs en sucres variant de 122 à 142 g.L<sup>-1</sup> (Lieu et Le, 2010).

Le glucose, le fructose, le sorbitol, et le saccharose sont les principaux sucres retrouvés dans la prune, avec un rapport glucose/fructose et sucres réducteurs/saccharose variant avec l'origine des prunes. Glew, Ayaz *et al.* (2005) rapportent pour des Prunes d'ente des teneurs de 28 g.kg<sup>1</sup> pour le glucose, 33 g.kg<sup>-1</sup> pour le fructose et 2,8 g.kg<sup>-1</sup> pour le saccharose. D'autres auteurs montrent une dominance marquée du glucose (Nergiz et Yildiz, 1997; Usenik, Kastelec *et al.*, 2008). Sur quatre variétés de prunes (*Prunus domestica L.*), Usenik, Kastelec *et al.* (2008) rapportent des concentrations de glucose variant de 38 à 115; de fructose de 19 à 35; de saccharose de 21 à 72 et du sorbitol de 3 à 29 g.kg<sup>-1</sup>. Dans les onze variétés de prunes caractérisées par Nergiz et Yildiz, (1997), la concentration moyenne en sucres réducteurs est de 52 g.kg<sup>-1</sup>, et de 42,4 g.kg<sup>-1</sup> pour le saccharose. Sur ces 11 variétés, trois présentent une dominance marquée du saccharose par rapport aux sucres réducteurs dont la variété Najbolia.

Dans les jus de prunes, les teneurs globales en sucres se situent dans une gamme de 60 à 110 g.L<sup>-1</sup> (Chang, Siddiq *et al.*, 1994; Will et Dietrich, 2006). L'analyse spécifique des sucres (Will et Dietrich, 2006) montre que le glucose apporte la plus grande contribution à la concentration finale en sucre et le saccharose, la plus faible. Cependant, Chang, Siddiq *et al.* (1994) relèvent des teneurs en saccharose plus élevées que celle en glucose et fructose dans quatre des six jus obtenus à partir de variétés différentes. Les jus de prunes industriels présentent des teneurs en sucre de l'ordre de 120 g.L<sup>-1</sup>, ces données concernent des jus mélangés.

Pour l'abricot, le saccharose est le sucre dominant. Drogoudi, Vemmos *et al.* (2008) rapportent pour 29 variétés « de bouche » des concentrations en saccharose comprises entre 28 et 47 g.kg<sup>-1</sup>. Le glucose présente une gamme de concentrations de 5 à 15 g.kg<sup>-1</sup>, le fructose de 1 à 6 g.kg<sup>-1</sup> et le sorbitol de 1 à 8 g.kg<sup>-1</sup> (Drogoudi, Vemmos *et al.*, 2008). Gurrieri, Audergon *et al.* (2001) ont mesuré des concentrations en saccharose, sur 51 variétés d'abricots, entre 27 et 129 g.kg<sup>-1</sup>, et entre 7 et 61 g.kg<sup>-1</sup> pour les sucres réducteurs (glucose et fructose). Ces données sont en accord avec celles obtenues par Bureau, Ruiz *et al.* (2009) sur huit variétés d'abricot. Le sorbitol représente moins de 5% des sucres totaux (Gurrieri, Audergon *et al.*, 2001; Bureau, Ruiz *et al.*, 2009).

Dans les jus d'abricot, les teneurs globales en sucres sont plus faibles et se situent dans une gamme de 58 à 70 g.L<sup>-1</sup>, avec une dominance du saccharose (Versari, Parpinello *et al.*, 2008). Après liquéfaction, Chauhan, Tyagi *et al.* (2001) mesurent une teneur en sucres de 99

$\text{g.L}^{-1}$  dans les jus d'abricot. Les données industrielles de productions françaises recensent des valeurs comprises entre 125 et 140  $\text{g.L}^{-1}$  dans les nectars d'abricot.

Tableau VII : Concentration en sucres et acides dans les fruits et les jus

		Sucre				Acide			Auteurs
		Glucose	Fructose	Saccharose	Sorbitol	Malique	Citrique	Tartrique	
Raisin	Fruit (g.kg <sup>-1</sup> )	46-123	46-131	1-49	ND	0,4-6,0		1,5-9,1	Liu, Wu et al., 2006
	Jus (g.L <sup>-1</sup> )		100 150 122-142						Lester, Manthey et al., 2007 données industrielles UNIJUS Liu, Wu et al., 2006
Prune	Fruit (g.kg <sup>-1</sup> )	28 19-35	33 38 -155	2,8 21 -72	3-29				Glew, Ayaz et al., 2005 Usenik, Kastelec et al. 2008
	Jus (g.L <sup>-1</sup> ) ou méq pour 100g#	51,9 64 31-66	42,4	25	42 0-16	9-12 11 2#	5-9		Nergiz, Yildiz et al., 1997 Will et Dietrich, 2006 Traitement pectinase, Chang, Siddiq et al., (1994)
Abricot	Fruit (g.kg <sup>-1</sup> )	5-15 7-61 22	1-6	28-47 27-129 48	1-8	0-24# 10,5#	1-34# 16#		Drogoudi, Vemmos et al., 2008 Gurrieri, Audergon et al., 2001 Bureau, Ruiz et al., 2009
	Jus (g.L <sup>-1</sup> )	18-23 99	14-22	21-25	2-4	2-003	1-002		Versari, Parpinello et al., 2008 Chauhan, Tyagi et al., 2001

# : méq pour 100g

### 1.1.2.3 Teneurs en acides

Le tableau VII recense la composition et les concentrations des principaux acides dans les raisins, les prunes et les abricots.

Les acides les plus représentés dans les fruits sont l'acide malique et l'acide citrique. L'acide tartrique est notamment trouvé dans le raisin. Les proportions de ces différents acides dans le fruit varient selon les espèces, la maturité, l'ensoleillement....

L'acide malique et l'acide tartrique représentent plus de 90% de la teneur en acides organiques dans la baie de raisin. Leur teneur ainsi que leur rapport sont modifiés au cours de la maturation et peuvent également varier en fonction des conditions du milieu (Liu, Wu *et al.*, 2006; Vicens, 2007). Dans les raisins, sur 98 grappes analysées, l'acide tartrique est l'acide majoritaire (1,5 à 9,1 g.kg<sup>-1</sup>) devant l'acide malique (0,4 à 6,0 g.kg<sup>-1</sup>) (Liu, Wu *et al.*, 2006).

L'acide citrique et l'acide malique sont les principaux acides des prunes. Sur les différentes variétés testées, l'acide malique est majoritaire (de 9 à 12 g.kg<sup>-1</sup>), tandis que l'acide citrique présente des concentrations de 5 à 9 g.L<sup>-1</sup>, avec un rapport malique/citrique variant de 0,6 à 0,8 (Glew, Ayaz *et al.*, 2005). D'autres acides ont été détectés dans les prunes dont l'acide shikimique et fumarique (Usenik, Kastelec *et al.*, 2008). Dans les jus de prunes, l'acide majoritaire est l'acide malique, l'acide citrique est en très faible proportion (Chang, Siddiq *et al.*, 1994; Will et Dietrich, 2006; Usenik, Kastelec *et al.*, 2008).

Pour l'abricot, deux acides sont retrouvés principalement : l'acide citrique et l'acide malique avec une dominance marquée de l'acide citrique (Gurrieri, Audergon *et al.*, 2001; Drogoudi, Vemmos *et al.*, 2008; Bureau, Ruiz *et al.*, 2009). Les teneurs en acide citrique varient sur 51 variétés testées de 0 à 24 mEq pour 100g (Gurrieri, Audergon *et al.*, 2001) et pour l'acide malique de 1 à 34 meq pour 100g. Les teneurs moyennes établies par Bureau, Ruiz *et al.* (2009) sur huit variétés sont de 16 meq pour 100g pour l'acide citrique et de 10,5 mEq pour 100g pour l'acide malique.

### 1.1.3 Jus théorique des fruits

Si l'eau est le constituant principal des fruits, le jus du fruit représente l'eau plus les composés solubles du fruit, principalement les sucres.



Pour connaître le volume réel de jus pouvant être extrait à partir de 1 kg de fruit, il est nécessaire de considérer les composés solubles dans les fruits qui se retrouvent potentiellement extraits et qui contribueront ainsi à la masse finale du jus. Pour le calculer, il est nécessaire de poser certaines hypothèses et approximations: en première approximation, le fruit peut être assimilé à « une éponge » contenant le jus (eau et solides solubles) dans une matière insoluble. Dans ces conditions, le contenu en « jus théorique » d'un fruit peut être estimé en tenant compte d'une part des composés solubles, potentiellement extraits, et d'autre part de la matrice insoluble. La composition du jus théorique est donc calculée à partir de celle du fruit, et le volume de jus par kilogramme de fruit est calculé à partir de leur teneur en matière sèche et de la densité du jus théorique obtenu par conversion du Brix d'après les tables de conversion (Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), 1981). La deuxième approximation est donc que la contribution des différents constituants au degré Brix est assimilée à celle du saccharose.

Le Brix représente la matière soluble du fruit, c'est-à-dire la matière sèche du jus théorique, ainsi :

$$Brix = ES_{jus} (\%) \quad (1)$$

L'estimation de la matière sèche du jus permet de connaître le pourcentage d'eau du jus  $E_{jus}$  :

$$E_{jus} = 1 - ES_{jus} \% \quad (2)$$

En considérant que le pourcentage de la matière sèche (somme des matières solubles et insolubles, MS%) des fruits est connu, alors le pourcentage d'eau des fruits  $E_{fruit} \%$  peut être calculé par :

$$E_{fruit} \% = 1 - MS_{fruit} \% \quad (3)$$

Puisque nous considérons que le compartiment « liquide » du fruit est constitué de jus nous avons :

$$M_{jus} \cdot E_{jus} \% = 1000 \cdot E_{fruit} \% \quad (4)$$

Avec  $M_{jus}$  : masse totale théorique de jus contenu dans un kilogramme de fruits

$$M_{jus} = \frac{1000 \cdot E_{fruit} \%}{E_{jus} \%} \quad (5)$$

Le volume total théorique de jus dans un kilogramme de fruits,  $V_{jus}$  peut être calculé à l'aide de la densité du jus théorique obtenu par conversion du Brix

$$V_{jus} = \frac{M_{jus}}{MV} \quad (6)$$

De plus, des caractéristiques techniques et les propriétés intrinsèques des fruits, sont aussi impliquées dans le rendement d'extraction final. L'épaisseur de pulpe, le procédé utilisé, la viscosité, la porosité de la paroi... (Albagnac, Varoquaux *et al.*, 2002) peuvent influencer le rendement d'extraction.

## **1.2 Constituants mineurs**

### **1.2.1 Polyphénols**

L'extraction des polyphénols lors du transfert du fruit au jus est essentielle pour préserver l'intérêt nutritionnel des fruits. De plus, les polyphénols jouent un rôle organoleptique par leur impact sur la couleur, l'amertume, l'astringence...

Dans ce paragraphe, les différentes classes de polyphénols présentes dans la prune, le raisin et l'abricot seront définies. Nous résumerons ensuite l'impact des technologies de transformation sur les teneurs en polyphénols des jus, notamment sur le raisin et la pomme, pour lesquels les données bibliographiques sont plus riches, ainsi que les propriétés organoleptiques induites par ces composés.

#### **1.2.1.1 Les différentes classes de polyphénols**

Les classes dominantes de polyphénols identifiés et couramment analysés dans les prunes, les raisins et les abricots sont : les flavan-3-ol (principalement proanthocyanidines et leurs monomères), les dérivés d'acides hydroxycinnamiques, les flavonols et les anthocyanes. La prune et l'abricot présentent globalement les mêmes composés dans ces classes, tandis que ceux des raisins sont majoritairement différents. Le tableau VIII présente les gammes de teneurs en polyphénols selon leur classe spécifique, recensées dans la bibliographie pour le raisin, l'abricot et la prune.

### 1.2.1.1.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un des groupes les plus communs, largement distribués et caractéristiques des métabolites secondaires phénoliques des végétaux. Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone, constitué de deux cycles en C<sub>6</sub> reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> formant un diphenylpropane. Ils consistent en deux noyaux benzéniques (nommés A et B) reliés par trois atomes de carbone (constituant le cycle C) qui forment généralement un hétérocycle oxygéné (Bravo, 1998) (Figure 21). Le niveau d'oxydation du noyau C permet de distinguer les différentes sous-classes de flavonoïdes, parmi lesquelles les flavan-3-ols, les flavonols et les anthocyanes (Haslam, 1998).

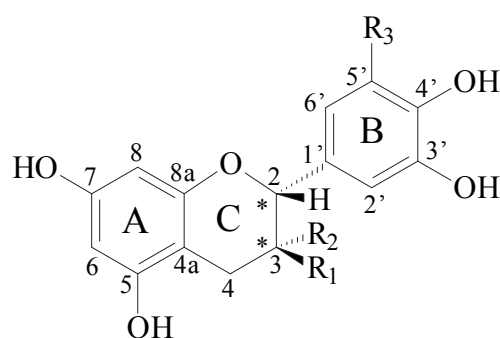


Figure 21 : Squelette carboné des flavonoïdes

#### *1.2.1.1.1.1 Flavan-3-ols*

##### *1.2.1.1.1.1.1 Monomères*

Les flavan-3-ols constituent la sous-classe majoritaire de flavonoïdes dans les fruits utilisés. Les monomères de flavan-3-ols, aussi dénommés catéchines, présentent deux carbones asymétriques en C-2 et C-3 entraînant ainsi la possibilité de stéréo-isomères (Figure 22). Les membres les plus abondants de cette classe sont la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine de configuration 2R. Les flavan-3-ols de configuration 2S sont très rares (Haslam, 1989).

Dans la prune (*Prunus domestica L.*) les flavan-3-ols monomères sont représentés par la (+)-catéchine et de la (-)-épicatéchine, la (+)-catéchine étant la plus abondante. Suivant la variété la (-)-épicatéchine peut-être absente ou à l'état de traces (Los, Wilska-Jeszka *et al.*, 2000; Del Caro, Piga *et al.*, 2004; ISAFRUIT, 2007; Piga, Del Caro *et al.*, 2003; Nunes, Guyot *et al.*, 2008)

Dans le raisin, les catéchines les plus abondantes sont la (+)-catéchine, la (-)-épicatéchine et la (-)-épicatéchine-3-O-gallate (Czochanska, Foo *et al.*, 1980; Oszmianski et Sapis, 1989; Macheix, Sapis *et al.*, 1991; Santos-Buelga, Francia-Aricha *et al.*, 1995), la (+)-catéchine étant toujours la plus abondante. Dans l'abricot (*Prunus armeniaca L.*), la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine ont été identifiées. Radi, Mahrouz *et al.* (2004) rapportent une prédominance de la (+)-catéchine, mais Dragovic-Uzelac, Delonga *et al.* (2005) une dominance de la (-)-épicatéchine.

Flavan-3-ols	Configuration		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>			
(+)-catéchine	R	S	OH	H	H
(-)-épicatéchine	R	R	H	OH	H

Figure 22 : Les flavan-3-ols monomères (cf figure 21)

#### 1.2.1.1.1.2 Proanthocyanidines

Les proanthocyanidines sont largement représentées dans le règne végétal (Thompson, Jacques *et al.*, 1972; Haslam, 1977). Elles appartiennent à la famille des flavonoïdes: ce sont des oligo- et poly-mères de flavanols (Czochanska, Foo *et al.*, 1979). Elles sont souvent désignées sous le terme de tannins condensés pour les distinguer des tannins hydrolysables qui sont constitués par une molécule glucidique sur laquelle est estérifiée de l'acide gallique ou un de ses dérivés (Figure 23).

Les tannins condensés résultent de la polymérisation de molécules élémentaires que sont les flavan-3-ols. La dénomination de proanthocyanidines vient du fait que les liaisons reliant leurs unités monomériques sont labiles en milieu acide fort et libèrent des anthocyanidines (aglycone des anthocyanes)

Les tannins présentent une structure amphiphile, avec des noyaux aromatiques hydrophobes et des groupements hydroxyles hydrophiles.

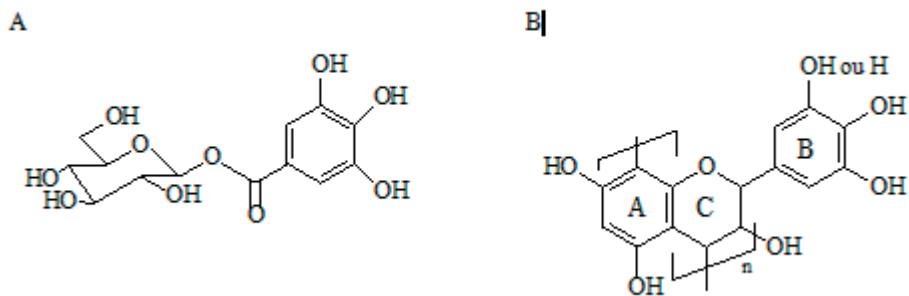


Figure 23 : Structure des tannins hydrolysables (A) et des tannins condensés (B)

La structure de ces composés est caractérisée par la nature des unités constitutives, la localisation et la nature des liaisons interflavaniques et par le degré de polymérisation (DP) c'est-à-dire le nombre d'unités constitutives de la molécule (Hemingway, 1989).

Différentes classes peuvent être distinguées sur la base du niveau d'hydroxylation des unités constitutives. Les procyanidines (Figure 24) sont constituées d'unités (+)-catéchine et/ou (-)-épicatéchine alors que les prodelphinidines présentent dans leur structure des unités du type gallocatéchine et/ou épigallocatéchine (Hemingway, 1989).

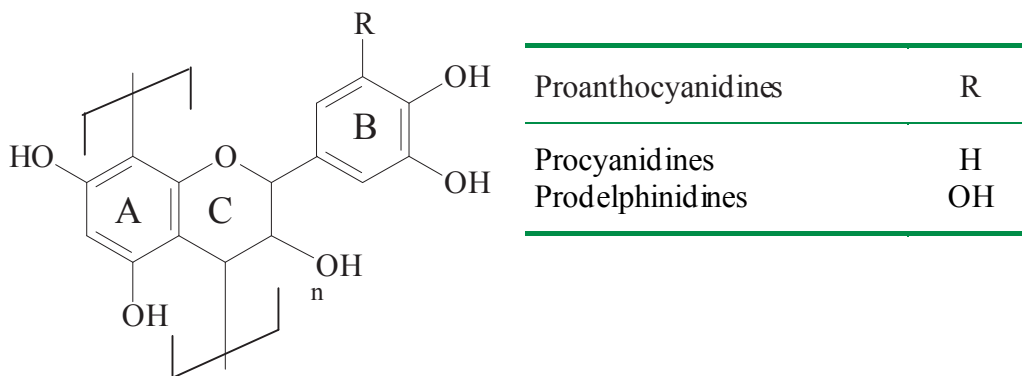


Figure 24 : Structure carbonée des principales proanthocyanidines trouvées dans les fruits et caractérisation des groupements R.

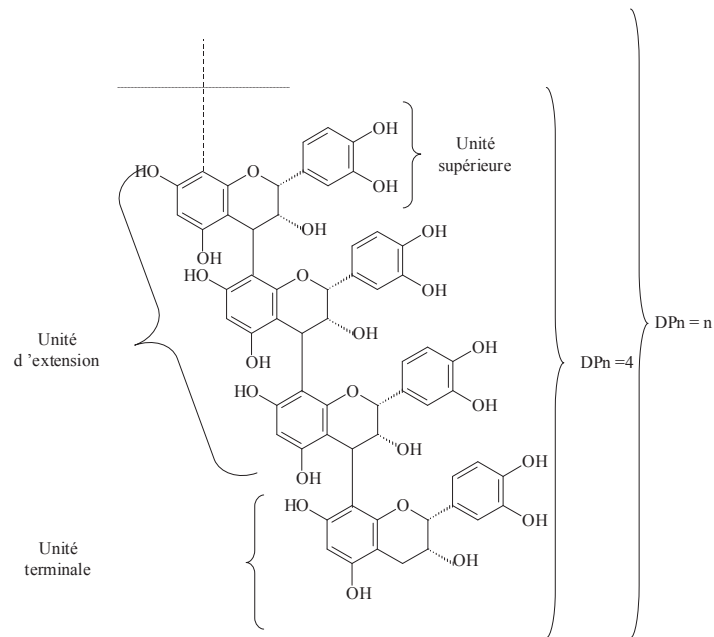


Figure 25: Structure des procyanidines- exemple d'une procyanidine de type B, constitué de (-)-épicatéchine (Guyot, Doco *et al.*, 1997).

Deux types de proanthocyanidines sont distingués en fonction de la nature de la liaison. Les procyanidines de type B (Figures 25 et 26) comportent une seule liaison interflavanique qui peut être de type C4-C8 ou C4-C6, la liaison C4-C8 étant la plus commune (Hemingway, 1989). Les procyanidines de type A comportent deux liaisons interflavaniques, la première relie les carbones C4-C8 ou C4-C6, et la seconde correspond à une liaison éther additionnelle qui relie les carbones C2-O-C7 ou C2-O-C5 (Haslam, 1989)

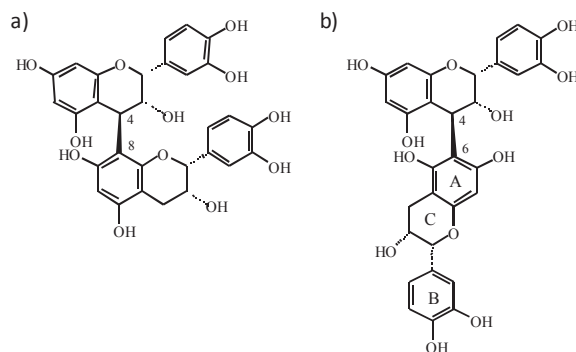


Figure 26 : Les procyanidines de type B : a) liaison C4-C8 , b) liaison C4-C6

Dans la prune et l'abricot, seules les procyanidines ont été observées, représentant jusqu'à 92% des polyphénols totaux pour la chair de la variété *Golden Japan* (Nunes, Guyot

*et al.*, 2008). La teneur en procyanidines est plus élevée dans la chair que dans la peau de prune, la teneur la plus basse étant trouvée dans la variété *Reine claudes verte* avec respectivement 45 et 37 % de la teneur totale en polyphénols. Le DP est plus élevé dans la chair (5<DP<9) que dans la peau (4<DP<6) pour l'ensemble des variétés étudiées, avec en unités terminales, la (+)-catéchine. Dans la variété Najbolia, le DP est estimé à 10,2 (ISAFRUIT, 2007). Le dimère majeur dans la prune est la procyanidine B7 (dimère de (-)-épicatechine et de (+)-catéchine, lié en C4-C6). Dans les abricots ont été identifiés les procyanidines B2 (dimère de (-)-épicatechine et de (-)-épicatechine, lié en C4-C8) , B3 (dimère de (+)-catéchine et de (+)-catéchine, lié en C4-C8) et le trimère C1 ((-)-épicatechine(-)-épicatechine(-)-épicatechine)) (Radi, Mahrouz *et al.*, 2004).

Dans le raisin, sont présents à la fois des procyanidines et des prodelphinidines (Souquet, Cheynier *et al.*, 1996; Souquet, Labarbe *et al.*, 2000), avec des liaisons du type B (Thompson, Jacques *et al.*, 1972; Ricardo-Da-Silva, Bourzeix *et al.*, 1991; Prieur, Rigaud *et al.*, 1994; Souquet, Cheynier *et al.*, 1996; de Freitas, Glories *et al.*, 1998). Des liaisons interflavoniques de type C4-C6 sont observées dans quelques dimères et trimères mais la liaison la plus commune reste la liaison C4-C8 (Ricardo da Silva, Bourzeix *et al.*, 1991).

Les proanthocyanidines de pellicule et de rafles sont constituées à la fois d'unités (épi)gallocatéchine et d'unités (épi)catéchine. La (-)-épicatechine est l'unité constitutive majoritaire (~60%). Elle représente 73% des unités d'extension mais seulement 16,5% des unités terminales, parmi lesquelles la (+)-catéchine atteint 78% (Souquet, Labarbe *et al.*, 2000). Dans le raisin, le DP varie en fonction de la localisation tissulaire (Souquet, Cheynier *et al.*, 1996; Souquet, Labarbe *et al.*, 2000) et de la variété (Souquet, Labarbe *et al.*, 2000). Le DP moyen des procyanidines de rafle est d'environ de 10, avec des longueurs de chaîne variant de 5 à 30. Le DP des procyanidines de pellicule de raisin est proche de 30, avec des longueurs de chaîne allant de 3 à 80 (Souquet, Cheynier *et al.*, 1996; Souquet, Labarbe *et al.*, 2000).

#### 1.2.1.1.1.2 Flavonols

Les flavonols sont très largement répandus dans de nombreuses espèces végétales (Macheix, Fleuriet *et al.*, 1990). Ils présentent une fonction cétone en C4 sur le noyau C. Ils sont présents, soit sous forme libre et alors généralement localisés dans les parties externes de la plante, soit dans la majorité des cas, sous forme de glycosides, le glucose, le rhamnose et le

galactose étant les sucres les plus fréquemment rencontrés, alors que pour l'aglycone, ce sont le kaempférol et le quercétol (ou quercétine) (Figure 27).

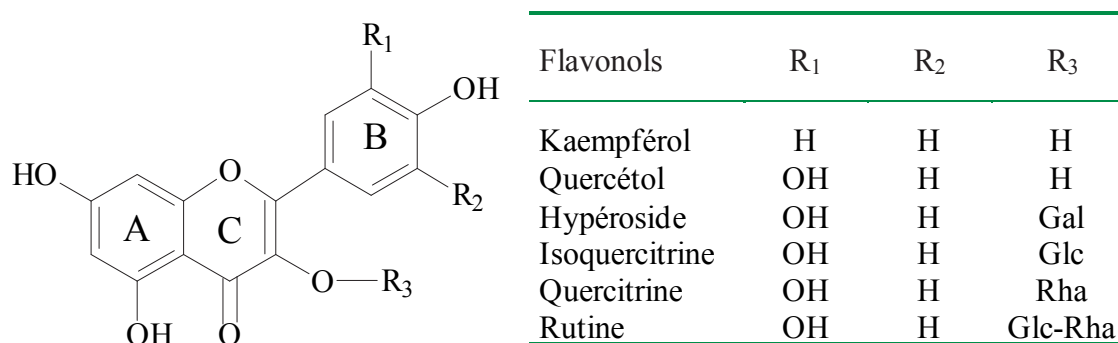


Figure 27 : Structure carbonée des flavonols, et caractérisation des groupements R.

Dans la prune et l'abricot la rutine est majoritaire (Piga, Del Caro *et al.*, 2003; Radi, Mahrouz *et al.*, 2004; ISAFRUIT, 2007). D'autres flavonols spécifiques ont été identifiés dans l'abricot comme le kaempférol-3-rutinoside (Radi, Mahrouz *et al.*, 2004). Dans le raisin, les flavonols sont présent uniquement dans la pellicule, sous forme glycosylée (Ribéreau-Gayon, 1968; Wulf et Nagel, 1980; Cheynier et Rigaud, 1986; Mattivi, Guzzon *et al.*, 2006; Vicens, 2007).

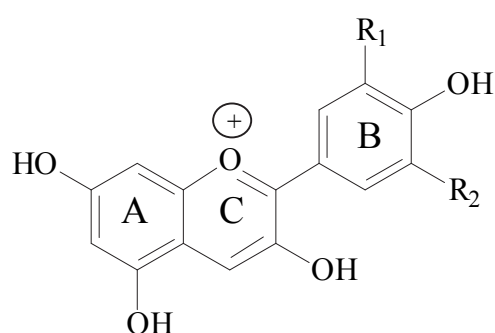
#### 1.2.1.1.1.3 Anthocyanes

Les anthocyanes sont des flavonoïdes colorées (rouge, orange, bleu) très répandues dans le règne végétal, particulièrement dans les vacuoles des cellules épidermiques des pétales de fleurs (Dangles, 1997).

La partie aglycone, constituant le chromophore du pigment, est appelée l'anthocyanidine. Les aglycones (Figure 28) les plus communes sont la cyanidine, la delphinidine, la péonidine, la pétunidine, la malvinidine et la pélargonidine. La structure de base des anthocyanidines est un cation flavylum, cependant elles sont différemment substituées sur les positions 3, 3', 4', 5, 5' et 7 par des groupements hydroxyles, méthyles et glycosyles. Dans la nature, les anthocyanidines sont sous forme glycosides, les sucres les plus fréquents étant le glucose, le rhamnose, le xylose, le galactose, l'arabinose, et le fructose (Macheix, Fleuriet *et al.*, 1990) (Figure 28).



Les anthocyanes peuvent exister sous des formes protonées, déprotonées, ou hydratées, la proportion relative de chacune de ces molécules est fortement dépendante du pH. Le cation flavylum rouge domine dans les pH très acides (pH 1-3) (Macheix, Fleuriet *et al.*, 1990). Le passage d'un milieu acide à un milieu neutre entraîne la conversion du cation flavylum rouge en base quinonique neutre et éventuellement en base quinonique anionique (Dangles, 1997). Ces changements de coloration peuvent être mis à profit pour leur dosage.



Anthocyanidines	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Cyanidine	OH	H
Péonidine	OCH <sub>3</sub>	H
Delphinidine	OH	OH
Pétunidine	OCH <sub>3</sub>	OH
Malvinidine	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Figure 28 : Structure carbonée des anthocyanidines et caractérisation des groupements R.

Dans la prune, les anthocyanes sont présentes dans les variétés dont la peau ou la chair sont pigmentées en rouge. Ce sont des hétérosides de la cyanidine et en particulier les cyanidine-3-O-rutinoside, cyanidine-3-O-glucoside et péonidine-3-O-rutinoside (Raynal, 1989; Ahmed, Shivhare *et al.*, 2004; Del Caro, Piga *et al.*, 2004; Usenik, Kastelec *et al.*, 2008; Nunes, Guyot *et al.*, 2008). Une quatrième anthocyane, la cyanidine-3-O-xyloside, a été détectée en faible proportion (4 à 8% de la teneur en anthocyanes totales) dans des variétés de prunes (Usenik, Stampar *et al.*, 2009).

Dans le raisin, les anthocyanes sont abondantes (surtout dans les raisins rouges) et des hétérosides de cyanidine, de delphinidine, de péonidine, de pétunidine et de malvinidine ont été identifiés (Heredia, Francia-Aricha *et al.*, 1998). De plus, les anthocyanes du raisin peuvent être sous formes acylées, par acylation du glucose en position 6 par de l'acide acétique, l'acide coumarique ou caféique.

Dans l'abricot, l'anthocyane dominante est la cyanidine-3-O-rutinoside (Bureau, Renard *et al.*, 2009), qui représente 75% du total des anthocyanes. Les autres anthocyanes détectées sont la cyanidine-3-O-glucoside et la péonidine-3-O-rutinoside. Suivant les variétés d'abricots, ces anthocyanes sont présentes uniquement dans la peau (*cv A3576*) ou dans la

chair et la peau (*cv A3751*), cependant la couleur orange prédominante de l'épiderme est due à la présence des caroténoïdes (Radi, Mahrouz *et al.*, 2004; Versari, Parpinello *et al.*, 2008).

#### 1.2.1.1.2 Acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques sont caractérisés par un squelette en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> et sont porteurs d'une chaîne latérale insaturée (Figure 29). Le plus fréquent est l'acide caféique, mais l'acide *p*-coumarique ou l'acide férulique sont aussi souvent présents.

Dans les fruits, ces molécules sont le plus souvent rencontrées sous leur forme estérifiée, habituellement par l'acide quinique ou l'acide L-tartrique. Le plus commun dans les fruits (Wang, Wang *et al.*, 2007) est l'acide 5'-cafféoylquinique (5-CQA) ou acide chlorogénique au sens strict. D'autres formes isomérisées de l'acide chlorogénique sont rapportées dans la bibliographie dont l'acide néochlorogénique, forme isomérisée en position 3 (3-CQA), présent entre autres dans la prune (Raynal, 1989; Los, Wilska-Jeszka *et al.*, 2000; Radi, Mahrouz *et al.*, 2004; Nunes, Guyot *et al.*, 2008) et l'abricot (Radi, Mahrouz *et al.*, 2004).

Dans le raisin, l'acide hydroxycinnamique majoritaire est l'acide caftarique, où l'acide caféique est estérifié par l'acide L-tartrique (Boursiquot, Sapis *et al.*, 1986; Cheynier, Trousdale *et al.*, 1986).

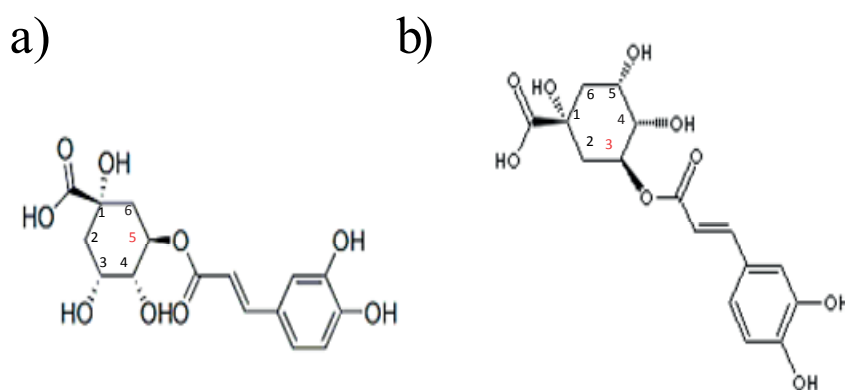


Figure 29 : Structure de deux isomères de l'acide chlorogénique, a) en position 5 ; b) en position 3

Tableau VIII : Gamme de concentrations des principales classes phénoliques de l'abricot, du raisin et de la prune.

	Acide hydroxicinamiques				Flavan-3-ols				Proanthocyanidines	Flavonols		Anthocyanes			
	3CQA	5CQA	Acide Caféique	Acide p coum	CAT	EPI	Dimère B1	Dimère B2	Procyanidines	Rutine	Autres glycosides	Cya-3-glc	Cya-3-rut	Peo-3-rut	Cya-3-xyl
<b>Prune (g.kg<sup>-1</sup>)</b>	0,46-2,69	0,12-0,57		0,015	0,01-0,07	0,00-0,08	0,03-0,21	0,03-0,12	1,5-3,21	0,03-0,12	0,01-0,03	0,4-0,110	0,04-0,33	0,11-0,28	0,006-0,015
Auteurs	<i>Raynal, 1989, Los Wilska-Jeszka et al., 2000 ; Piga, Del Caro et al., 2003 ; Isafruit, 2007 ; Usenik, Kastelec et al., 2008 ; Nunès, Guyot et al., 2008</i>				<i>Los, Wilska-Jeszka et al., 2000 ; Piga, Del Caro et al., 2003 ; Nunès, Guyot et al., 2008</i>		<i>Isafruit, 2007, Nunès, Guyot et al., 2008</i>		<i>Isafruit 2007 ; Nunès, Guyot et al. 2008</i>	<i>Piga, Del Caro et al., 2003 ; Isafruit, 2007 ; Los, Wilska-Jeszka et al., 2000 ; Usenik, Kastelec et al., 2008.</i>		<i>Raynal et al. 1989 ; Los, Wilska-Jeszka et al., 2000 ; Usenik Stampar et al., 2009, Ahmed, Shivhare et al., 2004</i>			
<b>Abricot (g.kg<sup>-1</sup>)</b>	0,01	0,01-0,02	0,011-0,012		0,03-0,04	0,05-0,07		0,01-0,02	0,01-0,02	0,033-0,044		0,01-0,03	0,08-0,23	0,02-0,04	
Auteurs	<i>Dragovic -Uzelac, Levaj et al., 2007</i>				<i>Dragovic -Uzelac, Levaj et al., 2007</i>						<i>Dragovic -Uzelac, Levaj et al., 2007</i>	<i>Bureau, Renard et al., 2008</i>			
<b>Raisin (g.kg<sup>-1</sup>)</b>	0,02-1,05				0,05-0,30				2-8	0,01-0,10	0,43-1,1				
Auteurs	<i>Boursiquot, Sapis et al., 1986 ; Cheynier, Trousdal et al., 1989</i>				<i>Czochanska, Foo et al., 1979 ; Ricardo da silva, Bourzeix et al., 1991.</i>				<i>Prieur, Rigaud et al., 1994 ; Souquet, Cheynier et al., 1996 ; Mane, Souquet et al., 2007 ; Verries, Guiraud et al., 2008</i>	<i>Wulfet Nagel, 1980 ; Cheynier et Rigaud, 1986 ; Mattivi, Guzon et al., 2006 ; Souquet, Veran et al., 2006</i>	<i>Souquet, Veran et al., 2006</i>				

Avec 5 CQA : acide chlorogénique, 3 CQA : acide néochlorogénique, ac. p coum : acide p-coumaroylquinique, CAT : (+)-catéchine, EPI : (-)-épicatéchine, Cya-3-glc : cyanidine-3-O-glucoside, Cya-3-rut : cyanidine-3-O-rutinoside, Péo-3-rut : péonidine-3-O-rutinoside, Cya-3-xyl : cyanidine-3-O-xyloside

Dans les prunes *Prunus domestica*, les acides hydroxycinnamiques représentent de 19% à 43% des polyphénols totaux (Los, Wilska-Jeszka *et al.*, 2000; ISAFRUIT, 2007). L'acide néochlorogénique est largement majoritaire (Raynal, 1989; Los, Wilska-Jeszka *et al.*, 2000), allant jusqu'à 77% des acides hydroxycinnamiques totaux dans la variété *Reine Claude* (Usenik, Kastelec *et al.*, 2008; Nunes, Guyot *et al.*, 2008) et avec des concentrations plus élevées dans la peau (Nunes, Guyot *et al.*, 2008). Cependant, étant donnée la faible proportion de peau dans la prune (variant de 11 à 25% selon les variétés ; Nunes, Guyot *et al.*, 2008), les quantités sont plus importantes dans la chair (Raynal, 1989). L'acide chlorogénique est le second acide hydroxycinnamique majoritaire (Nunes, Guyot *et al.*, 2008). L'acide féruloylquinique (Nunes, Guyot *et al.*, 2008) a aussi été identifié dans la majorité des variétés de prunes. L'acide cafféoylshikimique a été identifié dans la variété mirabelle (Nunes, Guyot *et al.*, 2008).

L'acide t-caféoyltartrique (acide castarique), acide caféique estérifié par l'acide L-tartrique, est l'acide hydroxycinnamique majoritaire de la baie de raisin (Karadeniz, Durst *et al.*, 2000), où sont aussi présents des acides coumaroyltartrique et féruloyltartrique (Vicens, 2007). Ces acides se situent dans les vacuoles des cellules de pulpe et de pellicule (Ribéreau-Gayon, 1968).

L'acide néochlorogénique et l'acide chlorogénique sont les acides hydroxycinnamiques majoritaires dans les abricots (Radi, Mahrouz *et al.*, 2004), où des acides caféique et *p*-coumarique (Dragovic-Uzelac, Delonga *et al.*, 2005) ont aussi été détectés.

#### 1.2.1.2 Impact des technologies

Les procédés de transformation ont un impact sur le contenu en polyphénols. Un tableau récapitulatif (Tableau IX) répertorie les taux de transfert des polyphénols entre les fruits et les jus pour les pommes. En effet, la majorité des résultats publiés sur l'impact des procédés sur le transfert des polyphénols du fruit au jus porte sur ce fruit. Sur les raisins, les travaux publiés incluent en règle générale l'étape de fermentation ou de macération (transfert du fruit au vin) et donc un effet de la teneur en alcool. Van der Sluis, Dekker *et al.* (2004) rapportent ces transferts pour un procédé d'extraction où la pulpe est, soit directement pressée, soit traitée par une enzyme pectolytique (Rapidase BE Super, 200 mg par kg pendant 2h à température ambiante) puis pressée. Le Bourvellec, Le Quere *et al.* (2007) et Guyot, Marnet *et al.* (2003) présentent des extractions de jus de pommes à cidre par pressurage direct,

en présence de NaF pour obtenir des jus protégés de l'oxydation. Markowski, Mieszczakowska *et al.* (2009) donnent ces transferts pour la variété *Idared* avec un prétraitement à 50°C par une enzyme pectolytique Panzym MK.

### 1.2.1.2.1 Rendements

Les composés les plus affectés sont les procyanidines, quels que soit les paramètres de pressurage appliqués. Les rendements calculés varient entre 3 et 32%, avec un rendement d'extraction maximal avec le prétraitement enzymatique à 50°C. Les anthocyanes présentent un rendement très faible, indépendamment de l'enzymation. La phloridzine et les flavonols présentent aussi de faibles rendements, mais ceux-ci peuvent être améliorés avec l'utilisation d'enzymes spécifiques. Les rendements les plus élevés sont obtenus pour les flavan-3-ols monomères et l'acide chlorogénique, avec un rendement augmenté quand le procédé a été réalisé sous NaF.

Tableau IX : Impact de différentes technologies sur le transfert des polyphénols entre la pomme et le jus. Les rendements sont établis en pourcentage en considérant la teneur en composés phénoliques du fruit de 100%.

Procédé	monomères flavan-3-ols		acide chlorogénique	cyanidine galactoside	flavonols	procyanidines	phloridzine
	(+)-catéchine	(-)-épicatéchine					
a			31%	20%	10%	3%	4%
b			66%	30%	12%	9%	9%
c	85%	90%	100%				22%
d	51%		65%			32%	79%
e	69%	44%	80%		48%	31%	79%

*a et b* : Van der Sluis, Dekker *et al.* (2004)

*c* : Le Bourvellec, Le Quere *et al.* (2007)

*d* : Guyot, Marnet *et al.*, (2003)

*e* : Markowski, Mieszczakowska *et al.* (2009)

→*a*, avec enzymation puis, *b* sans enzymation

→*c*, avec NaF pour protéger l'oxydation

→*d*, avec NaF pour protéger de l'oxydation

→*e*, enzymation à 50°C

### 1.2.1.2.2 Mécanismes

#### *1.2.1.2.2.1 Interaction avec la paroi des fruits*

Un phénomène de rétention des procyanidines est observé dans les technologies de fabrication des jus de pomme (van der Sluis, Dekker *et al.*, 2002; Guyot, Marnet *et al.*, 2003; Van Der Sluis, Dekker *et al.*, 2004; Le Bourvellec, Le Quere *et al.*, 2007; le Bourvellec, Guyot *et al.*, 2009; Markowski, Mieszczakowska *et al.*, 2009). En effet, les procyanidines et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans le marc de pomme après extraction et faiblement dans le jus (Van Der Sluis, Dekker *et al.*, 2004). Ceci est dû à l'affinité de ces molécules pour la structure pariétale, et notamment les pectines (le Bourvellec et Renard, 2005), qui conduit à leur rétention par la formation de liaisons hydrogènes et d'interactions hydrophobes entre les tannins et la paroi cellulaire. La rétention augmente avec le degré de polymérisation des tannins (Guyot, Marnet *et al.*, 2003; Le Bourvellec, Le Quere *et al.*, 2007; Bindon, Smith *et al.*, 2010).

Le même phénomène est observé pour le raisin. Diverses études menées indiquent la forte rétention de ces composés par les parois cellulaires de la chair du raisin (47% de rétention pour les procyanidines des pépins et 57% pour celle de la peau) (Bindon, Smith *et al.*, 2010). Les propriétés de rétention sont influencées par la structure de la paroi et la composition des tannins. La maturation des raisins augmentent la capacité de liaison des tannins à la paroi, à cause des changements structuraux de la paroi (déestérification, formation de nouvelles liaisons, dépolymérisation) (Hanlin, Hrmova *et al.*, 2010).

La formation de complexes insolubles entre tannins et polysaccharides pariétaux permettrait un relargage facilité du jus de banane (Kyamuhangire, Krekling *et al.*, 2006).

Les autres composés phénoliques (acides hydroxycinnamiques, catéchines monomères, dihydrochalcones) ne sont pas retenus de façon significative par les parois (Renard, Baron *et al.*, 2001).

#### *1.2.1.2.2.2 Localisation tissulaire*

Les flavonols et les phloridzines sont aussi quasi-exclusivement présent dans le marc (93% et 77% respectivement (Van Der Sluis, Dekker *et al.*, 2004)), ce qui est dû à leurs

localisations cellulaires: épiderme exclusivement pour les flavonols, pépins principalement pour les dihydrochalcones.

### 1.2.1.2.2.3 Oxydation enzymatique

La déstructuration causée par les procédés de transformation du jus permet le contact de la polyphénol oxydase (PPO) avec ses substrats, les polyphénols et l'oxygène de l'air, pouvant entraîner une réaction non désirée de brunissement des jus.

Les acides hydroxycinnamiques, et plus particulièrement les dérivés caféïques, sont les substrats privilégiés de la PPO (Van Der Sluis, Dekker *et al.*, 2004), mais sont présents en forte concentration dans les jus, de 31 à 100% selon les variétés de pommes et le procédé utilisé. Le Bourvellec, Le Quere *et al.* (2007), en présence de NaF protégeant de l'oxydation, observent un transfert quantitatif des acides hydroxycinnamiques du fruit au jus. La teneur la plus faible trouvée dans les jus (31%) est due à des phénomènes d'oxydation durant les prétraitements enzymatiques. Cependant, un mécanisme d'oxydation couplée avec les flavan-3-ols permet la régénération des acides chlorogéniques (Figure 30). Les flavan-3-ols peuvent être aussi substrats de la PPO, mais ils sont consommés et non régénérés par l'oxydation couplée, ce qui explique leurs plus faibles rendements d'extraction. En effet, lors de la fabrication de jus de pomme, la (+)-catéchine est le composé le plus vulnérable et une perte importante (perte de 40% environ) en (+)-catéchine est observée dans le jus brut extrait par presse et cette perte double lors de la macération enzymatique entraînée par un contact prolongé entre l'enzyme, la (+)-catéchine et l'oxygène (Van Der Sluis, Dekker *et al.*, 2004).

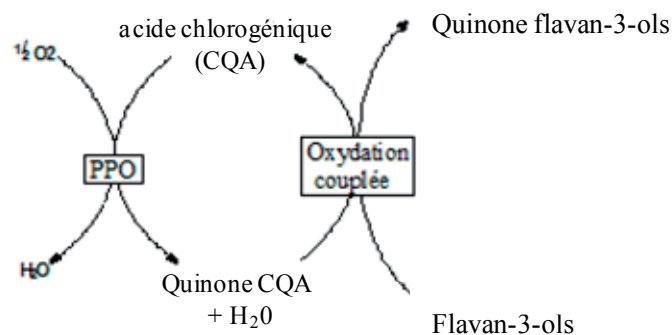


Figure 30 : Mécanisme de l'oxydation couplée.

Les anthocyanes et les flavonols ne sont pas des substrats directs de la PPO (Raynal, 1989; Kim, Jeong *et al.*, 2003), ce sont exclusivement les réactions d'oxydations couplées avec les substrats directs qui sont à l'origine de leur dégradation (Macheix, Fleuriet *et al.*, 2005; Queiroz, Oliveira *et al.*, 2009). Un traitement thermique adéquat permet une inhibition quasi-totale, voir totale de cette enzyme (Vámos-Vigyázó, 1995). Dans la pomme, la PPO subit une inactivation quasi-totale après un traitement thermique à 70°C (2 minutes) en présence d'acide ascorbique (Almeida et Nogueira, 1995).

#### 1.2.1.2.2.4 Dégradation thermique non enzymatique

Les procédés de transformation incluent le plus souvent des traitements thermiques qui selon les composés phénoliques, auront un impact plus ou moins dommageable.

Diverses études montrent la dégradation des anthocyanes et des flavonols pendant les procédés thermiques (Kirca, Ozkan *et al.*, 2006; Will et Dietrich, 2006). Raynal et Moutonnet, (1989) ont démontré que la dégradation des anthocyanes à forte température est dépendante de la présence de quinones. Un haut degré d'acylation des anthocyanes favoriserait la stabilité de ces composés pendant le procédé (Kirca, Ozkan *et al.*, 2006). La dégradation thermique des anthocyanes et la formation de composés intermédiaires dépendent de la sévérité et du temps de chauffage (Patras, Brunton *et al.*, 2010). García-Viguera & Zafrilla, (1994) ont rapporté une perte d'anthocyanes lors de fabrication de confitures variant de 10% à 80% en fonction du temps d'ébullition. Kim, Jeong *et al.* (2003) ont montré une perte de 79% des teneurs en anthocyanes lors des procédés d'extraction, cependant cette dégradation peut être limitée par un faible pH permettant une stabilité plus élevée des anthocyanes. Ahmed, Shivhare *et al.* (2004) ont montré, dans la prune, une dégradation des anthocyanes en fonction de la température selon une cinétique d'ordre 1 avec une relation linéaire entre dégradation d'anthocyanes et perte de la couleur. L'énergie d'activation des anthocyanes et de « la couleur totale » est de 37 et 30 kJ.mol<sup>-1</sup> respectivement, indiquant une sensibilité des anthocyanes plus élevée vis-à-vis du procédé. Dans les mûres, Zheng Wang *et al.* (2007) ont confirmé ces résultats en montrant une dégradation linéaire des anythocyanes dépendante de la durée du procédé et de sa température.



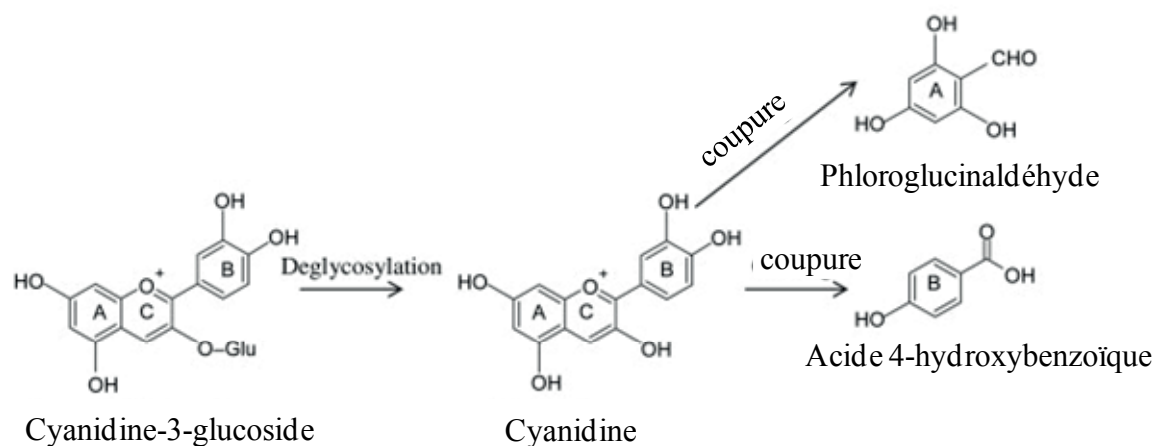


Figure 31 : Mécanisme potentiel de la dégradation thermique de la cyanidine-3-glucoside (Patras, Brunton *et al.*, 2010)

L'hydrolyse de la liaison glycosidique des anthocyanes (déglycosylation) serait la première étape de dégradation des anthocyanes (Kim et Padilla-Zakour, 2004), mais les mécanismes de déstructuration des anthocyanidines restent peu connus et encore hypothétiques (Figure 31) (Patras, Brunton *et al.*, 2010). D'autres travaux de Queiroz, Oliveira *et al.* (2009) ont démontré que 30% des anthocyanes dégradées par la chaleur étaient convertit en anthocyanidines, dans la fabrication de confiture de mures, indiquant une déglycosylation. Cependant, malgré l'effet négatif de la chaleur, l'extraction à froid de pulpe ne permet pas l'extraction de la couleur (Saini, Wani *et al.*, 1996). La dégradation des flavonols augmentent proportionnellement avec la température, cependant l'impact est moins important que pour les anthocyanes (Raynal, 1989).

#### 1.2.1.2.2.5 Impact de la conservation

La conservation des jus de fruits présente aussi un impact sur la teneur en polyphénols. Une étude menée sur les jus de raisin conservés 10 mois à 4°C montre une meilleure conservation de la (+)-catéchine que de la (-)-épicatéchine (Gollucke, de Souza *et al.*, 2008). Lors de la conservation, l'oxygène, la lumière, la température, les enzymes et la présence de sucres impactent la dégradation des anthocyanes. Seulement 50% des anthocyanes sont retrouvées dans les jus de mûres après 60 jours de stockage à 23°C et une perte sensible est aussi observée lors d'un stockage à -20°C (Srivastava, Akoh *et al.*, 2007).

#### *1.2.1.2.2.6 Qualités organoleptiques*

Outre leurs propriétés antioxydantes, les polyphénols présentent des caractéristiques organoleptiques. Pour les consommateurs, les propriétés les plus évidentes attribuées aux polyphénols sont la couleur et l'astringence (Chang, Siddiq *et al.*, 1994). En effet, la corrélation entre la teneur en anthocyanes et la couleur des jus est démontrée dans de nombreuses études dont celle de Ahmed, Shivhare *et al.* (2004).

La perception en bouche de l'astringence est liée à la fois aux propriétés des protéines buccales et celle des molécules phénoliques, qui forment un complexe qui précipite en bouche (Macheix, Fleuriet *et al.*, 2005). L'astringence se traduit par un dessèchement de la bouche et la rugosité des tissus buccaux. Les protéines salivaires, caractérisées par un haut niveau de glycosylation et par leur richesse en proline, présente une structure accessible aux tannins. La précipitation des protéines dépend du nombre de fonctions *o*-diphénols et donc de la masse molaire et de la solubilité du polyphénol (Hagerman, Rice *et al.*, 1998; Haslam, 1998).

La diminution de l'astringence est attribuée à la formation d'un complexe pectine-tannins pendant la maturation du kaki (Taira, Ono *et al.*, 1997). La dégradation et/ou l'oxydation des procyanidines est également à l'origine de la perte d'astringence observée au cours de l'élaboration du cidre (Lea et Arnold, 1978).

Les études en solution modèle (Vidal, Cases *et al.*, 2003), montrent que le degré de polymérisation est une variable importante. L'augmentation du degré de polymérisation est corrélée à une augmentation des qualificatifs « crayeux », « agressifs » et « asséchants ». Certains polysaccharides présents dans le vin (mannoprotéines et arabinogalactane protéines) diminuent la taille des agrégats de tannins mais n'en modifient pas l'astringence (Riou, Vernhet *et al.*, 2002; Vidal, Cases *et al.*, 2003; Vidal, Francis *et al.*, 2004). L'astringence des tannins galloylés est également plus élevée que celle des homologues non galloylés (Vidal, Cases *et al.*, 2003). D'autres composés phénoliques peuvent être responsables de la sensation d'amertume, notamment chez les agrumes où la relation entre la teneur en glycosides de flavanones (naringine) et le degré d'amertume est établie (Gattuso, Barreca *et al.*, 2007).

#### *1.2.2 La paroi cellulaire*

Comme vu dans le chapitre précédent, la présence de paroi est un obstacle évident à l'extraction. La paroi cellulaire est la partie du fruit la plus importante à déstructurer pour permettre l'écoulement du jus. La paroi cellulaire sépare et maintient l'intégrité des cellules

de la pulpe et leur permet de conserver leur rigidité. La paroi permet ainsi aux fruits de résister à la pression interne et aux chocs extérieurs (Grassin et Fauquemberg, 1996).

Les procédés d'extraction des jus vont donc avoir pour but de rompre cette paroi. Une bonne connaissance de la constitution pariétale des fruits est ainsi indispensable afin d'adapter un traitement optimal. Au cours de ce paragraphe, la paroi primaire va être brièvement décrite et nous insisterons plus précisément sur sa composition chimique, essentiellement la composition en pectines, point central du choix des enzymes.

### 1.2.2.1 Structure cytologique

La paroi cellulaire végétale est une structure complexe qui entoure la membrane cytoplasmique des cellules végétales, définissant ainsi leur forme et leur taille. Elle a une épaisseur comprise entre 0,1 et 10  $\mu\text{m}$  et est composée essentiellement de polysaccharides avec de faibles teneurs en glycoprotéines et en composés phénoliques (Baron, 1990). Elle assure la cohésion des cellules permettant la rigidité du végétal mais aussi sa croissance. Elle est également une barrière physique aux micro-organismes. C'est une structure dynamique qui évolue en fonction de la maturité des cellules végétales.

Trois états d'organisation peuvent être distingués (Figure 32) :

- la lamelle moyenne, formation la plus périphérique, essentiellement constituée de pectines, elle assure la cohésion entre cellules adjacentes;
- la paroi primaire est synthétisée par les cellules indifférenciées en phase de croissance. C'est une paroi fine, souple, présentant une faible résistance mécanique et de structure biphasique : elle est constituée d'une trame lâche de microfibrilles de cellulose enchâssée dans une phase amorphe fortement hydratée composée de substances pectiques, d'hémicelluloses et de protéines. Les parois primaires des végétaux sont constituées de 95% de polysaccharides (cellulose, hémicelluloses, pectines) et de 5% de glycoprotéines (Carpita et Gibeaut, 1993) ;
- la paroi secondaire se forme lorsque les cellules ont terminé leur croissance. Elle est caractérisée par la présence de dépôts de cellulose et de lignine qui en font un constituant rigide présentant une forte résistance mécanique.

Dans les fruits et les légumes, la paroi est essentiellement constituée de paroi primaire sauf au niveau des vaisseaux conducteurs. Les teneurs en paroi varient selon le tissu, l'état

physiologique... L'épiderme et les carpelles des pommes comprennent des teneurs en parois plus élevées que celles de la chair (Massiot et Renard, 1997). Renard et Giniès (2009) sur des prunes ont obtenu des rendements en parois variant de 83 to 114 g kg<sup>-1</sup> pour la chair et de 192 à 361 g kg<sup>-1</sup> pour la peau en se référant à la matière sèche.

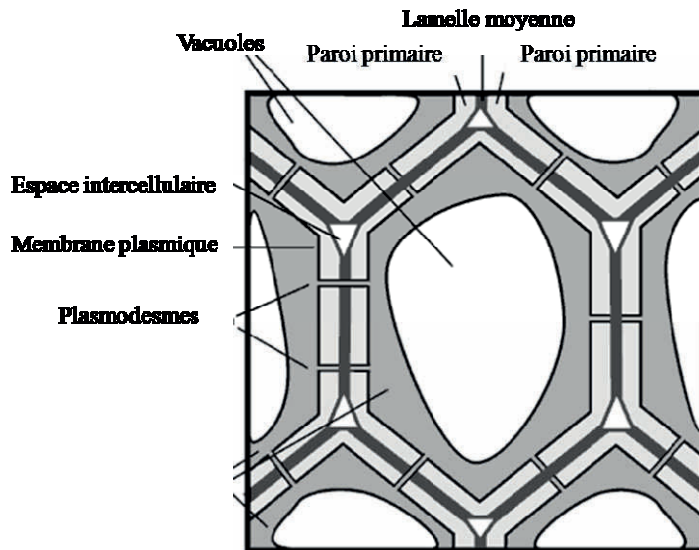


Figure 32 : Structure cytotogique de la paroi végétale

#### 1.2.2.2 Composition chimique

La paroi comprend les pectines, hémicelluloses et cellulose (Figure 33). Les proportions ainsi que la structure fine des constituants pariétaux diffèrent selon la localisation, peau ou chair.

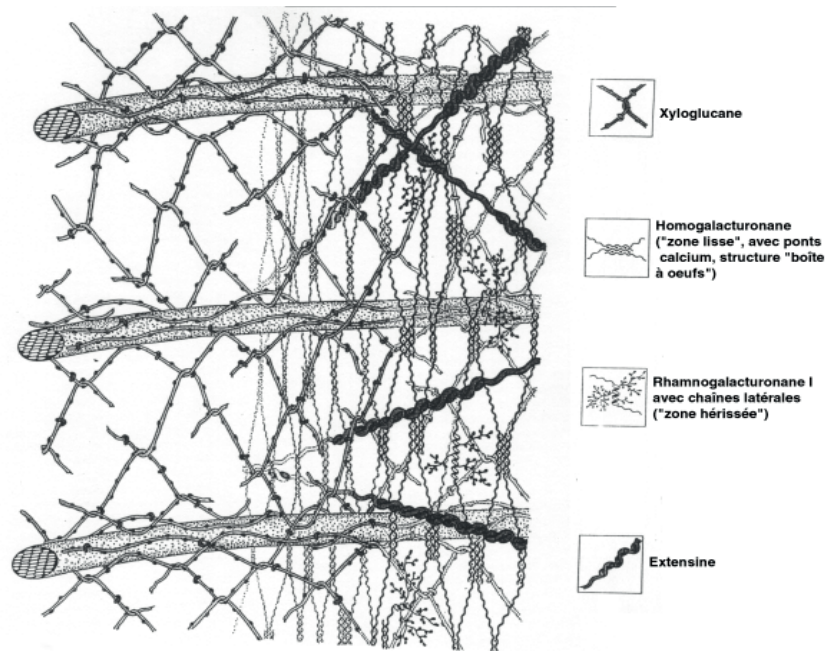


Figure 33: Structure de la paroi primaire des plantes supérieures (Carpita et Gibeaut, 1993). Les microfibrilles de cellulose sont enchâssées dans une matrice amorphe de pectines et d'hémicelluloses. Le troisième domaine est constitué par les protéines structurales telles que l'extensine.

Seuls les constituants solubles, c'est-à-dire essentiellement les pectines, seront entraînés lors de l'extraction des jus de fruits (Kosmala, Milala *et al.*, 2009). Cependant, le fort pouvoir de rétention d'eau par la paroi des fruits impose la désorganisation de ces structures pour parvenir à la libération de l'eau du fruit. La capacité de rétention d'eau peut être mesurée par centrifugation : un échantillon de fibre de masse connue est laissé s'équilibrer dans l'eau puis il est centrifugé à 14000 g pendant 1 heure, le surnageant est éliminé et la teneur en eau est déterminée (Auffret, Ralet *et al.*, 1994).

Kosmala, Milala *et al.* (2009) ont montré une capacité de rétention de l'eau dans la cerise de la variété kelleriis, de 17,9 g.g<sup>-1</sup> qui chute de 6,2 à 7,1 g.g<sup>-1</sup> après traitement. La rétention d'eau par le broyat du fruit est un facteur influençant les rendements d'extraction en jus.

### 1.2.2.3 Les polysaccharides pariétaux

Les polysaccharides sont des homo ou des hétéropolymères formés par l'enchaînement linéaire ou ramifiés d'hexoses, de pentoses, ou d'acides uroniques.

#### 1.2.2.3.1 Cellulose

La cellulose est l'élément de base de la structure de la paroi et représente le biopolymère le plus abondant et le plus synthétisé sur terre. La cellulose est un polysaccharide non ramifié, composé de résidus  $\beta$ -D-glucose liés en (1 $\rightarrow$ 4). Ce polysaccharide est organisé en chaînes étendues où le cellobiose, constitué de deux résidus  $\beta$ -D-glucose successifs orientés l'un par rapport à l'autre selon une rotation de 180° autour de l'axe de la molécule, constitue l'unité structurale répétitive (Brown, Saxena *et al.*, 1996).

Dans les végétaux, la cellulose n'est pas sous forme de chaîne simple, mais existe sous forme d'agrégats de plusieurs chaînes orientées de façon parallèle – les microfibrilles – qui sont l'unité structurale fondamentale de la cellulose (Brown, Saxena *et al.*, 1996). Les microfibrilles forment une structure linéaire, mince mais de faible porosité (Levis et Deasy, 2001). Les microfibrilles ont des diamètres qui varient de 2 à 15 nm et sont séparées les unes des autres de 20 à 40 nm (McCann, Wells *et al.*, 1990). La longueur de la chaîne (le degré de polymérisation, DP) varie de quelques centaines à quelques dizaines de milliers selon les sources, les modes d'isolement et les méthodes de détermination du DP.

Les chaînes cellulosiques rejettent les groupements OH d'un côté de la surface lui conférant un caractère hydrophile et les groupements CH de l'autre côté conférant ainsi un caractère hydrophobe (Mazeau et Vergelati, 2002). L'implication de pratiquement tous les groupes hydroxyles de la cellulose dans des liaisons hydrogènes intra- et intermoléculaires conduit à une structure semi-cristalline insoluble dans l'eau.

#### 1.2.2.3.2 Hémicelluloses

Joseleau (1980) désigne par hémicelluloses l'ensemble des polysaccharides autres que la cellulose et les substances pectiques présents dans la paroi cellulaire des végétaux.

Les hémicelluloses forment donc un groupe hétérogène de polysaccharides, caractérisées par leur capacité à se lier aux microfibrilles de cellulose tout en limitant toute agrégation ultérieure. Ces polymères jouent un rôle fondamental dans le maintien d'une architecture pariétale organisée.

Les différents types d'hémicelluloses sont les hétéroxylanes, les galactoglucomananes et les xyloglucanes. Les xyloglucanes (XG) (Figure 34) sont prédominants dans les parois primaires de dicotylédones. Elles peuvent représenter jusqu'à 20% du poids sec de la paroi primaire. Leur structure de base consiste en un squelette de résidus  $\beta$ -D-glucose liés en (1 $\rightarrow$ 4) sur lequel sont branchées au niveau du C-6 des unités d' $\alpha$ -D-xylose. Ils sont caractérisés par la présence d'une unité répétitive composée de quatre unités  $\beta$ -D-glucose dont trois portent des chaînes latérales (Figure 34). Les résidus d' $\alpha$ -D-xylose peuvent également être substitués pour former des chaînes latérales oligomériques contenant un résidu  $\alpha$ -D-xylose, un résidu  $\beta$ -D-galactose, un résidu  $\alpha$ -L-fucose ou un résidu  $\alpha$ -L-arabinose (Hayashi, 1989).

La structure et la distribution moléculaire des chaînes latérales varient en fonction du tissu et de l'espèce. La structure des XG constituée de différents motifs oligosaccharidiques, est définie selon la nomenclature mise en place par Fry, York *et al.* (1993).

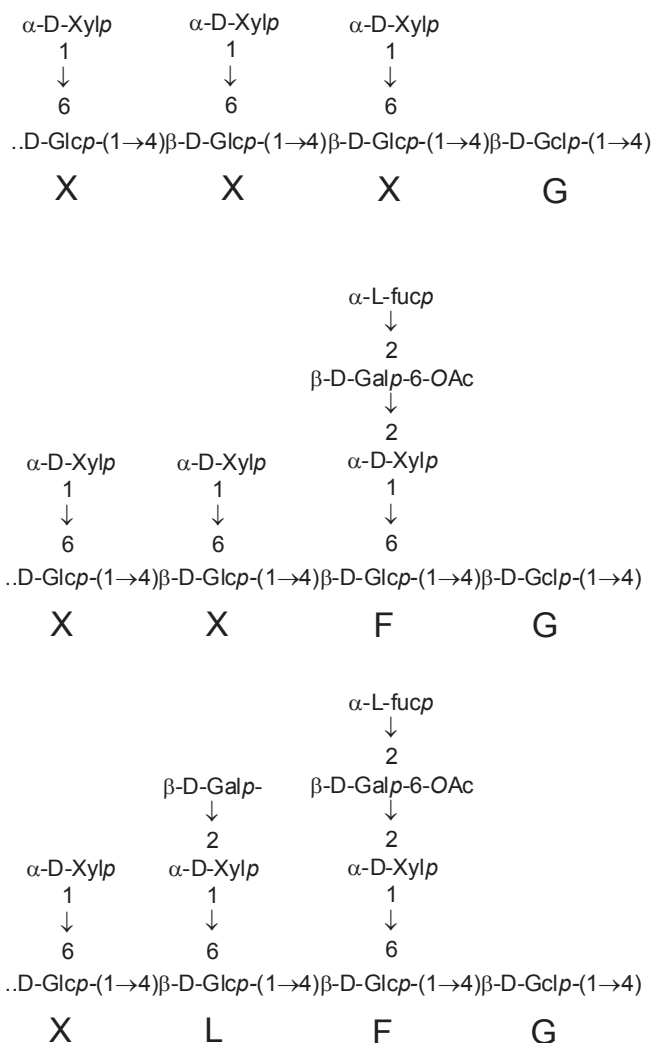


Figure 34 : Structures typiques des sous-unités constitutives des xyloglucanes selon la nomenclature de Fry, York *et al.* (1993).

### 1.2.2.3.3 Pectines

Les pectines représentent un des constituants majeurs de la paroi végétale, lamelle moyenne et paroi primaire. Au cours du pressurage, à cause de leur solubilité, elles sont partiellement entraînées dans les jus en quantité variable selon l'état de maturité du fruit. En effet, la teneur en pectines solubles augmente au cours de la maturation, ce qui s'accompagne d'une dépolymérisation (Femenia, Sanchez *et al.*, 1998; Duan, Cheng *et al.*, 2008)

Les pectines sont un ensemble de polysaccharides plus ou moins ramifiés caractérisés par un squelette constitué de résidus d'acide  $\alpha\text{-D-galacturonique}$  avec des faibles proportions de  $\alpha\text{-L-rhamnose}$  (Figure 35). Les oses neutres sont concentrés dans des blocs hautement ramifiés où la chaîne principale est riche en  $\alpha\text{-L-rhamnose}$  (Voragen, Thibault *et al.*, 1995;



Ridley, O'Neill *et al.*, 2001). Cette structure forme les régions dites « hérissées. », qui alternent avec des régions non substituées dites « zones lisses » formées exclusivement de résidus d'acide  $\alpha$ -D-galacturonique. La chaîne principale est donc soit homogalacturonique soit rhamnogalacturonique avec des ramifications plus ou moins complexes.

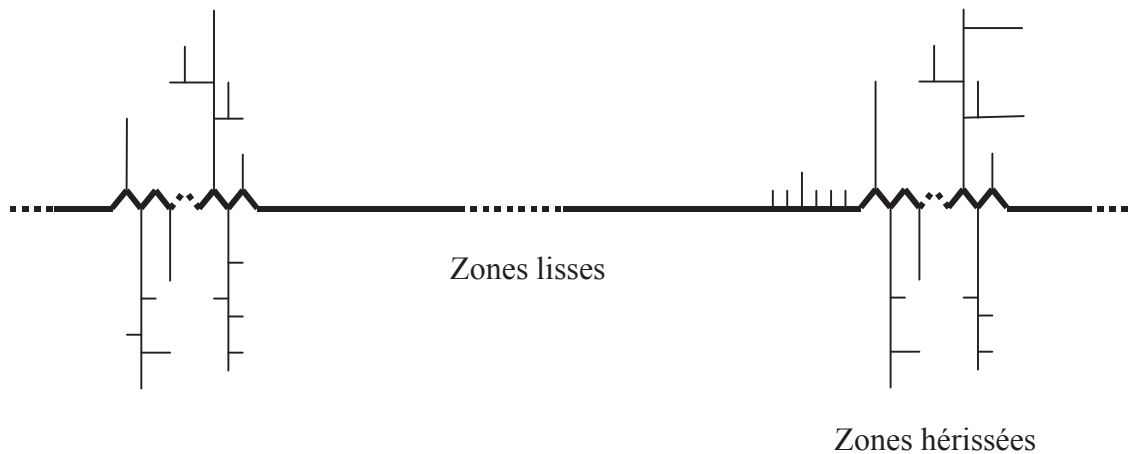


Figure 35 : Représentation schématique de la structure des pectines (d'après Voragen, Pilnik *et al.*, 1995).

#### 1.2.2.3.3.1 Région homogalacturonique

Les homogalacturonanes (Figure 36) sont constitués exclusivement de résidus d'acide  $\alpha$ -D-galacturonique liés en (1→4) (de Vries, Rombouts *et al.*, 1982). Le degré de polymérisation moyen des chaînes d'homogalacturonanes est estimé entre 70 et 100 résidus d'acide  $\alpha$ -D-galacturonique pour des pectines isolées de pomme, betterave sucrière et citron, c'est-à-dire des masses molaires de l'ordre de 20 kDa (Thibault, Renard *et al.*, 1993; Oosterveld, Beldman *et al.*, 2000).

L'un des paramètres important des homogalacturonanes est l'estérification des résidus d'acide  $\alpha$ -D-galacturonique par du méthanol et/ou de l'acide acétique. Les fonctions carboxyliques en C-6 des résidus d'acide  $\alpha$ -D-galacturonique peuvent être sous forme acide, estérifiées par du méthanol ou neutralisées par des cations ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ). L'acide acétique estérifie les fonctions alcools secondaires des C-2 et C-3 des acides galacturoniques.

Le degré de méthylation (DM) est défini comme le pourcentage de fonctions carboxyliques méthylées. Les pectines sont dites hautement méthylées lorsque le DM est supérieur ou égal à 50, si le DM est inférieure alors elles sont faiblement méthylées.

Les enzymes utilisées dans la fabrication du jus de fruits sont spécifiques de certaines structures typiques des pectines. Une utilisation mal appropriée, et une connaissance insuffisante des caractéristiques des fruits, entraîneront une perte de rendement en jus. Les polygalacturonases (PG) dépolymérisent les pectines en hydrolysant la liaison  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 4 entre deux acides uroniques non estérifiés. Elles seront préférentiellement utilisées avec des fruits faiblement méthylés ou après action de la pectine méthyl estérase (PME) permettant la déméthylation des pectines. Les pectine lyases (PL) et pectate lyases (PAL) ont une action dépolymérisante, mais agissent par rupture de la liaison glycosidique sans ajout d'eau. Les PL sont spécifiques des pectines hautement méthylées et leur activité décroît avec le degré de méthylation: elles sont généralement utilisées pour des pectines hautement méthylées et sans PME.

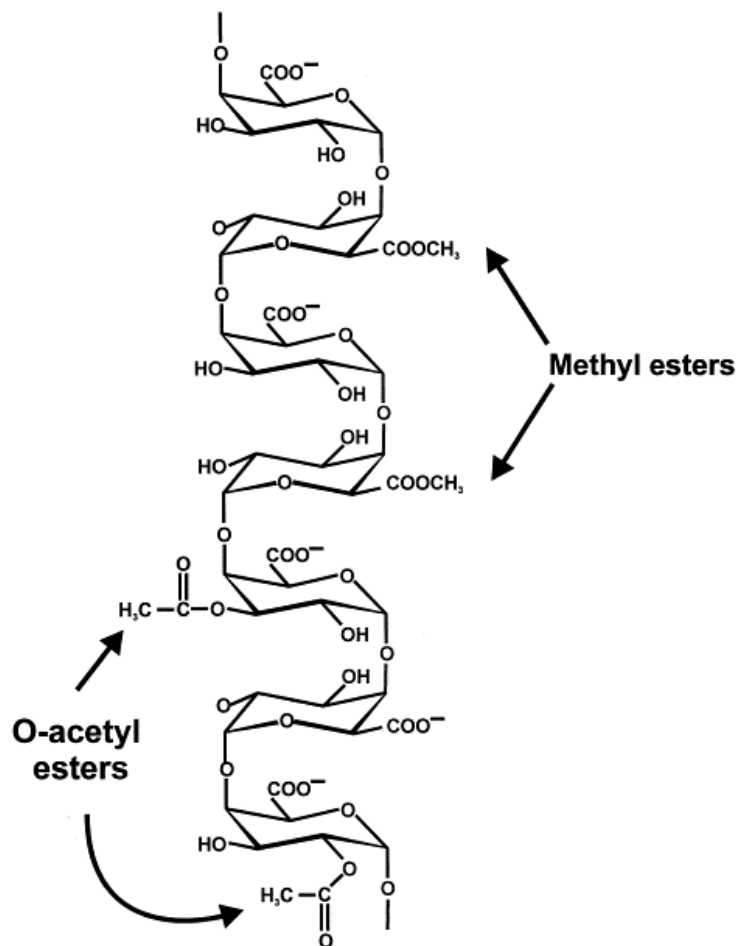


Figure 36 : Structure primaire de l'homogalacturonane (Ridley, O'Neill *et al.*, 2001).

### 1.2.2.3.3.2 Régions rhamnogalacturoniques

#### 1.2.2.3.3.2.1 Rhamnogalacturonane I

Les rhamnogalacturonanes I (RG I) comportent un squelette présentant alternativement des résidus d'acide  $\alpha$ -D-galacturonique liés en (1→4) et des résidus d' $\alpha$ -L-rhamnose liés en (1→2) (Lau, McNeil *et al.*, 1985). Ils sont généralement hautement substitués par des chaînes latérales riches en oses neutres (Figure 37).

Les résidus d'acide  $\alpha$ -D-galacturonique sont généralement non substitués (Ridley, O'Neill *et al.*, 2001). En revanche, 20 à 80% des résidus d' $\alpha$ -L-rhamnose sont substitués par des chaînes latérales neutres ou acides (O'Neill, Albersheim *et al.*, 1990). Les chaînes majoritaires sont constituées de résidus de  $\beta$ -D-galactose et de résidus de  $\alpha$ -L-arabinose (de Vries, Rombouts *et al.*, 1982; Thibault, Renard *et al.*, 1993).

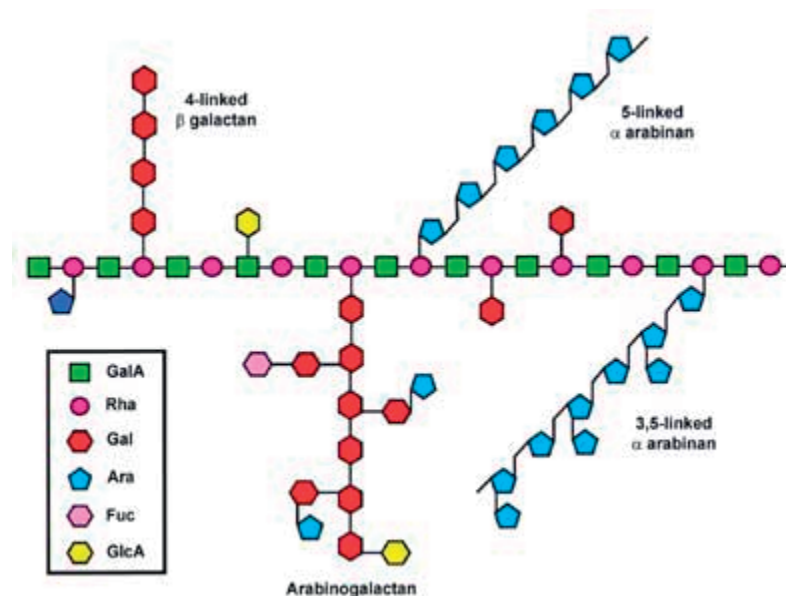


Figure 37: Modèle de structure du rhamnogalacturonane I. Le squelette est constitué de l'unité répétitive  $[\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow ]$  (url : [www.ccruc.uga.edu](http://www.ccruc.uga.edu)).

#### 1.2.2.3.3.2.2 Rhamnogalacturonane II

Le rhamnogalacturonane II (RG II), polysaccharide acide complexe, de faible masse moléculaire, est présent dans la paroi primaire de toute cellule végétale d'où il peut être isolé par traitement enzymatique (Darvill, Mc Neil *et al.*, 1978).



Williams *et al.*, 1997). La présence de RG II a aussi été révélée dans les jus d'agave liquéfiés (Ortiz-Basurto, Williams *et al.*, 2009). Le RG II influe sur les qualités organoleptiques en diminuant l'astringence dans un modèle de vin en solution (Vidal, Doco *et al.*, 2000), et permettrait une meilleure stabilité de l'acide tartrique dans le vin (Gerbaud, Gabas *et al.*, 1996).

### 1.2.3 Protéines

Les propriétés fonctionnelles des protéines ayant un impact au cours de la transformation des fruits seront développées dans ce chapitre. Une protéine soumise à un traitement physique ou thermique se dénature. La dénaturation de cette dernière aura un impact sur la solubilité, la viscosité, les propriétés moussantes, paramètres qui sont essentielles de prendre en compte pour la production de jus de fruits.

#### 1.2.3.1 Teneur dans les fruits et jus de fruits

La teneur moyenne en protéines donnée par la Table de Composition des Aliments (Souci, Fachmann *et al.*, 2000) est de 9 ; 6,8 et 6 g.kg<sup>-1</sup> pour les abricots *Prunus armeniaca L.*, les raisins *Vitis vinifera L.* et les prunes *Prunus domestica L.* respectivement. Ces valeurs diminuent à 2,1 g.kg<sup>-1</sup> dans les jus de raisin, et 4 g.kg<sup>-1</sup> pour les nectars d'abricots (Souci, Fachmann *et al.*, 2000). Plusieurs raisons peuvent expliquer ces diminutions, dont les conditions d'extraction, l'insolubilité prédominante des protéines de fruits qui se retrouve ainsi dans le marc majoritairement (Tressler et Joslyn, 1954), la formation d'agrégats non solubles à hautes températures... Les jus de fruits présentent de faibles teneurs en acides aminés et d'une façon générale en matière azotée, cependant leur dénaturation a un impact dans les procédés de transformation. Après conditionnement, l'évaluation globale de l'azote aminé après 6 mois de stockage reste constante, ce qui prouve une stabilité des protéines (Congress, 1968).

#### 1.2.3.2 Conséquences technologiques

La dénaturation des protéines affecte les structures secondaire, tertiaire et quaternaire (Figure 39). Les traitements physiques pouvant induire une dénaturation sont le chauffage, le

refroidissement, les traitements mécaniques, la pression hydrostatique et les radiations ionisantes. Les interactions avec certains produits chimiques peuvent également dénaturer les protéines : acides et bases, métaux et hautes concentrations salines, solvants organiques, etc.

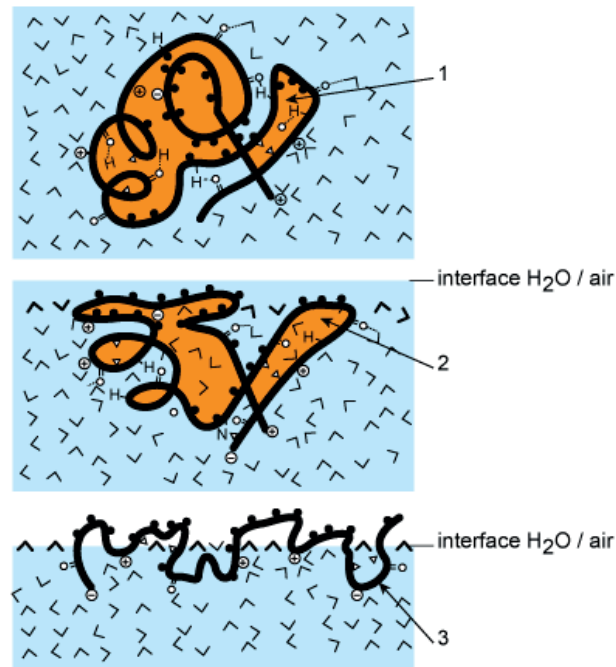


Figure 39: Dénaturation thermique d'une protéine globulaire.

1 : protéine initiale ; 2- protéine partiellement dépliée ; 3-protéine dénaturée

La dénaturation des protéines est un processus complexe qui induit des changements de conformation (structures secondaire, tertiaire et quaternaire) importants et irréversibles. Les effets de la dénaturation sont variés (Figure 40) :

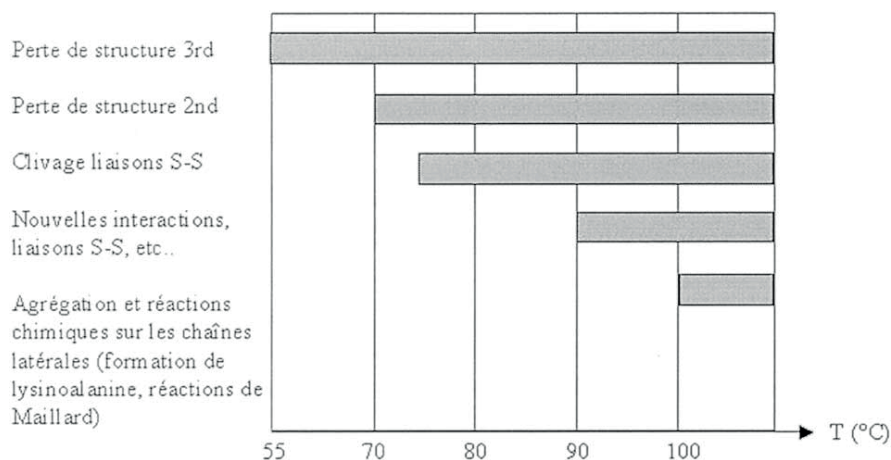


Figure 40 : Principales conséquences d'une augmentation de température (T, °C) sur la structure secondaire, tertiaire et quaternaire d'une protéine globulaire (Sanchez et Fremont, 2003)

#### ✓ Inactivation des enzymes endogènes et exogènes

La polyphenol oxydase (PPO) a un impact négatif lors de la fabrication des jus car elle est responsable du brunissement enzymatique. Sa dénaturation permet une meilleure conservation des qualités organoleptiques des jus de fruits. Dans la poire, la PPO est inhibée complètement à 80°C pendant 2 min (Almeida et Nogueira, 1995), et à 100°C pendant 3 min ou à 94°C pendant 5 min pour la pomme de terre (Vámos-Vigyázó, 1995). Les enzymes exogènes sont aussi inactivées lors des procédés de pasteurisation; si le traitement thermique est insuffisant, elles pourront induire la déstabilisation des jus lors de leur conservation (Tiwari, Muthukumarappan *et al.*, 2009).

#### ✓ Trouble et interaction avec les polyphénols

Les protéines riches en acide aminé proline peuvent se lier aux polyphénols et former des agrégats insolubles (Charlton, Baxter *et al.*, 2002; Le Bourvellec et Renard, 2010; Yuksel, Avci *et al.*, 2010). La conformation ouverte et la flexibilité des protéines riches en proline autorisent la formation d'interactions hydrophobes et des liaisons hydrogènes avec les polyphénols. La structure spatiale de cet acide aminé, par la formation de coudes dans la chaîne polypeptidique, favorise l'accès des polyphénols (Luck, Liao *et al.*, 1994; Sarni-Manchado, Cheynier *et al.*, 1999). Cependant, l'affinité des polyphénols pour les protéines diminue avec l'augmentation de température (Charlton, Baxter *et al.*, 2002).

Cette propriété des protéines de se lier aux polyphénols est nécessaire pour la clarification des jus. Dans les jus pauvres en protéines, la floculation est favorisée par l'adjonction de protéines exogènes, le plus souvent de la gélatine, mais des tests préalables doivent être réalisés afin de ne pas être en excès (Baron, 2002). Cet excès peut avoir l'effet inverse de celui désiré et provoquer l'apparition d'un trouble par une réaction des protéines avec les polyphénols (Le Bourvellec et Renard, 2010) au cours du stockage des jus de fruits. L'excès de protéines peut être corrigé par collage à la bentonite (silicate d'alumine hydraté). Will, Schulz *et al.* (2002) utilisent la gélatine à 100 g.hL<sup>-1</sup> pour la clarification de jus de pomme.

#### ✓ Perte de solubilité des protéines

La solubilité des protéines est fonction du pH, de la température du milieu et de la force ionique. Elle diminue lors des traitements thermiques. Cette perte de solubilité a des conséquences majeures sur les propriétés moussantes des protéines. Sous l'action de différents procédés, battage, chauffage..., les molécules de protéines se dénaturent, se déroulent et

emprisonnent de l'air. Cette opération conduit à la formation d'une mousse (dispersion d'un gaz dans un liquide) et au foisonnement de la solution (augmentation du volume par incorporation de gaz) (Nicorescu, Riaublanc *et al.*, 2009)).



## CHAPITRE IV

### LA PRUNE COMME FRUIT MODELE

La majorité de nos travaux ayant été effectués en utilisant des prunes, celles-ci vont être décrites plus en détail.

La décision de prendre comme modèle principal les prunes *Prunus domestica* (L.) des variétés *Président* et *Najbolia* répond à plusieurs raisons scientifiques et logistiques liées à la réalisation de ce projet. L'un de ces facteurs est l'implication de notre équipe au sein du projet ISAFRUIT: « Augmentation de la consommation des fruits à travers une approche transdisciplinaire donnant une production de hautes qualités, écologiques et durables ». Le projet ISAFRUIT est un projet européen ayant débuté le 01-01-2006 pour une durée de 60 mois. La thématique prioritaire en est la qualité et la sécurité nutritionnelle. Il est divisé en 7 axes de travail, dont l'axe 3 dans lequel est impliquée notre équipe. Dans ce projet, nous collaborons avec le RIPF (Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, Pologne), qui travaille notamment à l'optimisation de la production de jus et nectar de fruits rouges (dont la prune). Les prunes sont en effet, des fruits difficiles à presser avec les technologies classiques. Cet institut possède par conséquent le matériel nécessaire à la production de jus de fruits à une échelle de laboratoire et à une échelle semi-industrielle. Le RIPF possède en plus un verger expérimental, permettant un suivi plus rigoureux des fruits et des conditions de récolte.

Cette collaboration a permis des facilités d'échange inter-laboratoire qui ont été très appréciables dans la réalisation d'un objectif de mon projet de thèse. Ainsi, la récolte des fruits cv *Najbolia* a pu être assurée en août 2008 par le RIPF et j'ai pu réaliser la fabrication de jus de prune à une échelle semi-industrielle en septembre 2008.

Les caractéristiques intrinsèques des prunes utilisées, et notamment la possibilité d'avoir des fruits ayant une chair jaune et une peau rouge, permettent de visualiser l'extraction des anthocyanes de l'épiderme. Une étude bibliographique détaillée nous a permis de vérifier que la prune fait partie des fruits ayant des teneurs élevées en antioxydants (Raynal, 1989; Wang, Cao *et al.*, 1996; Los, Wilska-Jeszka *et al.*, 2000; Kim, Jeong *et al.*, 2003; Nunes, Guyot *et al.*, 2008), conférant un potentiel santé reconnu (Kim, Jeong *et al.*, 2003). Elles contribuent favorablement à l'alimentation humaine à cause de leur richesse en fibre et antioxydants. La prune présente une capacité antioxydante quatre fois supérieure à celle de la pomme (Wang, Cao *et al.*, 1996). Il existe une corrélation positive entre le contenu phénolique des fruits et ses capacités antioxydantes (Cevallos-Casals, Byrne *et al.*, 2006). C'est donc un fruit à haute valeur nutritionnelle présentant un fort intérêt dans la consommation en frais mais aussi dans la transformation agro-alimentaire.

## 1 Prune: historique, description, production

La prune fait partie de la famille des Rosacées, du genre *Prunus* et de la section euprunus qui comprend toutes les espèces à l'origine des pruniers cultivés (Anonyme, 2004). La prune est le fruit du prunier, arbre originaire de Chine. C'est un fruit à noyau (sur le plan botanique, c'est une drupe). Les premières variétés de prunes avaient une saveur aigre. A l'époque des Romains, plus de 300 variétés existaient. La prune européenne fut apportée par les colons en Amérique au début du XVII<sup>ème</sup> siècle. Il existe actuellement plus de 2000 variétés de prunes.

Le prunier pousse sous les climats chauds et tempérés. Les feuilles sont généralement ovales, les fleurs sont blanches et apparaissent au printemps avant les feuilles. La chair de la prune prend des teintes de rouge, de jaune, d'orange ou de jaune verdâtre. Une prune à la chair jaunie est moins savoureuse car elle a souffert du froid (Chilling injury) (Crisosto, Garner *et al.*, 2004). Les différentes espèces de prunes répertoriées sont (Anonyme, 2004) :

- La prune européenne (*Prunus domestica L.*), nommée aussi prune commune, est de forme ovale, de couleur foncée et de taille moyenne. Le parenchyme ferme est de couleur jaune ou jaune verdâtre. La chair représente de 60 à 80% du poids total du fruit, le noyau entre 9 et 12% et la peau entre 11 et 25%

suivant les variétés (Nunes, Guyot *et al.*, 2008). Les cellules de la chair du fruit sont plus grandes avec une paroi cytoplasmique plus fine que celle de l'épiderme. L'épaisseur de la paroi a une influence sur l'extraction des micronutriments de la peau. *P. domestica* rassemble la quasi-totalité des variétés de prunes européennes dont les cultivars *Président* (Figure 41) et *Najbolia*.

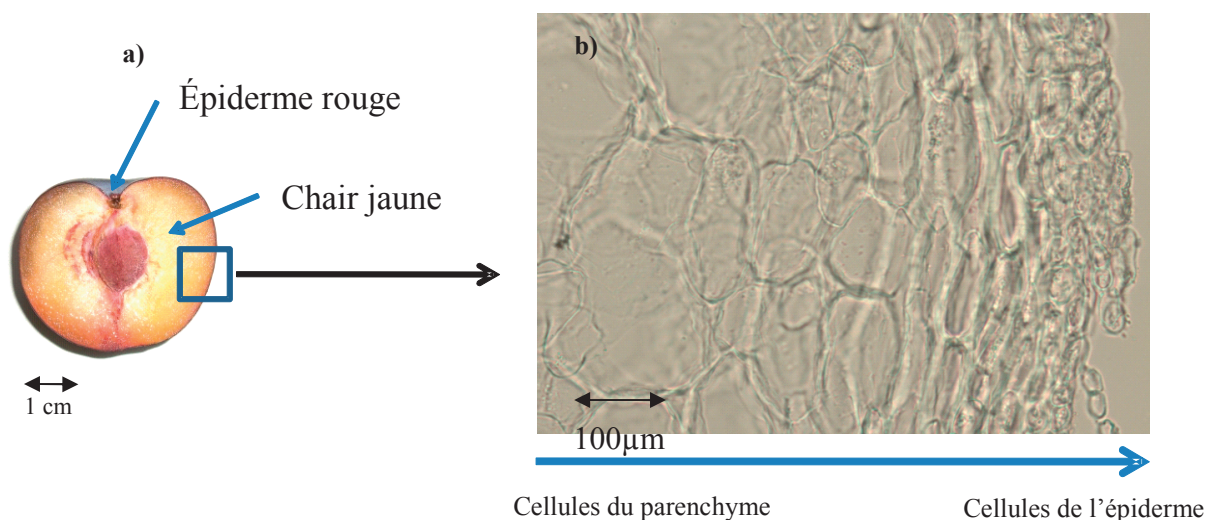


Figure 41 : a) Prune cv. Président coupée en 2. b) Photo par microscope x20 de cellules de parenchyme et d'épiderme de la prune cv. Président. Photo M. El Maataoui.

- La prune japonaise (*Prunus salicina*) est de couleur jaune, cramoisie, pourpre ou verdâtre et de taille variable.
- La prune américaine forme un groupe qui comprend plusieurs espèces comme la *Prunus americana*, résistante au froid dont la peau et la chair sont de couleur ambre.
- La prune Damson (*Prunus insititia*), dont la peau est en général bleue et le goût plutôt âpre et acide. Ce groupe inclut entre autres les mirabelles.
- La prune ornementale (*Prunus cerasifera*) est un fruit rouge. La chair est moelleuse avec une agréable acidité.
- La prune sauvage (*Prunus spinosa*, *Prunus nigra*) est petite, globulaire, bleu-noir et acide
- Les hybrides commerciaux

Les plus grands pays producteurs de prunes sont la Russie, la Chine, les Etats-Unis. En Europe, les chiffres de production moyenne sur 2001-2005 placent la Roumanie au premier rang, suivi par la France et la Pologne au 6<sup>ème</sup> rang. En France (données 2006), la superficie agricole consacrée aux prunes, dont les prunes de table, est de 6 796 ha ce qui représente 79 232 t. La consommation moyenne de prune par an et par ménage en France est de 1,1 kg (contre 16,9 kg pour la pomme) (Interprofession des fruits et légumes frais (INTERFEL), 2006). La consommation de prunes peut se faire sous forme de fruits déshydratés (pruneaux), de confiture, de compote, de jus de fruit, de fruits confits. Dans les pays développés, 50% de la production de prunes subit un procédé industriel, essentiellement le séchage (Chang, Siddiq *et al.*, 1994). En effet, la prune majoritairement cultivée en France est la prune d'Ente, utilisé pour sa transformation en pruneaux. Les jus de prunes sont particulièrement appréciés en Allemagne et en Europe de l'Est, notamment la Pologne. Ces procédés de transformation entraînent une dénaturation du fruit initial aussi bien dans la forme que dans la constitution (Raynal, 1989; Kim, Jeong *et al.*, 2003).

## **2 La production de jus de prune**

Dans le chapitre précédent, il a été signalé l'importance de la composition pariétale dans l'extraction de jus. Dans cette partie, nous reviendrons spécifiquement sur la composition pariétale de la prune, afin de déterminer les caractéristiques intrinsèques de ce fruit qui influenceront d'une part sur le choix des enzymes et d'autre part, sur le rendement en jus.

### **2.1 Paroi**

Selon les travaux de Renard et Giniès, (2009) sur cinq variétés de prunes (Golden Japon (GJ), Prune Rouge (PR), Mirabelle (MI), Quesche (QU) et Reine Claude (RC), les rendements de paroi établis par la technique du Matériel Insoluble à l'Alcool (MIA), varient de 83 à 114 g.kg<sup>-1</sup> dans la matière sèche de la chair, et de 192 à 361 g.kg<sup>-1</sup> dans celle de la peau. La peau présente donc une densité pariétale plus importante. Ces teneurs rapportées dans le fruit sont comprises entre 10 et 20 g.kg<sup>-1</sup> en accord avec les résultats de Raynal,

Mourgues *et al.* (1991) sur la prune d'Ente. Des rendements plus élevés sont rapportés par Nunès, Saraiva *et al.* (2008) avec 33 g.kg<sup>-1</sup> de MIA dans le fruit. Les principaux sucres sont l'acide uronique (224-332 mg.g<sup>-1</sup> MIA), le glucose cellulosique (139-170 mg.g<sup>-1</sup> de MIA), le galactose (gal) et l'arabinose (ara). Ce résultat indique une teneur plus élevée en pectines qu'en cellulose. Ce classement des polysaccharides est aussi retrouvé dans les variétés analysées par Nunès, Saraiva *et al.* (2008). Le ratio gal/ara varie entre les variétés et est plus élevé dans la peau que dans la chair. Les pectines des cinq variétés testées de prunes sont hautement méthylées avec un DM de 62-84 (Renard et Ginies, 2009). Le DM des pectines rapporté par Raynal, Mourguès *et al.* (1991) et Nunès, Saraiva *et al.* (2008) est compris entre 35 et 57.

La cellulose représente 10-11% des MIA de la chair et 7-9% de la peau (Renard et Ginies, 2009).

La principale hémicellulose est le xyloglucane (Nunes, Santos *et al.*, 2008; Renard et Ginies, 2009) et plus spécifiquement un fucogalactoxyloglucane (Ito et Kato, 2002). Les xyloglucanes représentent 3 à 5% des MIA de la chair et de 3 à 7% des MIA de la peau.

La prune présente une teneur élevée en pectines fortement méthylées : avec des régions hérissées riche en arabinose et galactose. En technologie des jus de fruits, la forte teneur en pectine de ce fruit et son haut DM, entraînent des difficultés de pressurage dans des conditions classiques (Chang, Siddiq *et al.*, 1994). Ainsi, le « cocktail enzymatique » utilisé pour le pressurage, devra contenir de la PME, pour favoriser dans un second temps l'activité dépolymérisante de la polygalacturonane (PG).

## **2.2 Procédé**

Les différents travaux publiés montrent les difficultés à presser les prunes, et la nécessité de prétraitement avant pressurage.

### **2.2.1 Jus clarifiés**

Chang, Siddiq *et al.* (1994) ont utilisé des prunes décongelées 8-12 h à 4°C, déstructurées, traitées avec 0,2% d'enzymes Clarex L pendant 3 h. Après le pressurage, de la

bentonite (silicate d'alumine hydraté) et de la gélatine sont utilisées afin de clarifier les jus. Les jus sont laissés une nuit à 2-3°C avant la filtration, puis pasteurisés à 85°C pendant 90 s. Les rendements varient de 79 à 85% suivant le cultivar alors que, sans prétraitement enzymatique, les rendements varient de 25 à 60%. Le traitement enzymatique permet une réduction de 54% de la teneur en substances pectiques par rapport au contrôle.

### 2.2.2 Jus troubles

Siddiq, Arnold *et al.* (1994) ont utilisé des prunes décongelées une nuit à 5°C, chauffées à 65°C et déstructurées. La pulpe est refroidie à 49°C et une pectinase (1g de pectinase pour 4,5 kg de pulpe) est ajoutée. Après 6h de macération à température ambiante, la pulpe est pressée. Le rendement obtenu est de 60%.

### 2.2.3 Jus liquéfiés

Les travaux recensés concernent surtout l'optimisation du rendement par le choix des enzymes, leur dosage, la durée et la température de traitement (Shalom, Gur-Arie *et al.*, 1999; Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001). Le procédé en lui-même ne diffère que très peu.

Les prunes sont décongelées pendant 8 à 12 h à 4°C. Les prunes déstructurées et dénoyautées sont chauffées à 85°C (Chang, Siddiq *et al.*, 1994), 90°C (Shalom, Gur-Arie *et al.*, 1999) ou non (Shalom, Gur-Arie *et al.*, 1999). L'ajout d'enzymes se fait à différentes températures, 50°C pour Chang, Siddiq *et al.* (1994), de 35 à 55°C pour Shalom, Gur-Arie *et al.* (1999) et Chauhan, Tyagi *et al.* (2001). Des enzymes pectolytiques commerciales (Clarex L, Clarex ML, Klerzyme L200, Rapidase C80L et Rapidase Press) sont ajoutées à 0,05, 0,1, 0,2, 0,4 ou 0,6 % (Chang, Siddiq *et al.*, 1994) (volume/poids) pendant 4h à 49°C, ou de 0,25 à 1%, avec des temps d'incubation allant de 1h à 7h pour Chauhan, Tyagi *et al.* (2001), ou encore l'ajout de Cellulclast (500 à 1500 ppm), Ultrazyme (100 à 200 ppm) ou Pectinex 3L (150 ppm) pour Shalom, Gur-Arie *et al.* (1999) avec une durée variant de 15 à 75 min. La pulpe est ensuite pressée (Chang, Siddiq *et al.*, 1994; Shalom, Gur-Arie *et al.*, 1999; Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001) filtrée (Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001) et centrifugée (Shalom, Gur-Arie *et al.*, 1999; Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001).

Chang, Siddiq *et al.* (1994) ont montré une corrélation positive entre la concentration en enzymes et le rendement en jus. La macération des prunes avec des pectinases (concentration de 0,05% à 0,6%), permet de passer d'un rendement de 38% à un rendement compris entre 57 et 73%. Cependant, au dessus d'une concentration de 0,2% en pectinases, l'augmentation de rendement n'est plus significative. D'après Chauhan, Tyagi *et al.* (2001), la liquéfaction de la pulpe de prune avec une composition enzymatique PE (1,15 unité.g<sup>-1</sup>) et PG (6,68 unité.g<sup>-1</sup>) est dépendante du temps d'incubation, de la température et de la concentration. Une concentration de 0,5% à 45°C pendant 4h permet d'obtenir les rendements maximaux (82%). Sans traitement enzymatique, le rendement n'est plus que de 17%. Shalom, Gur-Arie *et al.* (1999) montrent que l'action combinée de Ultrazyme (enzyme principalement pectolytique) et celluclast (enzyme cellulolytique) à 40-45°C, pendant 30 à 60 min permet le meilleur rendement (90%). L'augmentation du rendement en jus est corrélée avec la diminution des composés insolubles dans l'alcool (Shalom, Gur-Arie *et al.*, 1999).

#### 2.2.4 Nectars

Will et Dietrich (2006) ont produit des nectars à partir de prunes cueillies à maturité, déstructurées puis chauffées à 90°C. Les prunes sont ensuite dénoyautées et la pulpe obtenue est refroidie à 50°C, puis l'enzyme Pectinex Smash XXL (0,01%) est ajoutée ainsi que de l'acide ascorbique. Après une extraction finale dans un décanteur, les jus sont séparés, pasteurisés à 85°C et refroidis à température ambiante. Les rendements en jus sont de 60%. Les nectars contenant 60% de jus de fruits frais sont obtenus en ajoutant de l'eau déminéralisée et du sucre pour atteindre une concentration finale en sucres de 120 g.L<sup>-1</sup>.

#### 2.2.5 Comparaison des procédés

Les paramètres d'extraction pour la fabrication des différents types de jus sont présentés tableau X.

Les températures d'enzymation sont du même ordre, proches des températures optimales des enzymes. Les meilleurs rendements sont obtenus pour les jus liquéfiés, produits avec un « cocktail » riche en enzymes et très agressif pour la paroi cellulaire. Les enzymes liquéfiantes vont hydrolyser la paroi et permettre l'éclatement des cellules et la libération des

sucs vacuolaires et cytoplasmiques. Tous les niveaux de la paroi sont attaqués, la paroi disparaît physiquement. Les jus clarifiés ont un rendement élevé, malgré des étapes de fabrication plus nombreuses (double enzymation, centrifugation, floculation en présence de gélatine et filtration), ainsi des risques de perte en jus plus élevés. Les nectars présentent le rendement le plus faible dû à l'activité limitée de l'enzyme utilisée sur la déstructuration de la paroi. Leur rôle est d'hydrolyser partiellement les pectines de la lamelle moyenne afin de dissocier les cellules tout en conservant les parois intactes. Le jus obtenu est visqueux et présente une suspension de cellules. Dans aucun des procédés présentés n'est mentionné l'ajout d'acide ascorbique.

Tableau X : Paramètres et traitements appliqués pour la fabrication de jus

	Variété	Enzymes	Temps d'enzymation (h)	Température d'enzymation (°C)	Rendement (%)	Auteurs
Jus clarifié	Au red, Abundance, Probeda, Shiro, Peach plum, Early Golden	Clarex L + gélatine	3	49	79-85	Chang, Siddiq et al., 1994
Jus trouble	Stanley	Pectinases	6	49	60	Siddiq, Arnold et al. 1994
Jus liquéfiés	Prodeba, Stanley, Santa Rose	Clarex L, Clarex ML, Klerzyme L200, Rapidase C80L, Rapidase Press, Cellulclast, Ultrazyme, Pectinex 3L	0,4-7	35-55	57-90	Chang, Siddiq et al., 1994, Chauhan, Tyagi et al., 2001, Shalom, Gur-Arie et al. 1999
Nectar	récolte 2003	Pectinex Smash XXL	0,1-1	50	60	Will et Dietrich, 2006

### 2.2.6 Composition des jus

Les données concernant les jus de prune sont peu nombreuses et seront recensées ci-dessous sous forme de tableaux, en différenciant le contrôle (jus sans enzymation) des jus enzymés (Tableau XI et XII). Nous n'avons trouvé aucun article calculant les transferts entre les prunes et les jus.

#### 2.2.6.1 Macroconstituants

Les jus de prune étudiés contiennent deux fois plus de saccharose que de sucres réducteurs. Le rapport glucose/fructose est en faveur du glucose. Le sorbitol est présent en faible concentration et représente moins de 5% de la teneur en sucres globale.

L'acide malique est l'acide majoritaire des jus de prunes.



Le prétraitement enzymatique, en déstructurant la paroi permet des rendements d'extraction plus élevés en sucres et en acides. Globalement, ce prétraitement permet de doubler la concentration en sucres et acides (Chang, Siddiq *et al.*, 1994).

Tableau XI : Concentration en macroconstituants des jus obtenus après pressurage

Variété de prune	Obtention du jus	Rendement	Brix (°B)	Acidité		Sucres				Auteurs
				Acidité titrable	Acide malique	Glc	Fru	Sac	Sor	
		(%)		% ac. malique	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(g/L)	
Prodeba, Stanley, Santa Rose	sans enzymation	17-60	10,8-11	0,58-1,83		19-34	12-17	35-37	0,5-5	Chang, Siddiq <i>et al.</i> , 1994; Essa, 2002
Prodeba, Stanley, ND, Santa Rose	avec enzymation	57-90	10,0-19,7	0,68-2,18	10,9	34-64	27-33	25-69	3-42	Will et Dietrich, 2006; Chang, Siddiq <i>et al.</i> , 1994; Shalom, Gur-Arie <i>et al.</i> , 1999; Essa, 2002

### 2.2.6.2 Microconstituants

Les jus de prune présentent une concentration en polyphénols élevée en accord avec les fortes teneurs observées dans les fruits (Kim, Jeong *et al.*, 2003). Leur teneur varie entre 3,5 et 4,5 g.L<sup>-1</sup>. La composition spécifique en polyphénols des jus est en accord avec celle étudiée dans les prunes. L'acide néochlorogénique est l'acide phénolique majoritaire. Aucune publication ne présente la teneur en procyanidines des jus, alors qu'elles sont les composés majoritaires des prunes (Los, Wilska-Jeszka *et al.*, 2000; Kim, Jeong *et al.*, 2003).

Comme observé dans la prune, la (+)-catéchine, la rutine et la cyanidine-3-O-rutinoside sont les composés majoritaires des flavan-3-ols monomères, flavonols et anthocyanes respectivement (Raynal, 1989; Ahmed, Shivhare *et al.*, 2004; Del Caro, Piga *et al.*, 2004; Usenik, Kastelec *et al.*, 2008; Nunes, Guyot *et al.*, 2008).

Le peu de données disponibles rend difficile l'identification de l'impact réel des prétraitements enzymatiques. Cependant, la teneur en polyphénols et anthocyanes est moindre dans un jus sans enzymation, et la concentration en pectines est de 2 à 6 fois moins élevée lorsqu'il y a eu un prétraitement enzymatique.

Tableau XII : Concentration en microconstituants des jus obtenus après pressurage

Variété	Obtention du jus	Rendement (%)	Polyphénols dosage spectro (g/L)		Polyphénols CLHP (g/L)								Pectines		Auteurs					
					PT		Anthocyanes		Flavan-3-ols		Acides phénoliques		Flavonols	Anthocyanes				Pectines (g/L)	Perte en pectines (%)#	
					CAT	EPI	Dimère BI	3 CQA	5 CQA	rutine	cya-3-glc	cya-3-rut		peo-3-rut		peo-3-glc				
Prodeba, Stanley, Santa Rose	sans enzymation	17-60	2,5	0,22											1,5	0,5-5	Chang, Siddiq et al., 1994			
Prodeba, Stanley, ND, Santa Rose	avec enzymation	57-90	3,5-4,5	0,12-0,33	0,11	0,043	0,081	1,712	0,073	0,032	0,015	0,045	0,005	0,042	0,3-0,8	31-72	Will et Dietrich, 2006; Chang, Siddiq et al., 1994; Shalom, Gur-Arie et al., 1999			

# : comparé au contrôle, PT : polyphénols totaux, CAT : catéchine, EPI : épicatechine, 3 CQA : acide néochlorogénique, 5 CQA : acide chlorogénique, cya-3-glc : cyanidine-3-glucoside, cya-3-rut : cyanidine-3-rutinoside, peo-3-rut : péonidine-3-rutinoside, peo-3-glc : péonidine-3-glucoside

*MATERIELS*

*ET*

*METHODES*

# MATERIELS ET METHODES

## 1 Matériel végétal

### 1.1 Prunes

Les prunes (*Prunus domestica L.*) du cultivar Président ont été achetées au supermarché local Auchan Mistral 7 à Avignon en Octobre 2007, celle du cultivar Najbolia ont été récoltées à maturité du fruit dans les vergers de Dabrowice (Pologne) en aout 2008 et immédiatement congelées.

### 1.2 Raisins

Les raisins (*Vitis vinifera L., cv Muscat*) ont été achetés en octobre 2007 à Sojufel, Saint Andiol (Provence, France), entreprise familiale spécialisée dans la production de jus de raisin.

### 1.3 Abricots

Les abricots (*Prunus armeniaca L.*) de la série génétique A3844 ont été récoltés en juin 2008 dans les vergers expérimentaux de l'INRA à l'Amarine dans le Gard (France).

#### **1.4 Lot expérimental**

A réception des fruits dans l'Unité Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, les fruits sont lavés et ceux avec des défauts visibles sont écartés. Des lots sont constitués aléatoirement.

Un lot consiste en 7 prunes cv *Président*, 10 prunes cv *Najbolia* ou 100 raisins soit environ 500 grammes de matériel végétal, et en 5 abricots soit environ 250 grammes. Trois lots sont conservés pour réaliser les matières sèches. Trois autres lots sont aussi destinés à la caractérisation et l'analyse du matériel végétal de départ.

Une partie des lots de prunes cv *Président*, raisins et abricots est conservée à l'état frais à 4°C pour la réalisation des jus de prune et raisin d'octobre à décembre, et pour les jus d'abricot en juin. La majeure partie des lots de fruits est surgelée (FEMAG industrie, Laverune, France) et stockée à -20°C dès réception pour les abricots. Les raisins et les prunes cv. *Président* sont surgelés à surmaturité. Les prunes cv. *Najbolia* sont surgelées par lots et stockées à -20°C dès réception en France.

#### **1.5 Réactifs et standards analytiques**

L'acétonitrile, le méthanol de qualité chromatographique proviennent de Fisher Scientific (Fisher Scientific, Illkirch, France), le toluène- $\alpha$ -thiol provient de Merck™ (Merck™, Darmstadt, Allemagne). L'acide formique pureté 98-100% provient de chez Sigma-Aldrich (Sigma Aldrich, Stenheim, Allemagne).

Les standards phénoliques (acide *p*-coumarique, rutine, quercitrine, isoquercitrine, hyperoside, cyanidine-3-O-glucoside, cyanidine-3-O-rutinoside et péonidine-3-O-rutinoside) proviennent de Extrasynthèse (Lyon, France) excepté l'acide chlorogénique, la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine qui proviennent de Sigma-Aldrich (Sigma Aldrich, Stenheim, Allemagne).

La (-)-épicatéchine-3-O-gallate ainsi que son benzyltioéther, sont extraits à partir d'une thiolysse d'Endotélon™ (Sanofi Labaz, Paris, France). L'acide ascorbique provient de Sigma (Sigma Aldrich, Stenheim, Allemagne).

Les kits enzymatiques pour le dosage du D-glucose/fructose ref : E 0139106, du D-glucose ref : E 0716251, de l'acide L-malique ref : E 0139 068 et de l'acide citrique ref: E 0139076 ont été fournis par R-Biopharm et l'acide L-tartrique ref 207.18.233 par VWR (VWR, Fontenay-sous-bois, France).

Pour le pressurage des jus réalisés, les enzymes Rohapect PTE et Rohament PL proviennent de AB Enzymes (AB ENZYMES, Allemagne), Pectinex BE Colour et Pectinex BE XXL proviennent de Novozymes (Novozymes, Danemark).

Le CD<sub>3</sub>OH utilisé en tant que standard interne pour le dosage du méthanol provient de Merck<sup>TM</sup> (Merck<sup>TM</sup>, Darmstadt, Allemagne)

L'eau ultrapure est obtenue à l'aide du désioniseur Milli-Q de Millipore alimenté par de l'eau permutée. La résistivité de l'eau désionisée est égale à 18,2 MΩ.cm<sup>-1</sup>.

## **2 Micro-onde**

### **2.1 Description du matériel**

La figure 42 représente un diagramme schématique du dispositif expérimental.

Le micro-onde d'extraction de laboratoire a été fabriqué par Milestone « DryDist » (Milestone, Bergamo, Lombardie, Italie). C'est un micro-onde multimode à 2450Hz qui peut délivrer une puissance maximale de 1000W avec une incrémentation de 10W. La dimension de la cavité de chauffage est de 35cm\*35cm\*35cm. Le réacteur d'extraction (diamètre 200 mm x hauteur 120 mm), le couvercle du réacteur, la colonne et le réfrigérant en sortie de MO ont été réalisés sur mesure par l'entreprise S.A.R.L Legallais (Provence, France). Le réacteur d'extraction a une capacité de 1L. Pendant l'expérience, le temps et la puissance sont contrôlés par le logiciel « easy-WAVE » fourni avec le micro-onde.

La fibre optique de température (Neoptix, Québec, Canada) est mise directement dans un fruit afin de mesurer la température d'extraction à l'intérieur du fruit. La lecture et l'enregistrement des températures se fait grâce au logiciel Neoptix.

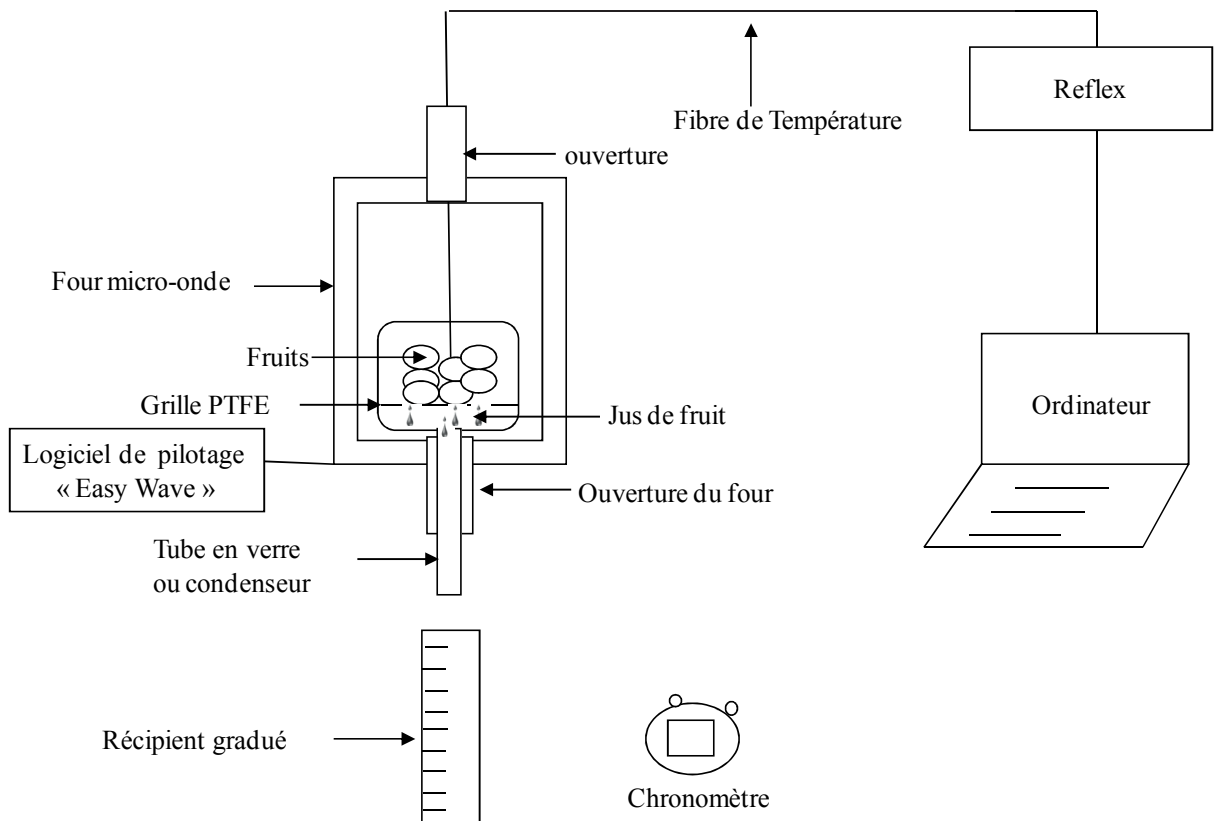


Figure 42: Représentation schématique du procédé expérimental et principe d'extraction de jus par micro-onde

## 2.2 Extraction de jus de fruit

Le jus de fruit est extrait par un processus d'hydrodiffusion. Les fruits subissent un chauffage par micro-onde qui aboutit à une expulsion du jus. Le jus coule dans le réacteur puis hors du micro-onde où il est recueilli.

### 2.2.1 Conditions générales

Dans une procédure d'extraction typique, la masse des fruits frais ou congelés est de 500g pour les prunes et les raisins et de 250g pour les abricots. Les fruits ne subissent aucun traitement préalable, hormis la surgélation. Ils sont placés directement dans le réacteur, la fibre optique est placée à l'intérieur d'un fruit, le réacteur est fermé afin de ne pas avoir de perte en chaleur.

Les jus, en sortie du four micro-onde, peuvent passer soit par un simple tube de verre, soit par un réfrigérant adapté aux dimensions du réacteur par l'entreprise S.A.R.L Legallais (Provence, France).

La cinétique d'extraction est suivie en notant le volume extrait en fonction du temps à l'aide d'un chronomètre.

Le rendement correspond au volume collecté en fonction de la masse initiale de fruits placée dans le réacteur.

Un modèle empirique d'extraction est calculé pour chaque expérience à l'aide du logiciel SigmaPlot© 2000 pour version Windows 6.00 (SPSS Inc., Chicago, USA).

### 2.2.2 Puissance

La puissance du four micro-onde peut être modulée par le logiciel Easy-Wave de 200 à 1000 W. Dans un premier temps, toute la gamme de puissance de 200 à 1000 W (incrémentations de 100 W) a été testée pour l'extraction de fruit. Trois niveaux de puissance ont été sélectionnés pour la suite des travaux (250 W, 500 W et 750 W) correspondant à 0,5 W.g<sup>-1</sup>, 1 W.g<sup>-1</sup> et 1,5 W.g<sup>-1</sup> pour 500 g de fruits.

### 2.2.3 Etat du fruit

Les fruits sont utilisés pour l'extraction à l'état frais, ou à l'état congelé. Des nuances avec les fruits congelés ont été apportées afin de tester l'impact d'une décongélation. Au final, les fruits ont été utilisés :

- Frais, placés directement dans le réacteur avec extraction immédiate et recueil du jus en sortie du four via un simple tube de verre.
- Congelés, placés directement dans le réacteur avec extraction immédiate et recueil du jus en sortie du four via un simple tube de verre.
- Congelés, avec décongélation à température ambiante pendant 10 h avant l'extraction puis transfert du jus en sortie du four via un simple tube de verre.
- Congelés, avec décongélation à faible puissance (200 W, 6 min) avant extraction puis transfert du jus en sortie via un simple tube de verre.



- Congelés, placés directement dans le réacteur avec extraction immédiate et transfert du jus en sortie du four via un condenseur.

#### 2.2.4 Collecte des jus

Dans le cadre de la thèse, plusieurs séries d'expériences ont été réalisées dont le descriptif est noté ci-dessous :

Pour l'extraction de jus total : l'ensemble du jus est collecté dans un récipient gradué

Pour l'analyse sensorielle : le jus est collecté dans une bouteille destinée à l'usage alimentaire et stérilisée, la bouteille est fermée et le jus est dégusté après 1 nuit à 4°C.

Pour l'analyse fractionnée du jus : des tubes plastiques gradués de 50 mL (Falcon, Becton Dickinson, Franklin Lakes, New Jersey, USA) servent à récupérer les fractions successives des jus extraits. Des fractions de 40mL sont récupérées pendant l'extraction afin de procéder aux analyses biochimiques des jus. Les fractions des jus d'abricot sont plus petites, à cause de la plus faible quantité de fruit de départ. Des fractions de 30 mL sont prélevées pendant l'extraction jusqu'en fin d'extraction.

Quand l'analyse le demande, les jus de fruits sont soit centrifugés pendant 10 min, à température ambiante à 2250g (CR3I multifonction, Thermo Fisher Scientific, Illkirch, France), soit lyophilisés (Cryonext, Montpellier, France).

### 3 Extraction par pressurage

Ces jus ont été réalisés dans un laboratoire d'accueil en Pologne à une échelle semi-technologique (Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, Pologne).

- Pour la production de jus troubles, les prunes congelées et dénoyautées sont chauffées à 50°C, déstructurées pour permettre le traitement enzymatique pendant 1h (combinaison de Rohapect PTE + Rohament PL à 100 mg.kg<sup>-1</sup>) avec ajout ou non d'acide ascorbique à 500 mg.kg<sup>-1</sup>. Après le traitement enzymatique, la pulpe est pressée dans une presse à paquets (Busher, Niederweningen, Suisse) pendant 15 min. Le jus obtenu est centrifugé 2 fois puis flash pasteurisé à 98°C pendant 30 secondes.

- Pour la production de jus clarifié, les prunes congelées et dénoyautées sont chauffées à 50°C, déstructurées pour permettre le premier traitement enzymatique pendant 1 h (Pectinex BE Colour à 200 mg.kg<sup>-1</sup> avec ajout d'acide ascorbique à 500 mg.kg<sup>-1</sup>). Après le traitement enzymatique, la pulpe est pressée sous presse pendant 15 min. Un second traitement enzymatique est réalisé à 50°C pendant 2 h utilisant une combinaison de Pectinex BE XXL (100 mg.kg<sup>-1</sup>), Rohapect B1L (50 mg.kg<sup>-1</sup>) et Rohament PL (50 mg.kg<sup>-1</sup>). Le jus obtenu est centrifugé jusqu'à ce que la turbidité soit inférieure à 3 et filtré, puis flash pasteurisé à 98°C pendant 30 secondes.

## 4 Méthodes analytiques

### 4.1 Pénétrométrie

Le texturomètre TA plus LLOYD (Lloyd Instrument, Ametec, Elancourt, France) et son logiciel Taplus développé au laboratoire sont utilisés pour réaliser des mesures de pénétrométrie ou de compression sur les fruits afin de définir leur texture. Sur les prune cv. Président, la texture est mesurée à deux états du fruit, frais et surmature, par un test de pénétration de 7 mm de profondeur dans le fruit avec un poinçon hémisphérique de 4 mm de diamètre fixé au capteur de force de 50 Newtons qui va mesurer la force maximale nécessaire de rupture. Plus un fruit est mûr, plus il sera mou et plus la force de pénétration mesurée sera faible.

### 4.2 Matière sèche

- Sur fruit entier

La matière sèche a été estimée sur 3 lots (7 prunes cv Président, 10 prunes cv Najbolia, 100 baies de raisins ou 5 abricots). Les fruits sont coupés en quartiers (prunes ou abricots) ou en 2 (raisins), pesés et immergés dans de l'azote liquide puis lyophilisés (Cryonext, Montpellier, France). La masse de fruit est repesée directement en sortie de lyophilisation.

- Sur les différentes parties

Les fruits sont pelés manuellement à l'aide d'un couteau séparant le noyau, le parenchyme et l'épiderme et regroupés par lot. Les noyaux et pépins sont pesés. Les morceaux de l'épiderme et du parenchyme sont immergés dans l'azote liquide, puis réduits en poudre à l'aide d'un broyeur PM-400 (Retsch GmbH, Allemagne). Ces poudres sont soit conservées à -20°C, soit lyophilisées (Cryonext, Montpellier, France), après avoir été pesées afin de déterminer la matière sèche spécifique de l'épiderme et du parenchyme. La poudre lyophilisée ou non servira à la caractérisation spécifique des fruits.

### **4.3 Brix**

L'échelle de brix sert à mesurer le pourcentage de matière sèche soluble. Le résultat est donné en degré Brix (°B) par un réfractomètre (PR-101, ATAGO, Bangkok, Thaïlande). Le jus est mis directement en contact avec la lentille, le résultat est donné numériquement par le réfractomètre.

### **4.4 Viscosité**

La viscosité des jus est mesurée à l'INRA-URGPTA (Villeneuve d'Ascq, France) avec un viscosimètre rotatif AR 1000 (TA Instrument, New Castle, USA) équipé d'un cône (angle 2°, diamètre 40 mm). Le viscosimètre est dirigé par le logiciel de l'instrument et la température d'expérimentation est de 25°C.

### **4.5 Sucres et Acides**

Les sucres (saccharose, D-glucose et D-fructose), les acides organiques (L-malate et citrate) ont été déterminés par méthode enzymatique en utilisant l'analyseur séquentiel multiparamétrique (Hitachi Europe, Maidenhead, Royaume Uni). C'est la formation de NADPH ou NADH au cours des diverses réactions enzymatique qui est mesurée à 365 nm. La formation de NADPH ou NADH est proportionnelle à la quantité de D-glucose, acide L-malique ou acide L-citrique présent au départ dans le fruit ou le jus. L'échantillon doit être

dilué pour avoir une concentration se situant dans la gamme de concentration des kits enzymatiques du fournisseur :

- entre 0 et 2 g.L<sup>-1</sup> pour le D-glucose et D-glucose/fructose
- entre 0 et 4 g.L<sup>-1</sup> pour le saccharose
- entre 0 et 1 g.L<sup>-1</sup> pour le malate et le citrate

L'acide tartrique, dans les raisins et jus, a été déterminé par colorimétrie à 505 nm à l'aide de l'analyseur séquentiel multiparamétrique (Hitachi Europe, Maidenhead, Royaume Uni). Pour l'acide tartrique, on mesure la réaction de l'acide tartrique avec l'acide vanadique qui donne une coloration jaune-orangée mesurable à 505 nm. La gamme de travail se situe entre 0 et 5 g.L<sup>-1</sup>.

#### 4.5.1 Fruit

10 g de poudre de fruits sont pesés auxquels sont ajoutés 40 mL d'eau distillée. La préparation est homogénéisée et centrifugée pendant 10 min, à température ambiante à 2250 g (CR3I multifonction, Thermo Fisher Scientific, Illkirch, France), Le surnageant est récupéré après filtration sur étamine. Le surnageant doit être plus ou moins dilué afin de rentrer dans la gamme de concentration des kits enzymatiques. Après dilution, l'échantillon est de nouveau centrifugé est prêt à être analysé.

#### 4.5.2 Jus de fruits

Les jus sont homogénéisés et dilués à la concentration adéquate pour se trouver dans la gamme fournisseur.

### 4.6 Polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965).

Cette méthode est basée sur la réduction du réactif phosphotungstique-phosphomolybdate (solution de Folin, Sigma-Aldrich, Stenheim, Allemagne) en milieu légèrement alcalin par les ions phénolates. Une coloration bleue se forme lors de l'oxydation des phénols indépendamment de la nature du noyau phénolique. Les produits de réduction (tungstène et molybdène) présentent un maximum d'absorption à 730 nm. Cette méthode reste une des méthodes de dosage global des phénols la plus utilisée. Cependant, lors du dosage de phénols dans des extraits végétaux, des interférences peuvent se produire, notamment avec l'acide ascorbique.

La gamme étalon est réalisée avec l'acide chlorogénique, présent en forte concentration dans nos 3 fruits. Une solution mère à 1 g.L<sup>-1</sup> est réalisée. Les concentrations de la gamme varient de 0 à 1 g.L<sup>-1</sup>. Deux cent microlitres de gamme sont mélangés à 250 µL de Folin (dilué au 1/5<sup>ème</sup>) puis 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,4 M) sont ajoutés à la solution. La lecture se fait à 730 nm après 30 min d'incubation sur le spectrophotomètre Varian UV-Visible (Varian, Palo Alto, USA).

#### 4.6.1 Fruit

La poudre de fruits lyophilisée (0,1g) est pesée et ajoutée à 1mL de méthanol contenant 10 mL.L<sup>-1</sup> d'acide acétique. L'extrait est passé 15 min aux ultrasons (Bioblock Scientific chez Fisher Scientific, Illkirch, France). Puis, il est filtré par un filtre PTFE 0,45 µm (Phenomenex, Torrance, USA). Le filtrat est récupéré puis dilué ou non. L'extrait (200 µL) est traité comme décrit ci-dessus.

#### 4.6.2 Jus de fruits

Les jus sont centrifugés à 2250 g pendant 10 min (CR3I multifonction, Thermo Fisher Scientific, Illkirch, France). Le jus (200 µL, éventuellement dilué) est prélevé et traité comme décrit ci-dessus.

## 4.7 Dosage des anthocyanes

Les anthocyanes sont dosées par la méthode de différence de pH décrite par Wrolstad, (1982).

Ce dosage des anthocyanes repose sur les modifications de couleur des anthocyanes à différents pH. A pH=1, les anthocyanes se trouvent sous forme colorée (oxonium ou flavylium) tandis qu'à pH=4,5, elles sont sous une forme incolore (carbinol).

Une aliquote de la solution aqueuse d'anthocyanes est ajustée à pH=1, une autre aliquote à pH=4,5. Les mesures se font pour chaque pH à 510 nm et 700 nm à l'aide du spectrophotomètre Varian UV-Visible (Varian, Palo Alto, USA). La différence d'absorbance est proportionnelle à la quantité d'anthocyanes. Le calcul de la concentration en anthocyanes est basé sur la loi de Beer-Lambert.

$$\Delta A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4,5}$$

$$\text{Anthocyanes totales (g.L}^{-1}\text{)} = (\Delta A * PM * FD) \div \epsilon$$

\*PM : poids moléculaire de la référence prise. Le standard utilisé est le plus représentatif de chaque fruit. Pour la prune, les résultats seront donnés en équivalent cyanidine-3-O-rutinoside (595Da) (Pacheco-Palencia et Talcott, 2010). Pour le raisin et l'abricot, ils sont donnés en cyanidine-3-O-glucoside (449Da) (Skrede, Wrolstad *et al.*, 2000).

\*FD : facteur de dilution

\* $\epsilon$ : Coefficient d'absorption molaire cyanidine-3-O-rutinoside: 28800 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>

\*

cyanidine-3-O-glucoside: 26900 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>

### 4.7.1 Fruit

Dans une fiole jaugée de 50 mL, 5 g de poudre de fruits sont pesés. Après ajout de 40 mL d'eau milliQ, la solution est passée aux ultra-sons pendant 15 min, puis le volume est ajusté à 50 mL. La solution est centrifugée à 2250 g pendant 10 min, puis filtrée sur étamine. 1 mL de surnageant est prélevé et 4 mL de solution à pH=1 sont ajoutés (chlorure de potassium (0,4M)), idem pour la solution à pH=4,5 (tampon d'acétate de potassium (0,4M)).

#### 4.7.2 Jus de fruits

0,1 mL de jus est prélevé après centrifugation à 2250g pendant 10 min. 2 mL de tampon à pH=1 et à pH=4,5 sont ajoutés.

### **4.8 Protéines**

La méthode de Bradford (Bradford, 1976) est un dosage colorimétrique, basée sur le changement d'absorbance, se manifestant par le changement de la couleur du bleu de Coomassie (Sigma Aldrich, Stenheim, Allemagne) après complexation avec les acides aminés aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines. La forme anionique liée du colorant est bleue, et possède un pic d'absorption maximale estimé à 595 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité de colorant liée, indiquant donc la concentration en protéines dans l'échantillon. La gamme de linéarité se situe entre 0 et 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . La méthode de Bradford est moins sensible aux interférences par divers agents présents dans les échantillons de protéines que la plupart des autres méthodes de dosage des protéines. Elle est toutefois affectée par les détergents, modifiée par le pH, et donne un résultat positif également aux polyphénols hydrosolubles de haut poids moléculaire (tannins).

#### Jus de fruit

La gamme étalon est réalisée avec la protéine sérum albumine bovine (SAB) (Sigma Aldrich, Stenheim, Allemagne). La gamme d'étalonnage varie de 0 à 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . La lecture se fait à 595 nm sur le spectrophotomètre Varian UV-Visible (Varian, Palo Alto, USA).

Le jus (200  $\mu\text{L}$ ) est prélevé, puis 1 mL de réactif (100 mg de bleu de Coumassie dilué dans 50mL d'éthanol + 100 mL d'acide orthophosphorique) est ajouté. La lecture se fait à 595 nm.

## **4.9 Préparation du Matériel Insoluble à l'alcool**

### **4.9.1 Fruit**

Environ 5 grammes de poudre lyophilisée sont pesés exactement et suspendus dans 75 mL d'éthanol à 70%. La suspension est mélangée vigoureusement et stabilisée à température ambiante pendant 1h, puis centrifugée à 2600g pendant 10 min (Sorvall, Les Ulis, France). Le culot est récupéré, puis repris dans l'alcool à 70%. Les lavages à l'éthanol sont répétés jusqu'à l'absence de réaction au test phénol (Dubois, Gilles *et al.*, 1956). Les échantillons sont repris deux fois dans un mélange acétone: eau: acide acétique (v: v: v 60: 39: 1), puis 2 lavages avec une solution acétone: eau (80: 20), puis avec de l'acétone pure jusqu'à décoloration du surnageant.

### **4.9.2 Jus de fruits**

Afin de connaître la concentration de pectines, 50 mL de jus sont prélevés et versés dans 150 mL d'éthanol 96%, et rincés de façon répétée par l'alcool à 70%. La suspension est laissée pendant 24h. Le jus est centrifugé à 2600 g pendant 10 min (Sorvall, Les Ulis, France). Le culot est récupéré, puis repris dans l'alcool 96%. Les lavages à l'éthanol sont répétés jusqu'à l'absence de réaction au test phénol. La suspension est centrifugée pendant 15 min à 7250 g (CR3I multifonction, Thermo Fisher Scientific, Illkirch, France). Le culot récupéré est solubilisé dans l'eau pendant 24h à 4°C. Les pectines sont lyophilisées puis pesées.

## **4.10 Dosage des oses neutres**

### **4.10.1 Principe**

Les oses neutres sont dosés dans les pectines et parois suivant la méthode décrite par Englyst et Cummings (1984). Les polysaccharides sont hydrolysés en milieu acide à chaud pour libérer les oses neutres constitutifs qui sont rendus volatils après réduction et acétylation en acétates d'alditols, qui seront dosés par chromatographie en phase gazeuse.



#### 4.10.2 Mode opératoire

Les oses neutres sont analysés après hydrolyse acide suivant 2 options. L'échantillon (environ exactement 10 mg de paroi ou pectines) est placé dans un tube à vis fermé hermétiquement. Les parois sont hydrolysées en présence de 250  $\mu\text{L}$  d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  (72%, v/v). Après une préhydrolyse, à température ambiante, d'une heure, 1 mL d'étalon interne (inositol, à 1  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) est ajouté à l'échantillon qui est dilué (rajout de 1,7 mL d'eau désionisée) pour aboutir à une concentration finale d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 1 M. L'hydrolyse proprement dite est effectuée pendant 3 heures à 100°C (Seaman, Moore *et al.*, 1954). Une aliquote est conservée pour le dosage des acides galacturoniques (cf. : 4.12). Les pectines (10 mg) et les standards ne subissent pas de préhydrolyse mais seulement l'hydrolyse de 3 heures à 100 °C avec 1 mL de solution d'inositol et 1 mL d'  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 M.

L'hydrolysate (1 mL) est transféré dans un tube à hémolyse et neutralisé par 200  $\mu\text{L}$  de  $\text{NH}_4\text{OH}$  25 %. 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{NH}_4\text{OH}$  3 M contenant 100 mg de  $\text{NaBH}_4/\text{mL}$  sont ajoutés. La réduction est effectuée en une heure à température ambiante.

Les tubes sont ensuite placés dans un bain de glace et le borohydrure en excès est décomposé par l'ajout de 2 fois 50  $\mu\text{L}$  d'acide acétique glacial. 300  $\mu\text{L}$  de la solution sont alors transférés dans un tube à essai. 200  $\mu\text{L}$  de N-méthyl-imidazole et 3 mL d'anhydride acétique sont ajoutés et le tube est laissé 30 minutes à température ambiante. L'excès d'anhydride acétique est décomposé par 5 mL d'eau désionisée. Trois mL de dichlorométhane sont rajoutés pour extraire les acétates d'alditols. Après décantation la phase aqueuse supérieure est éliminée et la phase organique est lavée 4 fois par 5 mL d'eau désionisée. Le dichlorométhane est recueilli puis est évaporé par un flux d'air continu.

Les acétates d'alditols sont analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse modèle HP-5890 (Agilent Inc, Palo Alto, Etats-Unis) équipé d'un passeur d'échantillon automatique, d'un injecteur split thermostaté à 250°C et d'une colonne capillaire en silice greffée DB 225 (30 m x 0.25 mm x 0,5 $\mu\text{m}$ ). La colonne est thermostatée à 210°C et l'hydrogène est utilisé comme gaz vecteur à une pression d'entrée de 100 KPa. La détection se fait à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme à 250°C. Les acétates d'alditols extraits des échantillons sont repris dans 200  $\mu\text{L}$  de dichlorométhane. Deux  $\mu\text{L}$  de cette solution sont injectés sur la colonne. La quantification se fait par étalonnage interne avec l'inositol. Les facteurs de réponse des différents oses neutres par rapport à l'inositol sont calculés à partir d'une solution standard d'oses neutres. Les résultats sont exprimés en anhydro-oses.

## 4.11 Dosage du méthanol

### 4.11.1 Principe

Le méthanol est dosé dans les parois des fruits et les pectines de jus de fruit afin de connaître le degré de méthylation des pectines. Il est dosé dans l'espace de tête après saponification des pectines. La quantification se fait à partir d'une gamme d'étalonnage avec du CH<sub>3</sub>OH (0,6-6 μmol.L<sup>-1</sup>) et en utilisant du CD<sub>3</sub>OH comme standard interne.

### 4.11.2 Mode opératoire

Environ exactement 10 mg d'échantillon de paroi ou pectines sont suspendus ou dissous dans 3,8 mL d'eau milliQ dans un flacon pouvant être scellé puis saponifié par addition de 0,8 mL de KOH contenant du CD<sub>3</sub>OH (1,4 μmol.L<sup>-1</sup>), après quoi le flacon est fermé hermétiquement. L'appareil de chromatographie utilisé est un GC-MS QP2010 Shimadzu équipé d'un passeur d'échantillon automatique AOC500 avec une colonne capillaire Cp\_wax\_52cb 30m x 0,32 mm x épaisseur du film 0,5 μm (Varian Inc, Palo Alto, USA). Le flacon scellé est placé à 50°C pendant 15 min et 0,5 mL d'espace de tête sont injectés (ratio : 1 :10). Les conditions de chromatographie sont : hélium à 45 cm.s<sup>-1</sup>, température du four à 40°C. La détection est faite en ionisation par impact électronique (70 eV) avec la source à 200°C et la détection des ions sélectionnés (m/z 31 ; 32 ; 35) à 5 scans.s<sup>-1</sup>. La concentration en méthanol est calculée en traçant le ratio de l'aire du pic (normal en fonction des formes deuterium) pour les ions impairs (m/z 31/35) en fonction des ratios de concentration de CH<sub>3</sub>OH/CD<sub>3</sub>OH. L'ion à m/z 35 est l'ion moléculaire pour CD<sub>3</sub>OH, hautement spécifique de ce composé. L'ion m/z 31 (CD<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) est préféré à l'ion moléculaire m/z 32 pour le CH<sub>3</sub>OH car il donne un meilleur ratio signal sur bruit. Le degré de méthylation (DM) est calculé comme le ratio molaire du méthanol sur l'acide uronique.

## 4.12 Dosage de l'acide galacturonique

### 4.12.1 Principe

Les acides galacturoniques sont dosés suivant la méthode de Blumenkrantz et Asboe-Hansen (1973) modifiée par Ahmed et Labavitch (1980). Sous l'action de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré à chaud, les polysaccharides sont hydrolysés en oses neutres et en acides galacturoniques. Les monomères acides libérés sont déshydratés en dérivés furfuriques qui forment avec le méthoxydiphényl (MHDP) un complexe rose présentant un maximum d'absorption situé à 520 nm. La réaction est spécifique, les oses neutres ne formant pas de complexe avec le MHDP. Les acides uroniques sont exprimés sous forme anhydro par rapport à un standard d'acide galacturonique.

### 4.12.2 Mode opératoire

Les dosages sur les parois des fruits se font après l'hydrolyse sulfurique réalisée lors du dosage des oses neutres par la méthode des acétates d'alditols après une dilution au 1/10<sup>ème</sup> (c.f § IV.10) et pour les pectines (jus de fruits) sur l'aliquote conservée lors du dosage du méthanol (cf. § IV.11). L'échantillon (0,5 mL) issu des dosages précédents est placé dans trois tubes à essai. Un tube à essai servira de blanc, les deux autres serviront à la détermination de la concentration en acide uronique. Trois mL d'acide sulfurique-tétraborate (0.0125 M) sont ajoutés, l'ensemble est vortexé (Fisher Scientific, Royaume-Uni). Les tubes sont placés au bain-marie (Salvis, Oftringen, Suisse) thermostaté à 80°C pendant 10 min. La réaction est arrêtée par abaissement de la température dans de la glace pilée. La solution de MHDP (400 mg.L<sup>-1</sup> dans NaOH (0,125 M)) est ajoutée aux 2 tubes dosés, pour le tube servant au blanc, 50 µL de NaOH (0,0125 M) sont ajoutés. Les tubes sont vortexés et placés 10 min à température ambiante. Le dosage s'effectue avec un spectrophotomètre Varian à 520 nm (Varian, Palo Alto, USA).

### 4.13 Dosage des polyphénols spécifiques

La CLHP est utilisée pour la séparation et la quantification des composés phénoliques. La phase utilisée pour ce dosage est de la silice greffée par des chaînons alkyles (surtout C18). Cette phase dite inverse a un caractère apolaire. Dans ces conditions, les composés les plus polaires sont élués en premier alors que les composés les moins polaires sont retenus par la phase puis élués par une phase mobile de plus en plus apolaire (gradient de solvant).

La CLHP en phase inverse ne permet pas de séparer les polymères polyphénoliques. La dépolymérisation par la thioacidolyse de ces derniers facilite leur analyse en CLHP en phase inverse et permet de les quantifier. Pour faire la distinction entre les monomères natifs présents naturellement dans les échantillons et les monomères issus de la libération des unités terminales des procyanidols après thiololyse, une analyse sans traitement par la thiololyse est nécessaire.

#### 4.13.1 Matériel

La chaîne CLHP de marque Shimadzu (Shimadzu LC-20AD) (Shimadzu, Kyoto, Japon) est constituée des éléments suivants :

- 2 pompes dont une équipée d'un système quaternaire de solvant et l'autre pompe d'un système unique de solvant,
- Un système de détecteurs à barrette diode SPD-M20A DAD, un détecteur de fluorométrie FF-10 AXL,
- une colonne analytique synergie fusion Phenomenex C18 5 $\mu$ m (4,6 x 150 mm) (Phenomenex, Torrance, USA) équipée d'une pré-colonne (1 cm x 4 mm, C18),
- un système d'injection automatique réfrigéré (Shimadzu, Kyoto, Japon), un four pouvant contenir 4 colonnes,
- un logiciel de pilotage, d'acquisition et de retraitement des chromatogrammes LC solution (Shimadzu, Kyoto, Japon).

Les échantillons sont élués par un gradient de concentration avec les solvants suivant : solvant A = eau désionisée : acide formique (98: 2 ; v/v), solvant B= acetonitrile : eau : acide formique ( 80 : 18 :2). Le gradient est présenté en figure 43. Le débit est de 1 mL/min, le volume d'injection de 20  $\mu$ L, la température de colonne : 30°C, la plage de détection barrette

diode: 280-520 nm. Pour le détecteur de fluométrie, le couple de longueur d'onde excitation-émission est de 278 et 360 nm. Le spectre d'émission en fluorescence est caractéristique des flavan-3-ols. Les échantillons sont maintenus à 4°C avant injection.

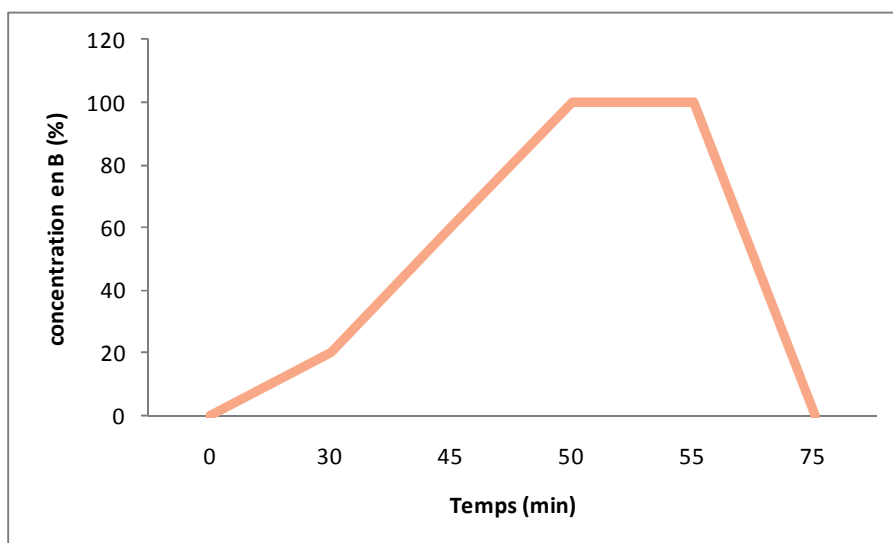


Figure 43 : Gradient de concentration du solvant B pendant l'élution.

#### 4.13.1 Dosage des polyphénols monomères

Pour les fruits, environ exactement 100 mg de parenchyme ou d'épiderme sont additionnés de 1200  $\mu$ L de méthanol : acide acétique (99 :1 ; v/v), l'ensemble a été soumis aux ultrasons pendant 15 minutes puis filtré à 0,45  $\mu$ m (Phenomenex, Torrance, USA). Le mélange réactionnel a été injecté en CLHP extemporanément et analysé selon le protocole décrit au §4.13.

Pour les jus de fruits, environ exactement 1000 mg de jus ont été pesé et après lyophilisation sont redissous dans 600  $\mu$ L de méthanol : acide acétique (99 :1 ; v/v) et traité comme décrit ci-dessus.

## 4.13.2 Dosage des proanthocyanidines

### 4.13.2.1 La réaction de thioacidolyse

La thiolysse (Thompson, Jacques *et al.*, 1972) est une réaction qui s'applique de manière spécifique aux proanthocyanidols (Figure 44). Les liaisons interflavanes des procyanidols sont rompues en milieu acide entraînant la formation de 4-flavanyl-carbocations à partir des unités d'extension tandis que les unités terminales des polymères sont libérées sous leurs formes flavan-3-ols. Les 4-flavanyl-carbocations sont des intermédiaires instables qui sont piégés par un réactif nucléophile, le toluène- $\alpha$ -thiol, pour former des dérivés 4-benzyl-thioéther de flavan-3-ols. La réaction de thiolysse s'effectue sur des substrats lyophilisés et en milieu anhydre ; en effet, la présence d'eau dans le milieu réactionnel conduit à des réactions parasites et à la formation de phlobaphènes.

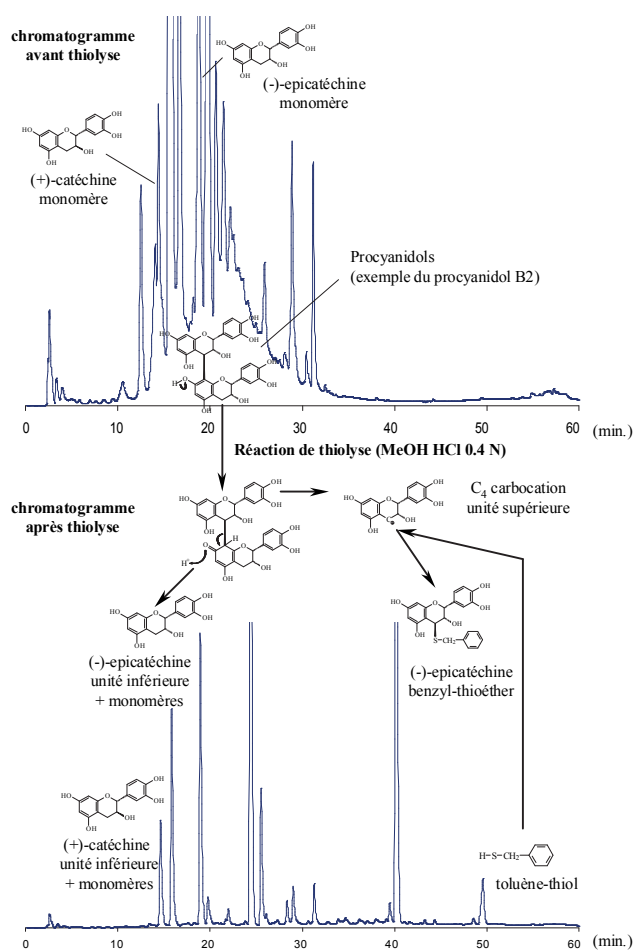


Figure 44 : Réaction de thiolysse : réaction et chromatogramme obtenus à 280 nm pour un jus de pomme avant et après extraction (Sanoner, Guyot *et al.*, 1999).

#### 4.13.2.2 Calcul du degré de polymérisation moyen

Le dosage des produits de thiolyse est ensuite réalisé par analyse du milieu réactionnel en CLHP en phase inverse. Le dosage et l'identification des unités d'extension et des unités terminales permettent le calcul du degré de polymérisation moyen des procyanidols suivant la formule :

$$\overline{DP} = \frac{([Cat_t] - [Cat_m]) + ([Epi_t] - [Epi_m]) + [EpiSR]}{([Cat_t] - [Cat_m]) + ([Epi_t] - [Epi_m])} \quad (1)$$

$[EpiSR]$  = Concentration en (-)-épicatéchine thioéther (unité intermédiaire),

$[Cat_t]$  = Concentration en (+)-catéchine totale (monomère et unité terminale),

$[Cat_m]$  = Concentration en (+)-catéchine (monomère et unité terminale),

$[Epi_t]$  = Concentration en (-)-épicatéchine totale (sans thiolyse, monomère),

$[Epi_m]$  = Concentration en (-)-épicatéchine (sans thiolyse, monomère).

#### 4.13.2.3 Mode opératoire

La thiolyse a été effectuée d'après le protocole établi par Guyot, Marnet *et al.* (2001), adapté à nos échantillons:

Pour les fruits, environ 100 mg de poudre de parenchyme ou d'épiderme sont pesés exactement dans un tube eppendorf et additionnés de 400  $\mu$ L de méthanol acidifié par HCL 0,4 N et 800  $\mu$ L de toluène- $\alpha$ -thiol à 5% (v/v) dans du méthanol anhydre. Le tube est scellé, vortexé, puis porté à 40 °C pendant 30 minutes, avec une agitation toutes les 10 minutes. La réaction de thiolyse est arrêtée par abaissement de la température dans de la glace pilée aussitôt après incubation puis le mélange réactionnel est filtré à 0,45  $\mu$ m (Phenomenex, Torrance, USA) et injecté en CLHP extemporanément dans les conditions décrites au § 4.13.1.

Pour les jus, environ 1000 mg de jus de fruit sont pesés exactement puis lyophilisés dans un tube eppendorf et additionnés de 200 µL de méthanol acidifié par HCL 0,4 N et 400 µL de toluène- $\alpha$ -thiol à 5% (v/v) puis traités comme décrit ci-dessus.

#### 4.13.3 Quantification et identification des composés phénoliques

##### 4.13.3.1 Identification

Les pics des chromatogrammes obtenus sont caractérisés par leurs spectres UV/visible et leurs temps de rétention comparés aux standards analytiques authentiques et purifiés. L'acide néochlorogénique dont le standard commercial n'est pas disponible, celui-ci a été identifié selon les critères de Chun, Kim *et al.* (2004) (Tableau XIII). Les flavan-3-ols sont aussi identifiés par leur énergie d'émission-excitation (278 et 360 nm). Le spectre d'émission en fluorescence est caractéristique des flavan-3-ols.

Les différents pics caractérisés sont regroupés en 4 classes selon les profils et les maxima d'absorption des spectres : les flavan-3-ols, les acides hydroxycinnamiques, les flavonols et les anthocyanes.

Les composés phénoliques rencontrés dans nos échantillons sont :

Pour les flavan-3-ols : la (+)-catéchine, la (-)-épicatéchine, la (-)-épicatéchine-3-O-gallate (unités terminales des procyanidols et monomères de flavan-3-ols), les benzyltioéthers de (-)-épicatéchine, de (+)-catéchine, de (-)-épicatéchine-3-O-gallate (qui sont les dérivés correspondants aux unités d'extension).

Pour les acides hydroxycinnamiques: l'acide néochlorogénique (acide 3'cafféoylquinique), l'acide *p*-coumaroylquinique et l'acide chlorogénique (acide 5'cafféoylquinique).

Pour les flavonols: hyperoside, quercétine, rutine, isoquercétine

Pour les anthocyanes : cyanidine-3-O-glucoside, cyanidine-3-O-rutinoside et péonidine-3-O-rutinoside.



Tableau XIII : Données analytiques des composés phénoliques présent dans les prunes avec le détecteur de barrette à diode

<b>Composés</b>	<b>Masse (Da)</b>	<b>Longueur d'onde (nm) de quantification</b>	<b>Temps de rétention (min)</b>	<b>Coefficient de réponse (DAD)(mol/uDO)</b>
<b>(+)-catéchine</b>	290,28	280 nm	14.6	$5.24 \times 10^{-15}$
<b>(-)-épicatéchine</b>	290,28	280 nm	19.9	$5.21 \times 10^{-15}$
<b>(-)-épicatéchine benzylthioether</b>	412,28	280 nm	41.6	eq.épicatéchine
<b>Acide néochlorogénique</b>	354,31	320 nm	11.7	eq.acide chlorogénique
<b>Acide <i>p</i>-coumaroylquinique</b>	338,30	320 nm	14.4	$1.23 \times 10^{-15}$
<b>Acide chlorogénique</b>	354,31	320 nm	18.9	$9.35 \times 10^{-16}$
<b>Quercétine</b>	302,24	350 nm	33.3	$1.27 \times 10^{-15}$
<b>Rutine</b>	610,52	350 nm	33.3	eq. Quercétine
<b>Hyperoside</b>	464,38	350 nm	33.7	eq. Quercétine
<b>Quercitrine</b>	448,38	350 nm	34.12	eq. Quercétine
<b>Isoquercétine</b>	464,38	350 nm	38.0	eq. Quercétine
<b>Cyanidine-3-O-glucoside</b>	449,12	520 nm	25.1	$5.8 \times 10^{-16}$
<b>Cyanidine-3-O-rutinoside</b>	595,28	520 nm	26.9	$6.2 \times 10^{-15}$
<b>Péonidine chloride</b>	301,03	520 nm	36.11	$6.8 \times 10^{-16}$
<b>Péonidine-3-O-rutinoside</b>	609,31	520 nm	30.4	eq. Péonidine

#### 4.13.3.2 Quantification

La quantification de la (+)-catéchine, de la (-)-épicatéchine, de la (-)-épicatéchine-3-O-gallate, des benzylthioéthers de (+)-catéchine, de (-)-épicatéchine, selon un étalonnage externe est réalisée par intégration des pics correspondants sur les chromatogrammes à 280 nm tandis que les acides hydroxycinnamiques sont quantifiés à 320 nm. Les flavonols sont quantifiés à

350 nm et les anthocyanes à 520 nm. Les coefficients de réponse sont regroupés dans le tableau XIII.

## 5 Analyse sensorielle

Les jus de fruits issus de l'extraction de prunes (cv Président), de raisins et d'abricots par MO (micro-onde), ont été spécialement réalisés pour une analyse sensorielle type « nouveau produit ». Le panel de dégustateurs est constitué de personnel du laboratoire, 7 femmes et 6 hommes âgés de 25 à 55 ans. Dans le cadre de cette analyse sensorielle, 2 directives sont données :

- D'abord les jus sont notés et évalués directement de 0 à 9 (0= jus pas bien perçu et 9 jus bien perçu).
- Puis, des critères d'appréciations libres sont donnés concernant le ressenti de la dégustation du jus.

Lors d'une deuxième session, des jus commerciaux de marque Joker (jus de raisin) et de marque du distributeur (nectar d'abricot) ont été achetés dans un supermarché local (Carrefour, Avignon, France). Le jus de prune a été acheté dans un supermarché en Pologne (Skierniewice, Pologne). Il est demandé à ce même panel de goûter ces différents jus et de donner leur opinion. Pour éliminer le biais et comparer les jus MO et les jus commerciaux, le jus de raisin MO est aussi goûté et les notes des jus MO réajustées par rapport à la note obtenue.

## 6 Analyse statistique

La méthode de Box, Hunter *et al.* (1978) est utilisée pour calculer l'erreur d'une manipulation à partir d'une série d'analyses avec répétition.

On calcule tout d'abord la variance pour chaque série de répétition puis on estime la variance totale de la manipulation  $S^2$  en calculant la moyenne de nos variances pondérées par les degrés de liberté :

$$S^2 = \frac{\sum (S_i^2 \cdot v_i)}{\sum v_i} \quad (1)$$

Avec  $v_i$  qui correspond au degré de liberté de chaque série de répétition soit

$$v_i = n - 1 \quad (2)$$

avec  $n$  égal au nombre de répétition,  $n$  étant constant, le degré de liberté de la variance  $S^2$  est égal à

$$v = \sum v_i \quad (3)$$

$$v = N \cdot (n - 1) \quad (4)$$

Avec  $N$  égal au nombre d'échantillon à analyser

L'écart-type  $\sigma$  sur les moyennes des  $n$  répétitions est calculé par :

$$\sigma = \frac{\sqrt{S^2}}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

La comparaison des moyennes observées pour nos séries d'échantillons se fera à partir du test  $t$  de Student. Avec  $t$  qui correspond à la valeur de la table de Student correspondant à  $v$  degré de liberté et une probabilité de 95% ( $p \text{ value} = 0,05$ ) ou 99% ( $p \text{ value} = 0,01$ ).

# *RESULTATS*

## *ET*

# *DISCUSSIONS*

PARTIE I : MISE EN PLACE D'UN NOUVEAU PROCEDE  
D'EXTRACTION DU JUS DE FRUITS

PARTIE II : COMPOSITION EN MACROCONSTITUENTS  
ET POLYPHENOLS DES JUS : IMPACT DU PROCEDE

# *PARTIE I : MISE EN PLACE D'UN NOUVEAU PROCÉDE D'EXTRACTION DU JUS DE FRUITS*

Ce chapitre traite de la mise en place d'un nouveau procédé d'extraction de jus de fruits par micro-onde. L'idée de ce procédé s'est développée à la suite d'un brevet posé sur l'extraction d'huile essentielle. Nous avons cherché dans un premier temps à adapter le montage pour l'extraction de jus de fruits, dans un second temps, nous avons modifié des paramètres techniques pouvant jouer sur le rendement de l'extraction. Nous avons testé l'impact de la puissance, et l'ajout d'un condenseur et en ce qui concerne le produit, l'état frais, congelé, décongelé du fruit et l'impact de la surmaturité des fruits.

Nous devons répondre à une simple question : les jus de fruits obtenus sont-ils consommables et acceptables par de potentiels consommateurs. De ce fait, un test type proposition d'un nouveau produit a été réalisé.

Afin de positionner le procédé, nous l'avons comparé à un procédé d'extraction utilisé couramment, l'extraction sous presse. Dans quelles mesures notre procédé innovant pourrait être intéressant par rapport à un procédé d'extraction robuste ?

## 1 Origine

Le brevet européen (Chemat, Vian *et al.*, 2010) est déposé en 2007 pour l'hydrodiffusion de composés biologiques par l'irradiation micro-onde. L'hydrodiffusion consiste à chauffer instantanément par micro-onde l'eau de la matière première. La pression interne des cellules du fruit va augmenter provoquant ainsi leur éclatement et le relargage de leurs molécules fonctionnelles comme les antioxydants. Ce brevet inclut les matrices alimentaires, les plantes et les graines. Ce procédé permet l'extraction d'huile essentielle de plante avec un rendement équivalent à une distillation conventionnelle mais avec une durée

Tableau XIV : Caractéristiques générales des fruits utilisés. Le volume théorique est calculé dans 1 kg de fruits. Les moyennes et écarts-types (poids, % de chair, de peau et de noyau, teneur en matière sèche, degré Brix) sont obtenus par lot, pour 3 lots de fruits.

	Poids des fruits	% de chair	% de peau	% de noyau	Teneur en matière sèche du fruit (%)	° Brix	Volume de jus théorique (mL)
Abricots	51 ±2	70 ±2	23 ±1	8 ±0	18 ±1	14,1 ±0,4	909
Raisins	4 ±1	68 ±5	32 ±5	ND	30 ±1	23,9 ±0,1	841
Prunes cv Président	74 ±2	84 ±1	14 ±1	2 ±0	17 ±1	14,1 ±0,1	915
Prunes cv Najbolia	52 ±4	73 ±1	22 ±1	5 ±0	15 ±1	14,4 ±0,2	932

18 fois plus courte. Ce brevet n'est pas spécifique à l'extraction d'huile essentielle mais inclut dans ses extensions l'extraction de jus de végétaux. Cependant, si le principe global reste le même, dans le cadre de cette thèse, le procédé d'extraction a été adapté spécifiquement à l'extraction de jus de fruits. Il a été nécessaire d'en vérifier la faisabilité vis-à-vis de la fabrication de jus de fruits et d'améliorer la diffusion des composés biologiques et les rendements en jus. L'extraction des molécules biologiques est entraînée par la diffusion de l'eau qui s'écoule à l'extérieur de la matrice, nous verrons dans la partie II que la diffusion des molécules est dépendante de plusieurs facteurs intrinsèques des molécules et de leur localisation.

## 2 Caractéristiques générales des fruits

Les caractéristiques générales des fruits étudiés sont présentées dans le tableau XIV. Le plus gros fruit dans notre projet est la prune cv. Président avec un poids moyen de 70 g par fruit dont 2% de poids de noyau, suivi par la prune cv. Najbolia et l'abricot avec un poids moyen de 50 g par fruit, enfin le fruit le plus petit utilisé est le raisin (4 g par baie). La proportion de chair est prédominante dans l'ensemble des espèces, avec une proportion de peau allant jusqu'au tiers dans les raisins, d'environ un quart pour les abricots et les prunes du cv. Najbolia. La proportion de peau la plus faible est retrouvée dans les prunes du cv. Président.

La teneur en matière sèche, c'est-à-dire en constituants autres que l'eau, est plus élevée pour les raisins, suivis par les abricots, les prunes cv. Président et les prunes cv. Najbolia. La matière sèche est constituée de solides solubles estimés par le °brix, de polysaccharides insolubles, de polyphénols, de protéines et d'autres micronutriments insolubles dont les caroténoïdes pour les abricots. La différence du °brix avec la matière sèche peut nous donner une estimation du contenu insoluble du fruit, équivalent à 1,1%, 3,9%, 4,4% et 6,1% respectivement pour les prunes cv. Najbolia et Président, les abricots et les raisins.

Théoriquement, le volume total de jus contenu dans 1 kg de fruit peut être calculé. Le brix permet d'estimer la matière sèche du jus théorique dans 1 L et la densité du jus. Nous considérons pour l'estimation du volume de jus ( $V_{jus}$ ) par kilogramme de fruit, que le « compartiment liquide » du fruit est homogène, et que le degré brix permet d'estimer la matière sèche du jus théorique dans 1 L et la densité du jus par une table de conversion





(AOAC., 1981). Le détail et la description des calculs sont donnés dans le chapitre synthèse bibliographique (cf. : chapitre III, 1.3). Compte tenu du degré brix, les raisins ont le plus faible volume théorique en jus par kg, suivis par la prune cv. Najbolia, l'abricot, et la prune cv. Président.

Ces données caractéristiques des fruits sont dans la gamme établie par la bibliographie sur les mêmes espèces de fruits : pour les abricots (Gurrieri, Audergon *et al.*, 2001; Drogoudi, Vemmos *et al.*, 2008), pour les prunes (Nunes, 2008) et pour les raisins (Vicens, 2007).

### **3 Optimisation du Procédé d'extraction**

Les trois puissances retenues pour l'extraction par micro-onde sont 250, 500 et 750 W. Pour 250 g d'abricots, les deux puissances testées sont 250 et 500W. Ces trois puissances font parties de la gamme de puissances testées au préalable. Cette partie est développée en fin de ce chapitre (cf. : 3.3.2). Comme précisé dans le matériel et méthode, les fruits frais sont les fruits (prunes, raisins, abricots) à maturité commerciale, les fruits surmatures sont les fruits qui ont été conservés à 4°C pendant 2 mois (prunes cv Président). La congélation des abricots et des prunes cv. Najbolia a été réalisée sur les fruits frais et celle des prunes cv. Président et des raisins sur les fruits à maturité plus avancée.

#### **3.1 Extraction des jus et description**

Deux données sont relevées lors de l'extraction des jus : d'une part le volume de jus collecté en fonction du temps, d'autre part la température à l'intérieur des fruits. Pour visualiser le phénomène limitant de l'extraction du jus, et comprendre ces variations de rendements observées entre les puissances, des sondes thermiques ont été placées au cœur des fruits.

Un modèle phénoménologique a été mis en place pour identifier les différents paramètres observés des extractions. Il permet de recalculer les volumes et les débits d'extraction en fonction du temps.

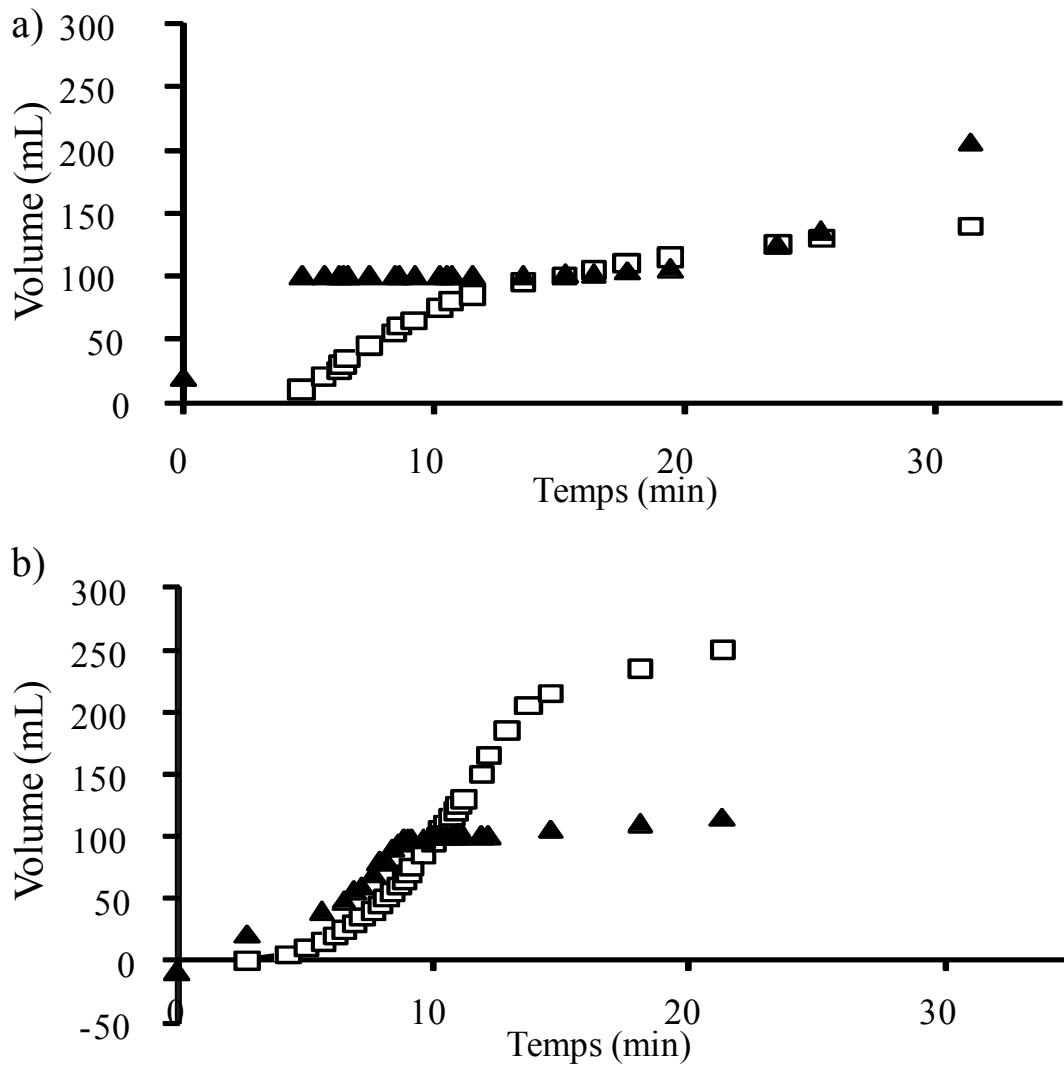


Figure 45 : Extraction type de l'hydrodiffusion de jus de fruits à une densité de  $1 \text{ W.g}^{-1}$  a) avec des prunes cv. Président fraîches à maturité élevée b) avec des prunes cv. Président congelées.

- ✓ ▲ Température
- ✓ □ Volume mesuré de la cinétique d'extraction ( $V=f(t)$ )

Dans cette partie, nous allons d'abord présenter, commenter et calculer les paramètres d'extractions pour les jus de raisins, d'abricots, de prunes cv. Président et Najbolia. Deux profils caractéristiques obtenus à partir de 500 g de prunes, à 500W, soit à une densité de puissance de  $1 \text{ W.g}^{-1}$  seront présentés. Les résultats sont présentés en densité de puissance, c'est-à-dire, la puissance d'extraction par rapport à la masse des fruits, ce qui nous permet de comparer les résultats entre eux, puisque les quantités de fruits au départ varient : 500 g pour les prunes et les raisins et 250 g pour les abricots. Dans un second temps, nous ferons varier les paramètres d'extraction en fonction de la matrice « fruit » utilisée (espèce, maturité, état frais ou congelé) et en fonction du procédé d'extraction (puissance d'extraction, mise en place d'un condenseur).

### 3.1.1 Extraction à partir de fruits frais

Le procédé d'extraction à partir de fruits frais (Figure 45.a) peut être décrit comme suit : après un temps de latence, variable selon la puissance d'extraction et le type de fruit, la première goutte tombe par gravité à l'extérieur du système expérimental et montre le début de l'extraction. L'évolution de la température explique ce phénomène. En effet, le temps de latence permet la montée en température jusqu'à approximativement  $100^{\circ}\text{C}$ , et c'est à cette température que l'extraction commence.  $100^{\circ}\text{C}$  correspond à la température d'ébullition de l'eau, qui se retrouve sous forme de vapeur, augmentant la pression interne du fruit et favorisant ainsi l'éclatement de la structure du végétal et l'expulsion du jus du fruit, principal constituant du fruit. La température d'ébullition des jus est faiblement supérieure à  $100^{\circ}\text{C}$ , compte tenu de la présence des sucres. Tout au long de l'extraction du jus, la température est stabilisée aux alentours de  $100^{\circ}\text{C}$ , permettant un débit d'extraction maximal. Lors de cette phase, l'eau est dans un état diphasique, où la chaleur transmise par le procédé permet la transformation de l'eau bouillante en vapeur sans changement de température: c'est la chaleur latente de vaporisation. La diminution du débit est concomitante avec la diminution de l'eau disponible du fruit. Une augmentation de température (montée jusqu'à  $200^{\circ}\text{C}$ ) intervient avec la fin de l'extraction du jus, l'eau résiduelle ne permettant plus la régulation, une odeur de brûlé se fait ressentir.

Lors de l'extraction de jus à partir de fruits frais, nous pouvons donc diviser le procédé d'extraction en quatre étapes (Figure 46.a) :



- ✓ L'étape 1 correspondant au temps nécessaire au chauffage de la matrice de la température ambiante à la température d'ébullition de l'eau (100°C). Ce temps correspond au temps de latence nécessaire à collecter la première goutte de jus.
- ✓ L'étape 2 correspond à une extraction intense du jus de fruits avec un débit d'extraction augmentant jusqu'à sa valeur maximale. Lors de cette phase, l'eau est facilement échangeable.
- ✓ L'étape 3 correspond à une diminution du débit d'extraction. L'eau restante est plus liée à la structure de la matrice et en conséquence, plus difficilement extraite.
- ✓ L'étape 4 est la fin du procédé d'extraction, le fruit est appauvri en eau. La température augmente rapidement à cause de l'absence d'eau qui régula la température à son point d'ébullition dans les étapes précédentes.

### 3.1.2 Extraction à partir de fruits congelés

Le procédé d'extraction à partir de fruits congelés peut être décrit indépendamment de la matrice végétale (Figure 45.b). L'initiation de l'extraction se déroule à des températures positives. La libération de la première goutte d'eau est le résultat de la fonte des cristaux de glace. En effet, la glace prenant plus de place que l'eau liquide entraîne une modification du fruit avec pour conséquence la perte de structure, la dislocation des membranes, la perte de la turgescence (Letang et Chourot, 2002; Petzold et Aguilera, 2009)... La température de début d'extraction varie selon la taille des fruits, puisque celle-ci est de 13°C (±4) pour les raisins, de 21°C (±1) pour les prunes et de 26°C (±2) pour les abricots à 1W.g<sup>-1</sup> (Figure 47). La glace est transparente à l'énergie micro-onde. Cependant, une faible présence d'eau non congelée permet la diffusion de chaleur (Schiffmann, 2001). Or, le fruit présente une faible proportion d'eau dite de constitution, fortement liée aux biopolymères, pratiquement incongelable, mais susceptible de réagir aux radiations micro-onde. De plus, l'expérimentation se déroule à température ambiante et une faible proportion de l'eau des fruits décongèle pendant la mise en place du dispositif. A ce niveau, il va donc avoir formation de points chauds et la chaleur locale est diffusée par la glace du fruit, la glace présentant une conductivité thermique élevée (Datta et Anantheswaran, 2001). L'augmentation de température va donc diffuser à partir de ces points chauds, causant la fonte de la glace. De plus en plus de molécules d'eau deviennent

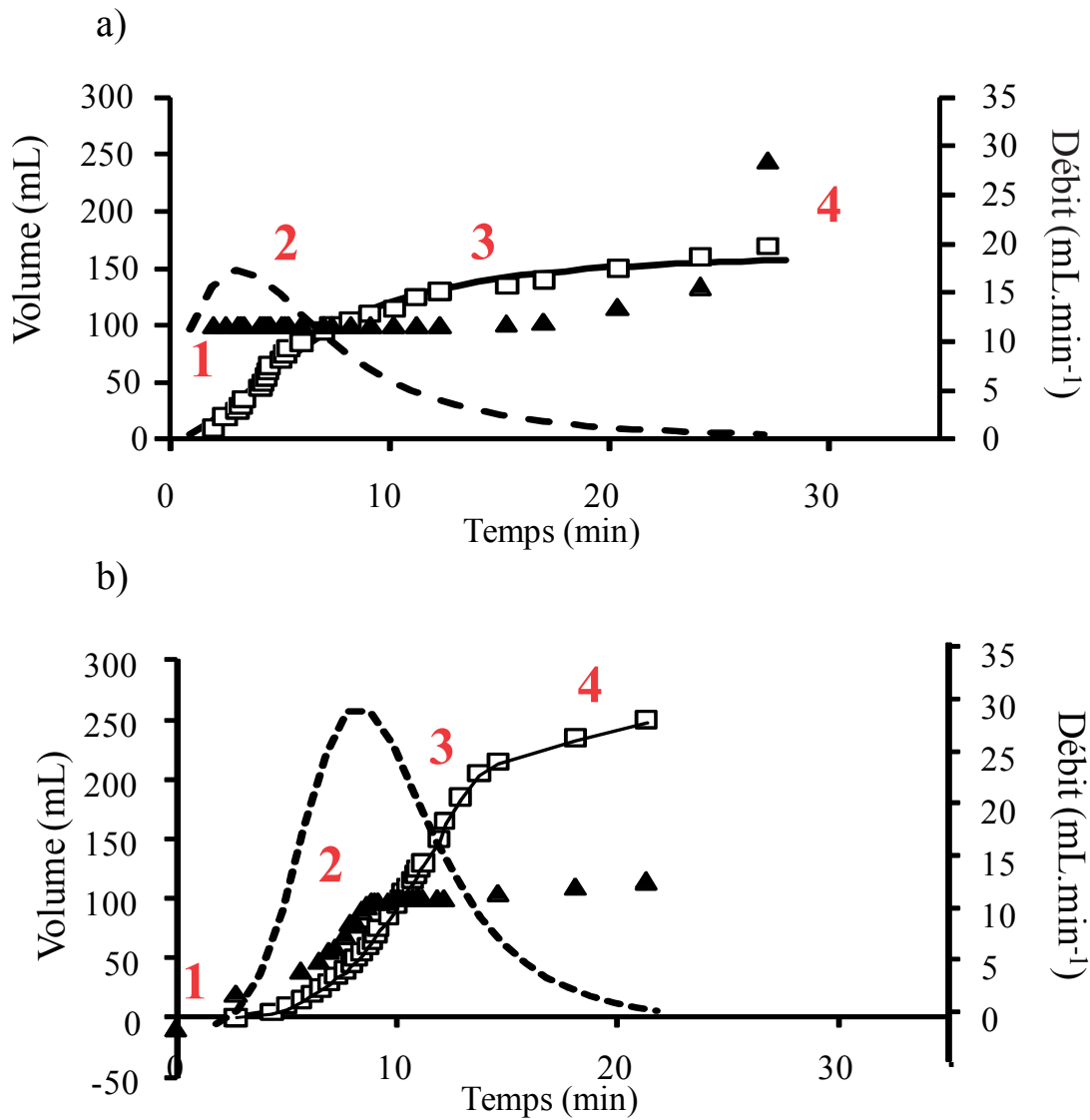


Figure 46 : Extraction type et modèle phénoménologique de l'hydrodiffusion de jus de fruits à une densité de  $1 \text{ W.g}^{-1}$  a) avec des prunes fraîches cv. Président à maturité élevée b) avec des prunes congelées cv. Président. Les nombres représentés en rouge dans le graphique représentent les étapes d'extraction.

- ✓ ▲ Température
- ✓ □ Volume mesurés de la cinétique d'extraction ( $V=f(t)$ )
- ✓ — Volume calculé par le modèle
- ✓ --- Débit d'extraction calculé par le modèle

liquides et réactives à l'irradiation micro-onde. La température moyenne d'extraction atteint approximativement les 100°C (87°C ± 4°C, 96°C ± 8°C, 98°C ± 2°C pour l'abricot, le raisin et la prune respectivement), température impliquant un changement du mécanisme d'extraction. En effet, l'extraction de jus de fruits se déroule alors par le même mécanisme qu'à partir de fruits frais, c'est-à-dire par la génération de vapeur. C'est lors de cette étape que le débit maximal d'extraction du jus de fruits est atteint. Le même mécanisme est décrit pendant le séchage par micro-onde, où le séchage des fruits est provoqué par la vapeur d'eau exerçant une pression entre l'intérieur et la surface entraînant la migration de l'eau en surface (Vijaya-Raghavan, Orsat *et al.*, 2005; Vadivambal et Jayas, 2007).

Lors de l'extraction de jus à partir de fruits congelés, nous pouvons diviser le procédé d'extraction en quatre étapes (Figure 46b) :

- ✓ L'étape 1 correspondant au temps nécessaire à la décongélation du fruit et à l'obtention de la première goutte de jus de fruits à l'extérieur de la cavité micro-onde. Pendant cette étape, le procédé de décongélation est responsable de la formation de points chauds à cause de la présence d'eau résiduelle incongelable (Al-Muhtaseb, McMinn *et al.*, 2002; Vadivambal et Jayas, 2007) et diffusion de la chaleur au reste de la glace.
- ✓ L'étape 2 correspond à une extraction intense du jus de fruits avec une augmentation du débit d'extraction et de température, jusqu'au point d'ébullition de l'eau.
- ✓ L'étape 3 correspond à une diminution du débit d'extraction. L'eau restante est plus liée à la structure de la matrice et en conséquence, plus difficilement extraite. La température se maintient autour du point d'ébullition de l'eau.
- ✓ L'étape 4 est la fin du procédé d'extraction, le fruit est appauvri en eau. Un décrochement de température intervient à cause de l'absence d'eau qui régulait la température à son point d'ébullition dans les étapes précédentes.

### 3.1.3 Modélisation

Afin de pouvoir dégager des paramètres caractéristiques de ces courbes, nous avons mis en place un modèle phénoménologique (Figure 46), visant uniquement à leur description.





La forme sigmoïde de la courbe représentant le volume collecté nous a conduits à tester l'équation suivante :

$$V(t) = \frac{V_{\max}}{(1 + (\frac{t}{t_0})^b)}, \text{ ayant pour dérivée le débit : } \frac{dV}{dt} = \frac{-V_{\max}}{t_0^b} \frac{t^{b-1}}{(1 + (\frac{t}{t_0})^b)^2}$$

V(t) représente le volume d'extraction à l'instant t, t est décompté à partir de la première goutte à l'extérieur du tube collecteur. Les coefficients sont ajustés par minimisation des carrés des écarts aux point expérimentaux pour suivre notre cinétique d'extraction avec :

- ✓  $V_{\max}$  représentant le volume théorique maximal extrait,
- ✓  $t_0$  est le temps nécessaire à l'obtention de la moitié du volume maximal d'extraction, c'est-à-dire,  $V_{\max}/2$ ,
- ✓ le coefficient b représentant la forme générale de la cinétique d'extraction avec une valeur toujours négative

Ainsi, pour les deux courbes présentées à la figure 46, à une densité de  $1 \text{ W.g}^{-1}$ , pour 500 g de fruit, l'ajustement du modèle donne:

$$V(t) = \frac{160}{(1 + (\frac{t}{7.6})^{-1.8})}, \text{ pour l'extraction avec des prunes fraîches surmatures}$$

$$V(t) = \frac{240}{(1 + (\frac{t}{8.1})^{-3.5})}, \text{ pour l'extraction avec des prunes congelées}$$

avec comme coefficients :  $V_{\max}=160$  et  $240 \text{ mL}$ ,  $b=-1,8$  et  $-3,5$  et  $t_0=7,6$  et  $8,1 \text{ min}$  pour les prunes surmatures et congelées respectivement.

La description et la comparaison de ces deux courbes nous permettront de mieux appréhender les phénomènes d'extraction avec des fruits congelés ou des fruits frais. Des profils similaires (Figure 50) sont obtenus avec les raisins et les abricots.

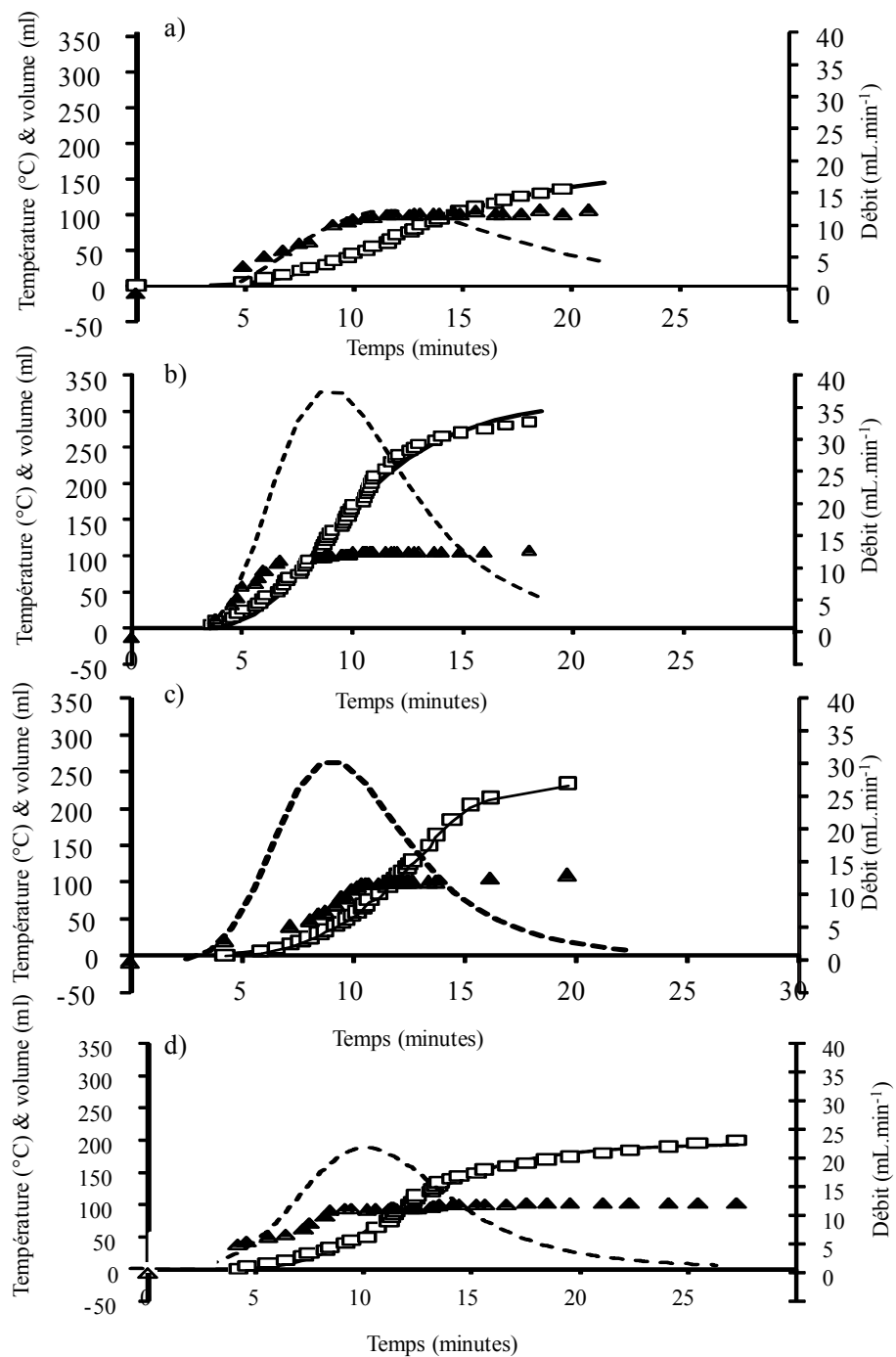


Figure 47 : Cinétique d'extraction à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  et modèle phénoménologique à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  a) extraction à partir d'abricots congelés b) extraction à partir de raisins congelés c) extraction à partir de prunes congelées cv. Président d) extraction à partir de prunes congelées cv. Najbolia.

- ✓ ▲ Température
- ✓ □ Volume mesuré de la cinétique d'extraction ( $V=f(t)$ )
- ✓ — Volume calculé par le modèle
- ✓ --- Débit d'extraction

## 3.2 Influence de la matière première végétale

### 3.2.1 Espèce et variété

La figure 47 montre les cinétiques d'extractions typiques réalisées à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  à partir d'abricots, raisins et prunes congelés. Le tableau XV recense les résultats obtenus avec les fruits frais et congelés pour différentes espèces et variétés de fruits : abricots, raisins, prunes cv. Président et Najbolia.

#### 3.2.1.1 Extraction des jus

Ces résultats confirment la possibilité d'extraction de jus avec différents fruits (raisins, abricots, prunes). D'autres tests réalisés lors d'un stage de master 2, nous permettent de valider la faisabilité d'extraction de jus à partir de myrtilles, de fraises, de tomates-cerises et de cerises (résultats non montrés) (Hoerlé, 2010). Les fruits réagissent différemment lors de l'extraction micro-onde, le comportement des abricots se différenciant nettement de ceux des prunes et des raisins. Alors que le chauffage par micro-onde de la prune et du raisin favorise le craquèlement de la peau et l'extraction du jus, l'abricot « mousse » au cours de l'extraction. Cette mousse envahissant le réacteur, nous a obligés à réduire le poids de la matrice initiale à 250 g. Une des hypothèses pouvant expliquer ce comportement est la teneur plus élevée en protéines (Souci, Fachmann *et al.*, 2000). La montée en température imposée par le chauffage micro-onde entraîne une baisse de la solubilité des protéines ayant des conséquences majeures sur les propriétés moussantes. Sous l'action du procédé micro-onde, les molécules de protéines se dénatureraient, se dérouleraient et emprisonneraient de l'air, ce qui conduirait à la formation d'une mousse et au foisonnement de la solution (Nicorescu, Riaublanc *et al.*, 2009). Choi, Choi *et al.* (2006) ont montré que, un traitement par micro-onde, en permettant directement un chauffage au centre du germe de soja, augmente le rendement d'extraction en protéines lié à une déstructuration plus importante du protoplasme, ce qui pourrait accroître ce phénomène.

Tableau XV : Paramètres d'extraction mesurés et calculés par le modèle phénoménologique des jus de prunes (cv. Président et Najbolia), raisins et abricots frais et congelés à différentes puissances d'extraction. Moyenne et écart-type (n=1, 2 ou 3)

Fruit	Etat du fruit	Mesuré	Mesuré	Mesuré	Calculé	Mesuré	Calculé	Calculé	Calculé	Calculé
		Densité de puissance (W.g <sup>-1</sup> )	Temps de latence (min)	Volume mL	Rendement (mL.kg <sup>-1</sup> )	Temps d'extraction (min) (sans temps de latence)	Débit (mL.min <sup>-1</sup> )	t0 (min)	b	Vmax mL
PRUNES	Président	0.5	7.2	305	610	35.4	24	9	-2.1	304
	*frais	1	4	170	340	16.3	31	3.9	-2.2	163
		1.5	2.3	150	300	15.4	35	2.7	-2.4	144
	Président	0.5	6.9±0.6	215±17	430±30	58.0±4.2	10±1	15.4±0.5	-2.1±0.5	220±40
	*surmature	1	3.0±0.5	160±15	320±30	27.9±0.7	12±3	7.6±1.0	-1.8±0.3	160±10
		1.5	2.7±0.2	125±5	250±10	18.0±0.1	21±6	3.5±0.7	-1.8±0.0	125±10
	Président	0.5	2.7±0.2	240±15	480±30	22.2±0.4	32±4	8.5±0.5	-4.1±0.1	250±5
	*congelé	1	3.4±0.9	240±15	480±30	19.4±0.4	35±4	8.1±0.7	-3.5±0.5	260±5
		1.5	2.1±0.1	235±15	470±30	13.5±1.7	45±4	5.5±1.2	-3.6±0.3	225±20
	Najbolia	0.5	9.6±1.7	215±7	430±14	54.0±1.4	7±2	18.1±4.9	-3.4±0.9	222±32
	*congelé	1	4.6±0.5	195±7	390±14	23.7±1.1	19±3	7.5±0.1	-4.4±0.6	194±4
		1.5	5.6±0.5	170±7	340±14	12.0±1.1	32±2	2.2±0.5	-6.1±1.0	165±14
RAISINS	*frais	0.5	2.9	295	490	32.8	24	11.4	-3.4	290
		1	1.3	300	600	18.8	45±2	5.5	-3.11	300
		1.5	1	235	470	11	60	3.1	-2.6	250
	*congelé	0.5	4.7±0.2	310±15	620±30	39.6±1.2	17	16.6	-3.1±0.5	340±5
		1	2.5±0.3	255±30	510±60	17.6±3.0	38±3	7.4±0.3	-3.1±0.4	310±40
		1.5	1.6±0.6	225±20	450±40	12.2±1.0	46±4	4.3±0.2	-2.9±0.2	235±5
ABRICOTS	*frais	1	3.8±0.2	105±15	420±60	18.5±0.7	12±1	7.6±0.2	-2.7±0.5	120±20
		1.5	3.8±0.0	85±0	340±0	10.9±0.1	17±1	3.2±0.1	-2.6±0.5	80±0
	*congelé	1	4.9±1.3	138±3	550±10	19.2±0.9	11±2	11.3±0.1	-3.1±0.5	185±10
		1.5	3.9±0.2	120±15	480±60	15.1±2.0	16±1	7.0±0.9	-2.2±0.5	132±12

### 3.2.1.2 Rendement

A  $1 \text{ W.g}^{-1}$ , les rendements en jus pour les raisins, abricots et prunes cv. Président sont comparables et sont plus élevés que pour la prune cv. Najbolia. Ces résultats ne sont pas en corrélation avec le volume de jus théorique contenu dans 1 kg de fruits. Ainsi, d'autres paramètres peuvent influencer les rendements en jus tel que la teneur en pectines favorisant la rétention d'eau des fruits (Massiot et Renard, 1997; Kosmala, Milala *et al.*, 2009) la porosité de la paroi, la viscosité... (Albagnac, Varoquaux *et al.*, 2002). De plus, Beltman, Pilnik *et al.* (1971) ont démontré pour des pressurages mécaniques, que plus l'épaisseur de pulpe est fine, plus le rendement est élevé. Une relation similaire pourrait être observée ici, avec une épaisseur moindre pour les raisins.

### 3.2.1.3 Comparaison aux données bibliographiques

Les rendements d'extraction obtenus ici sont supérieurs à ceux obtenus lors de l'extraction des mêmes fruits, sans enzymation. En effet, le rendement rapporté en jus de prune est uniquement de 38% (Chang, Siddiq *et al.*, 1994), voir 10 % (Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001), lorsque la pulpe est directement pressée, tandis que par micro-onde le rendement maximal moyen obtenu est de 48% et 39% pour les prunes cv. Président et Najbolia respectivement. Sur la pulpe d'abricot non enzymée, un rendement de 17% est obtenu (Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001), comparé à 42% pour les jus réalisés par micro-onde. Pour le raisin, sans enzymation le rendement d'extraction est de 67% (Grimi, Lebovka *et al.*, 2009), et le procédé micro-onde permet un rendement maximal de 60%. Cependant ces résultats sont difficilement comparables car les rendements de la bibliographie sont généralement calculés en tenant compte de la masse initiale des fruits et la masse finale du gâteau, sans tenir compte du volume réel de jus extrait. Il est indiqué que le rendement en jus réel est de 20% inférieur, à cause de la rétention du jus par le filtre. Ainsi, le rendement d'extraction obtenu par micro-onde est supérieur comparé au rendement réel d'extraction obtenu par l'équipe de Grimi, Lebovka *et al.* (2009).

Par contre, des rendements en jus plus élevés peuvent être obtenus après prétraitement enzymatique. En effet, Lieu et Le (2009) présentent des rendements d'extraction après filtration sur la purée de raisin variant de 74,9 à 82,2% suivant la température, l'enzymation combinée ou non avec l'utilisation des ultras-sons. L'entreprise Sojufel obtient en routine des



rendements de l'ordre de 80% (Données industrielles Sojufel, 2007), alors que le rendement d'extraction maximal obtenu avec le micro-onde est de 60%.

Au contraire des raisins, les prunes et les abricots sont des fruits se prêtant très mal au pressurage. De plus, les jus d'abricot ne peuvent être obtenus que par des procédés de liquéfaction.

Chang, Siddiq *et al.* (1994), ont montré des rendements compris entre 57 et 73%, suivant les enzymes utilisées sur le jus de prune. La liquéfaction permet un rendement d'extraction maximal de 78% pour les jus d'abricot (Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001). D'après le procédé de Siddiq, Arnold *et al.* (1994), après 6h de macération à température ambiante, le rendement de pressurage est de 60%. Chang, Siddiq *et al.* (1994) obtiennent après une macération enzymatique des prunes, des rendements compris entre 57 et 73%. Shalom, Gur-Arie *et al.* (1999) montrent le meilleur rendement en jus de prune avec 90% après un procédé de liquéfaction.

#### 3.2.1.4 Paramètres de l'extraction

Les mêmes caractéristiques d'extraction que celles détaillées dans le paragraphe précédent sont observées avec les différents fruits testés. En effet, il est bien observé pour l'ensemble des fruits les quatre étapes de l'extraction et un débit maximal obtenu lorsque la température est d'approximativement 100°C. Cependant la forme des courbes d'extraction diffère selon les fruits (Figure 47). En effet, la cinétique d'extraction de l'abricot ne montre pas réellement de plateau et paraît linéaire, avec une pente plus faible que pour les autres fruits testés. La pente pour l'extraction du jus de raisin est visuellement la plus forte montrant une diffusion rapide du jus. La montée en température est la plus rapide pour le raisin, permettant l'atteinte du débit maximal plus tôt. Cette montée est comparable pour les deux variétés de prunes. Elle est cependant très longue pour les abricots confirmant bien la difficulté d'extraction de ce fruit.

Les différents paramètres d'extraction mesurés ou calculés par l'application du modèle phénoménologique aux différentes puissances pour les différentes espèces de fruits et de variétés de prunes sont présentés dans le tableau XV. La durée d'extraction pour les fruits testés est comprise entre 17 et 24 minutes. Elle est plus courte pour les raisins suivis par les abricots et les prunes cv. Président, et pour finir, les prunes cv. Najbolia.





Le débit le plus élevé est obtenu avec l'extraction de raisins puis de prunes cv. Président. Il est diminué de moitié pour l'extraction des prunes cv. Najbolia et de deux tiers pour celle des abricots. Le temps moyen ( $t_0$ ) correspondant au temps nécessaire pour avoir la moitié du  $V_{max}$  est le plus court pour l'extraction à partir de raisins et prune cv. Najbolia. Pour la prune cv. Président et l'abricot, ce temps moyen est augmenté de 0,7 et 3,9 min respectivement. Le temps de latence est le plus court pour le raisin. Ce temps est augmenté d'approximativement 1 minute pour l'extraction de prunes cv. Président et de plus de deux minutes pour celle des prunes cv. Najbolia et abricots.

L'extraction de jus d'abricot se fait pour 250 grammes de matrice. Si nous émettons l'hypothèse (non vérifiée dans le cadre de cette thèse) que pour une masse doublée, avec les autres constantes identiques, le débit d'extraction reste inchangé, les temps (temps d'extraction, temps moyen et temps de latence) sont ainsi multipliés par 2, ce qui entrainerait un temps d'extraction total approximativement deux fois supérieur à celui des autres fruits testés. Ce résultat peut s'expliquer par la mousse formée lors de l'extraction, diminuant le débit d'extraction et engendrant des temps plus longs.

A partir des caractéristiques physiques du fruit, aucune tendance ne permet d'expliquer ces différents profils observés. En effet, le raisin, le plus petit des fruits testés ( $4 \text{ g} \pm 1$ ) présente les paramètres les plus adaptés à une extraction courte et optimale (rendement maximal, débit maximal, temps d'extraction, temps moyen et temps de latence minimaux). La taille des fruits pourrait donc intervenir sur l'extraction avec comme hypothèse que plus le fruit est petit, plus l'énergie micro-onde incidente sur la matrice alimentaire pourrait être absorbée au cœur du fruit, et faciliterait l'extraction. De plus, à masse égale, le volume du réacteur occupé par les raisins est inférieur à celui occupé par les prunes et les abricots. Or cette hypothèse n'est pas vérifiée avec les prunes cv. Najbolia, qui présentent des paramètres d'extraction moins favorables que la variété Président, plus grosse. Les rendements en jus pour l'extraction d'abricots sont comparables aux raisins, seulement les abricots à cause de leur réaction moussante au cours de l'extraction, présentent des temps largement supérieurs et ces résultats ne font pas de l'abricot un fruit adapté à ce procédé.

La permittivité  $\epsilon_r$  des aliments traduit la facilité avec laquelle les fruits interagissent avec les ondes, elles dépendent de deux facteurs :  $\epsilon_r = \epsilon' - \epsilon''$ . La constante diélectrique ( $\epsilon'$ ) correspond au stockage d'énergie micro-onde par la matrice alimentaire. Ce facteur est fortement dépendant de la teneur en eau du fruit. Le facteur de perte diélectrique ( $\epsilon''$ )

Tableau XVI : Moyenne des volumes extraits à trois densités de puissance 0,5, 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup> en jus de prune obtenus à partir de prunes cv. Président à maturité commerciale et surmature.

	Volume extrait (mL)	Débit d'extraction (mL.min <sup>-1</sup> )	t0 (min)
Prunes à maturité commerciale	208,4 <sup>a</sup>	30,0 <sup>a</sup>	5,2 <sup>a</sup>
Prunes surmatures	166,7 <sup>b</sup>	14,3 <sup>b</sup>	8,8 <sup>b</sup>
IC α=0.05	3.1	0.1	0.5

Moyennes des trois puissances, suivies par la même lettre : non significativement différent, d'après le test t de Student à une probabilité p=0.05, IC : intervalle de confiance pour un risque α=0.05

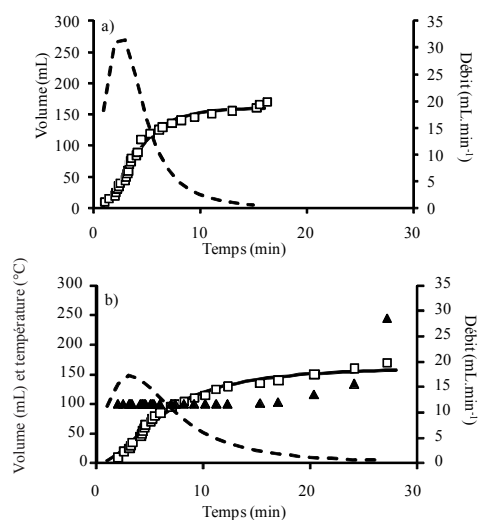


Figure 48 : Cinétique d'extraction à 1 W.g<sup>-1</sup> et modèle phénoménologique de jus de prune à partir de prunes cv. Président à maturité commerciale (a) et à surmaturité (b).

- ✓ ▲ Température
- ✓ □ Volume mesurés de la cinétique d'extraction (V=f(t))
- ✓ — Volume calculées par le modèle
- ✓ --- Débit d'extraction

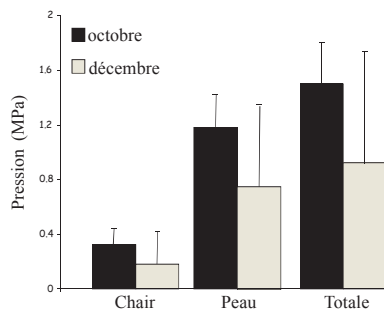


Figure 49 : Elasticité (MPa) de la peau, de la chair et élasticité totale des prunes cv. Président déterminées à partir de la force de rupture par pénétrométrie.

correspond à la dissipation de l'énergie par la matrice alimentaire sous forme de chaleur. Pour une matrice ayant  $\epsilon''$  élevée, le transfert d'énergie est faible et donc l'énergie micro-onde ne pénètre pas profondément dans la matrice (Sahin et Sumnu 2006). Ce facteur est dépendant de la densité du tissu, plus le tissu est dense, plus la pénétration sera freinée et plus le  $\epsilon''$  sera élevée. Le raisin est le fruit le plus dense, or il montre les caractéristiques les plus favorables à l'extraction. La table de permittivité des fruits (Chapitre 1) montre que le raisin n'est pas le fruit présentant les propriétés les plus propices à l'échauffement par micro-onde. Ici aussi, il est donc difficile de relier l'extraction du jus aux propriétés diélectriques du fruit. De plus, les constantes relatives à l'interaction des fruits avec les micro-ondes (constante diélectrique, facteur de perte) sont peu étudiées.

### 3.2.2 Maturité

Pour tester l'impact d'une surmaturité, les prunes cv. Président ont été conservées à 4°C pendant deux mois. Au bout de 2 mois de conservation, les fruits sont proches de la sénescence et la teneur en eau des prunes a diminué avec 84% ( $\pm 1$ ) en octobre et 77% ( $\pm 2$ ) en décembre. Ces résultats sont en accord avec la bibliographie (Blakey, Bower *et al.*, 2009) qui montre bien une perte en eau lors de la conservation des fruits.

Une diminution significative des rendements de jus est observée entre octobre et décembre (Tableau XVI). La figure 48 montre clairement un impact de la surmaturité sur les paramètres d'extraction. La pente de la cinétique d'extraction est visuellement moins inclinée que pour l'extraction avec des prunes à maturité commerciale, ce qui montre une extraction plus lente. Le débit diminué nous confirme la difficulté d'extraction du jus des prunes surmatures. Les paramètres du modèle nous renseignent sur l'impact de la surmaturité sur l'extraction (Tableau XVI): le débit d'extraction est diminué de moitié, et le  $t_0$  augmenté d'un tiers.

De même les propriétés physiques du fruit ont changé comme le montre la perte d'élasticité (Figure 49). Une explication à la perte de rendement pourrait être la diminution de l'élasticité des fruits, ainsi, les barrières physiques contraignant la libération du jus sont moins aptes à la rupture.

Une autre hypothèse pouvant expliquer ce phénomène serait l'augmentation de matière sèche, notamment de la teneur en pectine qui freinerait l'extraction. En effet, de

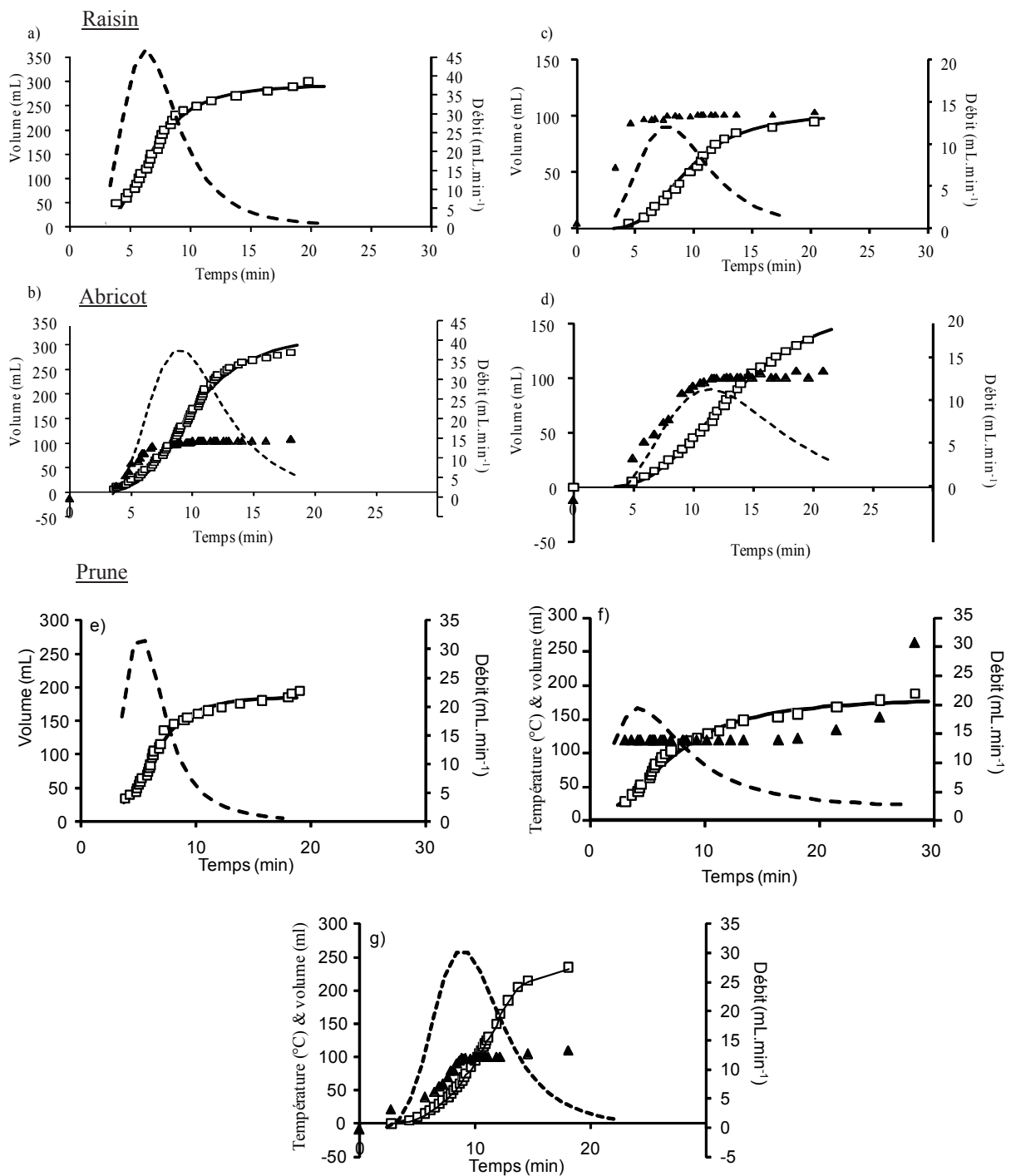


Figure 50 : Cinétique d'extraction à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  et modèle phénoménologique a et b) extraction à partir raisins a) frais b) congelés ; c et d) extraction à partir d'abricots c) frais et d) congelé ; e, f et g) à partir de prunes cv. Président e) frais, f) surmatures et g) congelés

- ✓ ▲ Température
- ✓ □ Volume mesuré de la cinétique d'extraction ( $V=f(t)$ )
- ✓ — Volume calculé par le modèle
- ✓ --- Débit d'extraction

nombreuses études sur la maturation des fruits ont montré une augmentation de la teneur en pectines solubles au cours de la maturation (Femenia, Sanchez *et al.*, 1998; Duan, Cheng *et al.*, 2008).

### 3.2.3 Etats des fruits : frais et congelés

La figure 50 représente les cinétiques d'extraction à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  des différents fruits testés.

Nous nous proposons d'examiner l'influence de l'état congelé ou frais des fruits, indépendamment de la puissance appliquée. Pour cela, les données représentées en figure 51 sont le rapport entre la moyenne des paramètres des extractions aux trois puissances pour les fruits congelés et cette même moyenne pour les fruits frais. Dans un second temps, l'influence de la décongélation/déstructuration préalable de la prune cv. Président sur l'extraction sera discutée.

#### 3.2.3.1 Paramètres du modèle

Les cinétiques d'extraction pour le raisin à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  (Figure 50 a,b) montrent un rendement similaire, cependant la tangente de la cinétique d'extraction présente une pente plus faible pour l'extraction à partir de fruits congelés, ainsi un débit plus faible. De plus, le débit maximal est atteint plus tard dans l'extraction, générant ainsi une durée plus longue de la phase d'augmentation du débit. Le temps de latence, le temps nécessaire pour obtenir la moitié du volume maximal théorique ( $t_0$ ) et le débit maximal sont significativement différents entre l'extraction à partir de raisins frais (RF) et congelés (RC) (p value=0,05) (Figure 51 a). Le temps de latence et le  $t_0$  sont augmentés et le débit maximal diminué à partir des raisins congelés. Pour ces jus RC, le débit maximal plus faible est compensé par une phase d'augmentation du débit plus longue (indiquée par le  $t_0$ ), responsable de rendements en jus similaires entre les deux profils d'extraction.

Les cinétiques d'extraction pour l'abricot à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  (Figures 50 c,d) montrent un rendement d'extraction supérieur pour l'extraction à partir d'abricots congelés, avec des pentes équivalentes donc des débits similaires. Par contre, le débit maximal est plus tardivement atteint pour les fruits congelés impliquant une durée plus longue de la phase d'augmentation du débit. Les rendements d'extraction en jus et le temps nécessaire pour

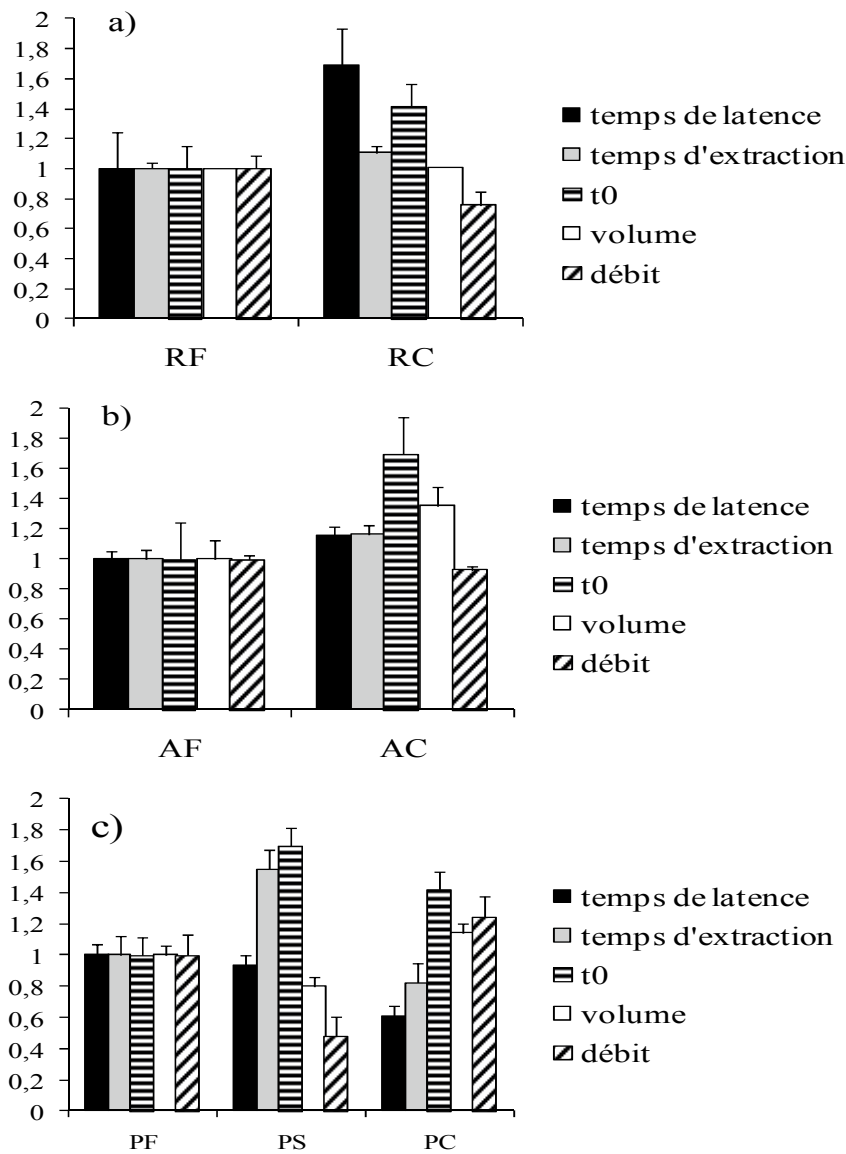


Figure 51 : Rapport des différents temps ( $t_0$ , temps d'extraction et temps de latence) et des paramètres de l'extraction (volume collecté, débit maximal) pour l'extraction des jus d'abricot, jus de raisins et jus de prunes cv. Président. Les valeurs pour les jus issus de fruits frais (JF) sont normalisées à 1 et le rapport JC/JF (jus issus de fruits congelés/frais) est calculé a) AF : jus d'abricot extrait à partir d'abricots frais, AC : jus d'abricot extrait à partir d'abricots congelés b) RF jus de raisin extrait à partir de raisins frais RC : jus de raisin extrait à partir de raisins congelés, c) PF jus de prune extrait à partir de prunes fraîches à maturité commerciale PS : jus de prune extrait à partir de prunes surmatures, PC : jus de prune extrait à partir de prunes congelées.

obtenir la moitié du volume maximal théorique ( $t_0$ ) sont significativement augmentés ( $p$ value=0.01) pour l'extraction d'abricots congelés, cependant, le débit maximal est similaire, avec une phase d'augmentation du débit plus longue ( $t_0$ ), expliquant les rendements en jus similaires entre ces deux profils d'extraction (Figure 51b).

Les cinétiques d'extraction des prunes (Figure 50 e,f,g) à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  montrent un rendement en jus supérieur pour l'extraction à partir de fruits congelés. La pente de la cinétique d'extraction est comparable entre les prunes congelées et les prunes fraîches montrant une diffusion facilitée comparée aux prunes surmatures pour lesquelles la pente est plus faible. Le débit maximal est atteint plus rapidement pour l'extraction avec les fruits non congelés.

Une nette tendance à l'augmentation du débit et du rendement en jus est observée pour l'extraction à partir de prunes congelées (PC) (Figure 51c).

Les raisins et les prunes ont été congelés a posteriori des expérimentations réalisées avec les fruits frais, ainsi les prunes congelées ont un niveau de maturation quasi-équivalent aux prunes surmatures. L'impact de la surmaturité sur l'extraction a été discuté dans le paragraphe précédent. Ainsi, la tendance observée entre les jus de prunes à maturité commerciale et les jus de prunes congelées devient statistiquement significative lorsque les jus issus de prunes surmatures et les jus de prunes congelées sont comparés. Le temps d'extraction est significativement diminué entre les jus de prunes surmatures et les jus de prunes congelées alors que le  $t_0$  est significativement augmenté ( $p$  value=0.05), indiquant une phase d'augmentation du débit plus longue. Il est ainsi justifiable de penser que des paramètres différents auraient dû être obtenus pour les extractions de raisins avec des fruits à la même maturité, notamment une augmentation significative de rendement en jus.

La congélation semble avoir un impact positif sur le rendement en jus, causé soit par une augmentation du débit dans le cas de la prune, soit par une durée augmentée de la phase d'extraction efficace dans le cas de l'abricot et du raisin. La congélation faciliterait l'extraction des jus par une perte de structure des fruits provoquée par la croissance des cristaux de glace (Petzold et Aguilera, 2009). De plus, la production de vapeur d'eau est plus importante pour les fruits frais. Ceci pourrait participer à expliquer les rendements plus élevés observés avec les fruits congelés. La glace intervient dans ce système et agit tel un tampon, en consommant la chaleur pour la décongélation.

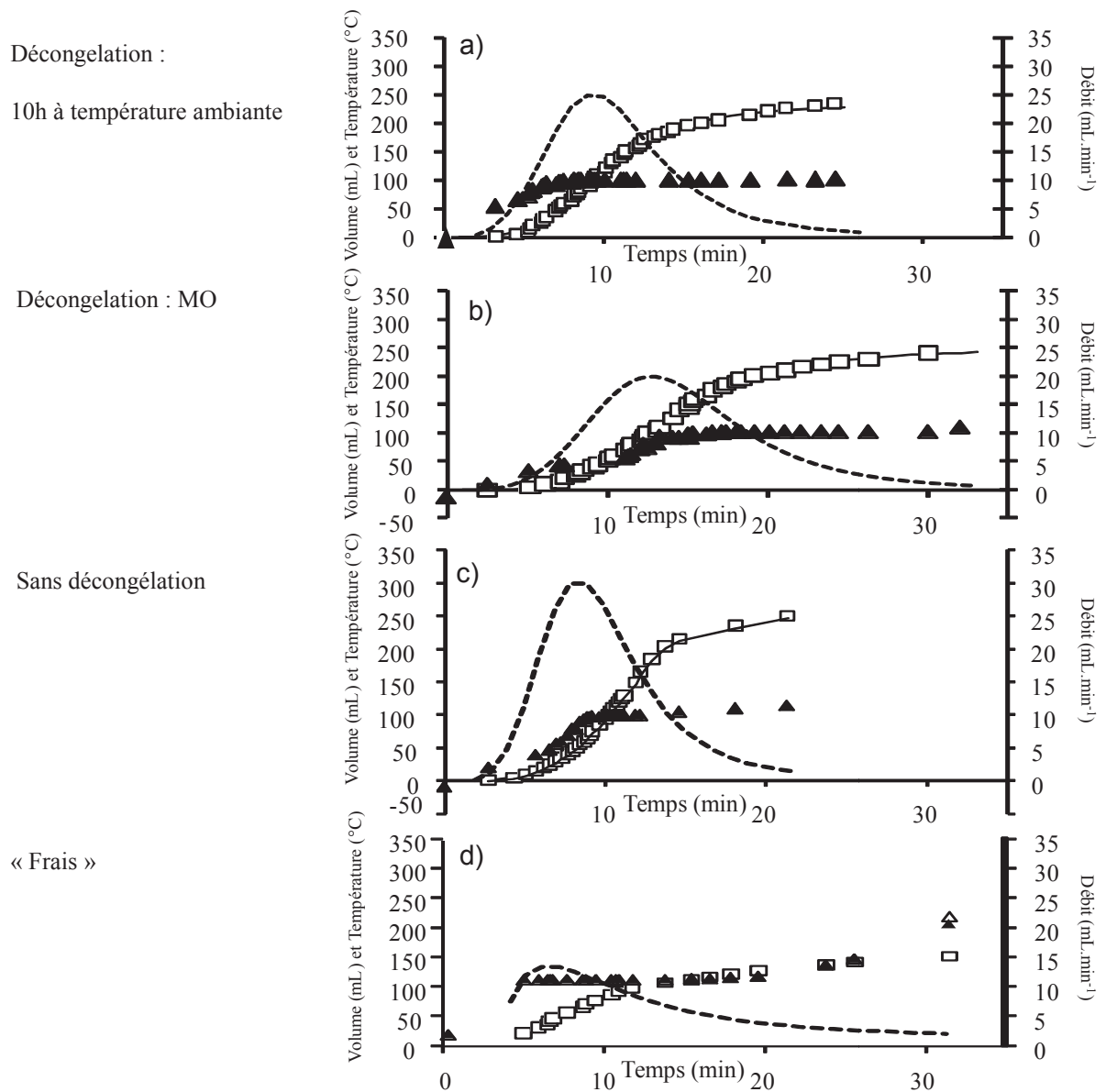


Figure 52 : Cinétique d'extraction et modèle phénoménologique de quatre variantes d'extraction par micro-onde. Les paramètres variables sont la décongélation préalable des fruits : a) décongélation 10h à température ambiante (variante A). b) décongélation préalable 6 min par micro-onde à 200W (variante B). c) aucun temps de décongélation (variante C) ou d) l'utilisation de prunes fraîches (variante D).

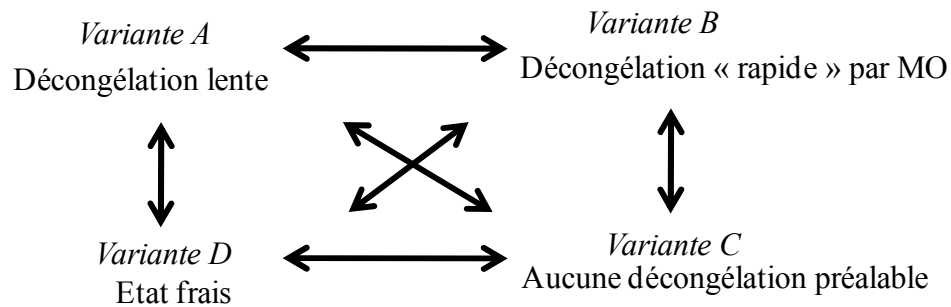
- ✓ ▲ Température
- ✓ □ Volume mesuré de la cinétique d'extraction ( $V=f(t)$ )
- ✓ --- Volume calculé par le modèle
- ✓ --- Débit d'extraction



### 3.2.3.2 Impact d'une décongélation et déstructuration

Cette partie a pour objectif de répondre à l'hypothèse suivante: quel va être l'impact d'une déstructuration plus ou moins intense des fruits liée à la (dé)congélation sur la cinétique et les paramètres de l'extraction ?

Pour répondre à cette hypothèse, nous allons regarder quatre variantes de l'état des fruits au départ de l'extraction :



- ✓ La variante A correspond à une extraction avec des prunes congelées avec une décongélation totale préalable de 10h à température ambiante. Lors de cette décongélation à température ambiante 38 ( $\pm 4$ ) mL de jus de prunes ont été collectés.
- ✓ La variante B correspond à une extraction avec des prunes congelées avec une décongélation préalable «rapide» au micro-onde à 200W, pendant 6 min.
- ✓ La variante C correspond à une extraction avec des prunes congelées sans décongélation préalable.
- ✓ La variante D correspond à une extraction avec des prunes surmatures.

Les cinétiques d'extraction sont présentées en figure 52, et les paramètres mesurés et calculés dans le tableau XVII.

L'état initial du fruit affecte effectivement de façon marquée le procédé d'extraction, à la fois en terme de volumes extraits mais aussi d'intensité et de durée des différentes phases.

Le temps le plus court avant le début de l'extraction est observé pour la variante B (fruits décongelés 6 min au micro-onde). Les températures au début de l'extraction sont aussi très différentes : avec les fruits frais elle démarre lorsque la température atteint 100°C, comme observé précédemment. Par contre pour les fruits congelés (variantes A à C), dont

Tableau XVII : Paramètres d'extraction de quatre variantes d'extraction par micro-onde. Les paramètres variables sont la décongélation préalable des fruits : a) décongélation 10h à température ambiante (procédé A), b) décongélation préalable 6 min par micro-onde à 200W (procédé B), c) aucun temps de décongélation (procédé C) ou d) l'utilisation de prunes fraîches (procédé D).

	Temps de latence (min)	Température de départ d'extraction (°C)	t0 (min)	Débit max (mL.min-1)	Perte lors de la décongélation préalable (mL)	Temps d'extraction (min)	Volume collecté (mL)
Procédé A	3,3 ±0,0	63,4 ±13,6	9,7 ±0,4	24,4 ±0,8	38 ±2	25,7 ±1,2	240 ±0
Procédé B	1,5 ±0,4	7,0 ±5,7	14,3 ±0,8	20,9 ±1,3	aucune	31,5 ±0,6	240 ±10
Procédé C	3,4 ±0,9	21 ±1	8,1 ±0,7	35 ±4		19,4 ±0,4	240 ±15
Procédé D	3,0 ±0,5	98,3	7,6 ±1,0	12 ±3		27,9 ±0,7	160 ±15

Tableau XVIII : Evolution de la viscosité des jus de prune issus de prunes cv. Président à 1 W.g<sup>-1</sup> au cours de l'extraction suivant quatre variante de procédés différentes : procédé A : décongélation 10h à température ambiante, procédé B : décongélation préalable 6 min par micro-onde à 200W, procédé C : aucun temps de décongélation, procédé D : utilisation de prunes fraîches.

Extraction	VISCOSITE (Pa.s <sup>-1</sup> )			
	Procédé A	Procédé B	Procédé C	Procédé D
Jus 1	0,169	0,095	0,0765	0,399
Jus 2	0,192	0,115	0,051	0,421
Jus 3	0,117	0,125	0,069	0,067
Jus 4	0,117	0,129	0,063	0,004
Jus 5	0,027	0,099		
Jus 6	0,001 (=η eau)	0,002	0,0092	
Jus 7		0,0015		

l'architecture tissulaire et les cellules ont été déstructurées par la croissance des cristaux de glace, des températures nettement plus faibles sont observées. La température la plus faible au démarrage de l'extraction est observée justement pour la variante B. A la fin des 6 min de décongélation à faible puissance, la température mesurée dans le fruit est encore négative ( $-3,2^{\circ}\text{C} \pm 1,8$ ) donc une partie du temps d'extraction sert au conditionnement du fruit. Le début de l'extraction correspond à un écoulement du jus superficiel à travers le tissu déstructuré, soit pour la variante A aux 38 mL de jus s'étant écoulés avant le début du procédé. Dans cette variante, l'extraction commence à environ  $60^{\circ}\text{C}$ . Pour la variante C (fruits non décongelés) la première goutte est observée pour une température d'environ  $20^{\circ}\text{C}$  à cœur du fruit. Etant donné que l'échauffement est plus rapide au cœur du fruit, nous pouvons penser que ces  $20^{\circ}\text{C}$  « à cœur » pourraient correspondre à la fonte des parties les plus externes.

Les débits sont également très variables selon le procédé. Le débit maximal le plus élevé est obtenu pour la variante C c'est-à-dire le fruit non décongelé. Le débit maximal le plus faible est mesuré pour le fruit frais. La déstructuration préalable du fruit facilite l'écoulement du jus, ce qui est souligné par les volumes collectés, qui sont très significativement diminués pour cette variante D (fruit frais). Cependant la décongélation préalable, probablement par un effet sur les parois, conduit à une augmentation de la rétention d'eau, ainsi un frein à l'écoulement, comme observé dans les méthodes classiques d'extraction.

Enfin la durée de la phase d'augmentation du débit et le  $t_0$  temps nécessaire pour atteindre la moitié du volume collecté, varient avec le procédé. Pour le fruit congelé (variante C) et décongelé au préalable (variante B) cette phase d'augmentation du débit est courte et coïncide avec l'augmentation de la température jusqu'au seuil de  $100^{\circ}\text{C}$ . Quand l'hydrodiffusion commence, la partie la plus facilement disponible de l'eau est déjà extraite. Au contraire pour la variante A, il y a une phase d'augmentation de débit à  $100^{\circ}\text{C}$  donc une participation plus importante de l'hydrodiffusion, seul mécanisme responsable de l'extraction dans la variante D.

La phase d'épuisement (diminution du débit) est majoritaire pour le fruit frais, et plus longue pour les fruits décongelés (variantes A et B) que pour le fruit traité directement sans

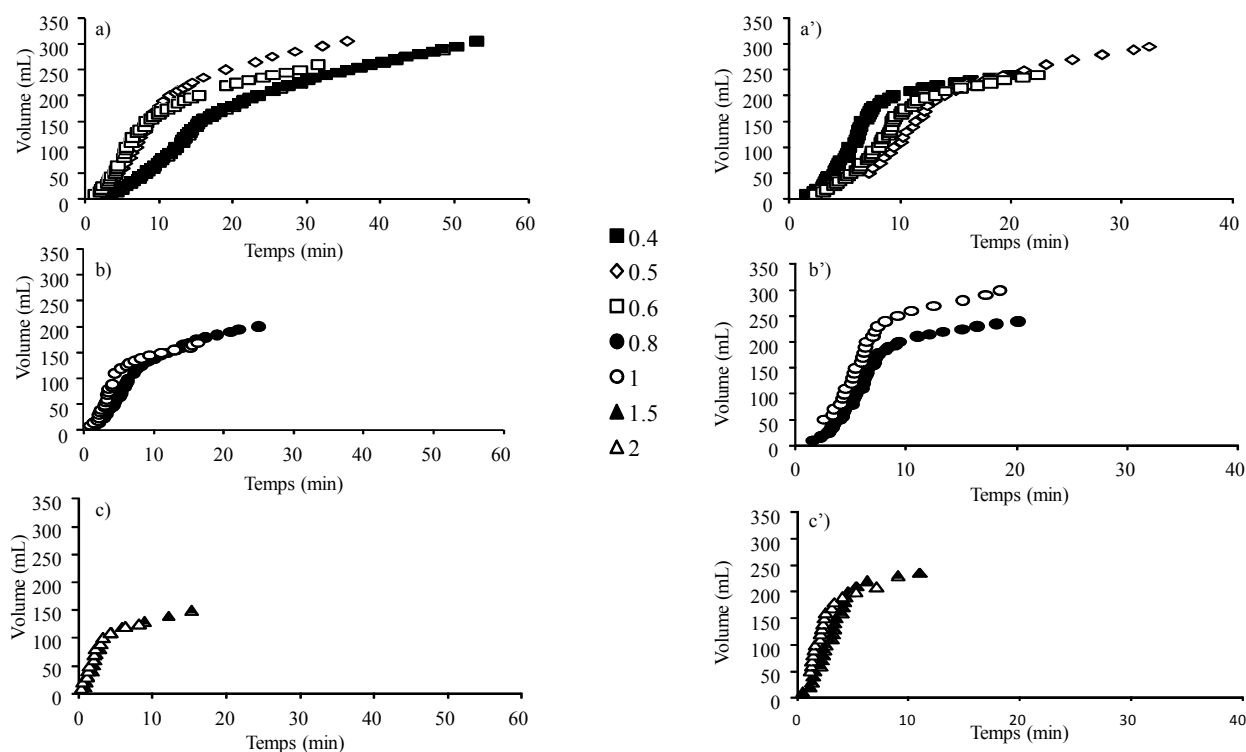


Figure 53 : Cinétique d'extraction de la prune et du raisin frais en fonction de la densité de puissance. Ces tests ont été réalisés sur des fruits à maturité commerciales. a et a' à une densité de puissance de 0.4. 0.5 et 0.6  $\text{W.g}^{-1}$  pour la prune et le raisin respectivement. b et b' à une densité de puissance de 0.8. et 1  $\text{W.g}^{-1}$  pour la prune et le raisin respectivement et c et c' à une densité de puissance de 1.5 et 2  $\text{W.g}^{-1}$  pour la prune et le raisin respectivement.

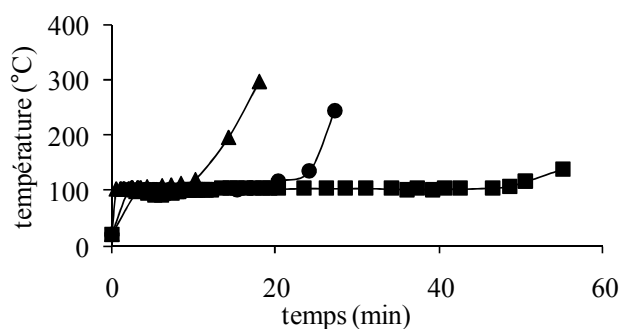


Figure 54 : Evolution de la température durant l'extraction de jus de prunes fraîches cv. Président à trois densités de puissance.

- 0.5  $\text{W.g}^{-1}$
- 1  $\text{W.g}^{-1}$
- ▲ 1.5  $\text{W.g}^{-1}$

décongélation. Ces résultats peuvent être mis en parallèle avec l'évolution de la viscosité des jus (Tableau XVIII). En effet alors que la viscosité est plus élevée en début d'extraction pour les procédés A et D, elle augmente au cours de l'extraction pour les procédés B et C. Les derniers jus extraits sont en général très peu visqueux. La viscosité du jus est maximale dans le procédé D, c'est-à-dire à partir de fruit frais : les pectines sont entraînées par le jus sans avoir été altérées par les enzymes pectolytiques endogènes du fruit. Il faudrait connaître précisément les activités pectolytiques dans le fruit, et spécifiquement l'équilibre polygalacturonase / pectinéméthylestérase, pour mieux expliquer les variations de viscosité entre les procédés à partir de fruits congelés. En effet d'une part l'expression de la PME dans un fruit déstructuré conduit à une augmentation de la réticulation des pectines pariétales par la formation de liaisons calcium supplémentaires, alors que d'autre part, la polygalacturonase augmente la libération des pectines, avec une balance à faire entre libération et dégradation (diminution de la masse molaire). La viscosité des jus va aussi contribuer à en ralentir l'extraction en ralentissant leur écoulement à travers les tissus du fruit.

La couleur des jus va également varier de façon différentielle. En particulier dans le procédé A, le jus écoulé avant traitement et le jus de début d'extraction sont bruns, marquant l'existence d'une oxydation. Dans toutes les variantes, le jus obtenu en fin d'extraction est pale ou incolore. Les phases intermédiaires sont de rose à rouge, avec une couleur maximale lors de la phase d'écoulement rapide (Figure 72).

En résumé, une décongélation préalable n'est pas nécessaire pour l'obtention d'un meilleur rendement, et au contraire l'absence de décongélation permet un gain de temps dans l'extraction. De plus, une décongélation préalable à température ambiante entraîne une oxydation des jus, et ainsi une qualité organoleptique diminuée.

### **3.3 Procédés**

#### **3.3.1 Tests préalables**

Nous nous sommes basés sur les paramètres propres du micro-onde pour tester la plus large gamme de puissances possibles. Ces tests ont été réalisés au début de cette thèse, les résultats de ces tests initiaux nous ayant permis de définir les puissances à appliquer ensuite. Ils ont été réalisés sans faire de duplicat technologique. Ainsi, les tests sont réalisés pour 500 g de prunes ou de raisins, de 200 à 1000 W avec une incrémentation de 100 W jusqu'à 500 W,

Tableau XIX : Paramètres d'extraction et paramètres du modèle à différentes densités de puissance pour les raisins et les prunes cv. Président à maturité commerciale.

<b>PRUNES cv. Président</b>						
<b>Densité de puissance (W.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Volume extrait (mL)</b>	<b>Temps d'extraction (min)</b>	<b>b</b>	<b>t<sub>0</sub> (min)</b>	<b>Temps de latence (min)</b>	<b>Débit (mL.min<sup>-1</sup>)</b>
<b>0,4</b>	305	53	-2,0	17,8	6	12
<b>0,5</b>	305	36	-2,4	9,0	7,4	24
<b>0,6</b>	305	32	-2,0	7,6	5,6	21
<b>0,8</b>	200	25	-2,2	6,9	4,3	20
<b>1</b>	170	16	-2,8	3,9	4	31
<b>1,5</b>	150	15	-2,4	2,7	2,5	35
<b>2</b>	125	8	-1,8	2,1	2	38
<b>RAISINS</b>						
<b>0.4</b>	325	53	-2,9	16,5	2,7	17
<b>0.5</b>	295	32	-3,4	11,4	2,9	24
<b>0.6</b>	245	26	-3,3	8,6	1,7	26
<b>0.8</b>	240	20	-3,4	5,9	1,4	37
<b>1</b>	300	19	-3,1	5,5	1,3	45
<b>1.5</b>	235	11	-2,6	3,1	1	60
<b>2</b>	210	7	-2,4	1,8	0,5	87

à 750 W et à 1000 W avec des fruits frais. Les résultats présentés en première partie ont été obtenus à partir de prunes et de raisins à maturité commerciale.

### 3.3.1.1 Tests sur les fruits frais

La figure 53 montre les cinétiques d'extraction des prunes et des raisins frais aux différentes puissances. La quatrième étape de l'extraction, c'est à dire le plateau, n'est pas clairement atteint, cependant l'étape 3 définie par un ralentissement de l'extraction est plus rapidement atteinte avec l'augmentation de puissance. Visuellement, la pente augmente avec l'évolution de puissance pour les deux fruits testés, montrant une extraction plus intense du fruit (Figure 53).

D'après le tableau XIX, pour la prune fraîche, à  $0,4 \text{ W.g}^{-1}$  et  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$ , le rendement d'extraction est supérieur à 60% et diminue progressivement avec l'augmentation de puissance appliquée, pour atteindre le plus faible rendement à  $2 \text{ W.g}^{-1}$  (25%). Ainsi, une diminution continue du volume collecté est observée avec l'augmentation de puissance.

Il y a aussi un impact de la puissance sur la durée d'extraction. En effet, celle-ci est fortement diminuée avec l'augmentation de puissance. Une extraction totale de jus se passe en 53 min à  $0,4 \text{ W.g}^{-1}$ , alors qu'à  $2 \text{ W.g}^{-1}$ , celle-ci se passe en 8 min. Le temps de latence est aussi diminué avec l'augmentation de puissance. A  $0,4 \text{ W.g}^{-1}$ , le temps de latence est de 6 min et à  $2 \text{ W.g}^{-1}$ , celui-ci est de 2 min (Tableau XIX). Cette observation est confirmée par le  $t_0$ , temps nécessaire pour obtenir le  $V_{\max}/2$  qui est de 17,8 min contre 2,1 min. De plus, l'augmentation de puissance est corrélée positivement avec l'augmentation du débit maximal. En effet, le débit maximal est de  $12 \text{ mL.min}^{-1}$  à  $0,4 \text{ W.g}^{-1}$ , alors que celui-ci est plus de 3 fois supérieur à  $2 \text{ W.g}^{-1}$ . Pour exemple, le temps d'extraction nécessaire pour l'extraction de 200 mL est trois fois plus court à  $2 \text{ W.g}^{-1}$  qu'à  $0,4 \text{ W.g}^{-1}$  (Tableau XIX). Cependant aucune proportionnalité n'est observée entre l'augmentation de puissance et le débit des jus de prune.

Pour l'extraction avec les raisins frais, les mêmes effets sont observés. A  $0,4 \text{ W.g}^{-1}$ , le rendement d'extraction est maximal alors qu'il est diminué de 1,4 fois pour une extraction à  $2 \text{ W.g}^{-1}$ . Une diminution continue du rendement est observée entre  $0,4$  et  $2 \text{ W.g}^{-1}$ , à l'exception du jus extrait à  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$ . Ce résultat pourrait être lié à l'arrêt subjectif de la manipulation. En effet, l'arrêt de la collecte se fait habituellement lors de la montée brutale de température or cette extraction a été poussée au-delà de ce seuil. Concernant les paramètres relatifs au temps d'extraction, nous voyons que le  $t_0$  diminue en fonction de l'augmentation de puissance. En

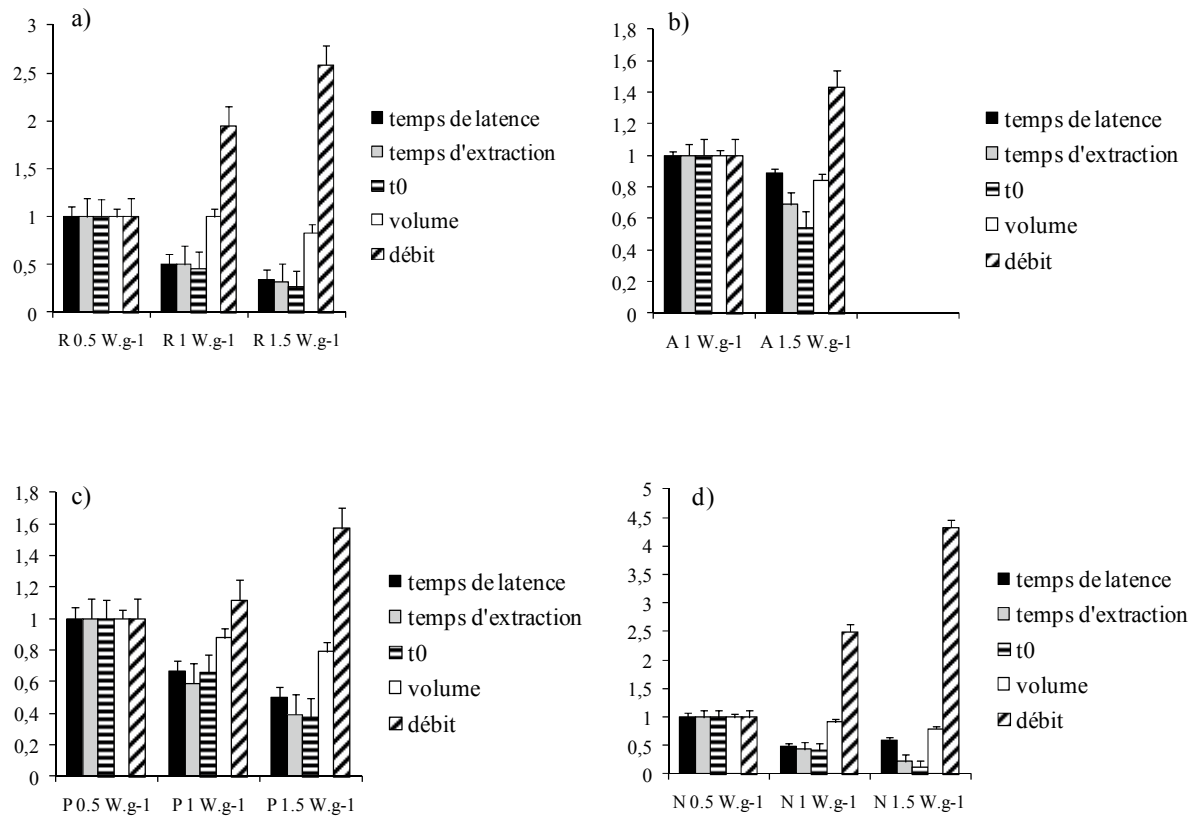


Figure 55 : Rapport des différents temps ( $t_0$ , temps d'extraction et temps de latence) et des paramètres de l'extraction (volume collecté, débit maximal) pour l'extraction des jus de d'abricot, jus de raisins et jus de prunes cv Président. Les valeurs pour les jus extraits à  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$  sont normalisées à 1 et le rapport des valeurs  $1 \text{ W.g}^{-1}/0,5 \text{ W.g}^{-1}$  et  $1,5 \text{ W.g}^{-1}/0,5 \text{ W.g}^{-1}$  est calculé. R : jus de raisin, A : jus d'abricot, P : jus de prune cv Président, N : jus de prune cv Najbolia.



effet, celui-ci varie de 2,55 min à 0,31 min pour  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$  et  $2 \text{ W.g}^{-1}$ . L'augmentation de débit permet d'expliquer la diminution du temps d'extraction qui passe de 53 min à 7 min entre  $0,4 \text{ W.g}^{-1}$  et  $2 \text{ W.g}^{-1}$ . En effet, le débit maximal est multiplié par 5 entre ces deux puissances (passage de 17 à  $87 \text{ mL.min}^{-1}$ ). Une corrélation peut être établie entre l'augmentation de puissance et l'augmentation de débit (tableau XIX).

### 3.3.1.2 Evolution des températures d'extraction

L'augmentation de la puissance d'extraction permet une montée plus rapide en température (Figure 54). En effet, si la température est stable à environ  $100^\circ\text{C}$  pendant l'extraction des jus, la durée de la montée en température et donc l'apparition de la première goutte est réduite (30 min à  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$ , 15 min à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  et 8 min à  $1,5 \text{ W.g}^{-1}$ ). Par contre, les températures s'emballent beaucoup plus vite pour des puissances élevées. Quelques extractions ont été poussées jusqu'à n'avoir plus aucun écoulement de jus, la température atteint  $115^\circ\text{C}$ ,  $245^\circ\text{C}$  et dépasse les  $300^\circ\text{C}$  à  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$ ,  $1 \text{ W.g}^{-1}$  et  $1,5 \text{ W.g}^{-1}$  respectivement. Le suivi des températures à différentes puissances lors de l'extraction à partir de fruits congelés n'a pu être réalisé qu'à  $1 \text{ W.g}^{-1}$ , ce qui ne permet pas d'observer l'impact de la puissance. Cependant, nous pouvions nous attendre à une augmentation en température plus rapide quand la puissance augmente, entraînant un temps de latence diminué, et une extraction plus réduite. Les expérimentations réalisées dans le cadre du master sur les petits fruits rouges confirment l'impact de la puissance sur la montée rapide en température dans la première partie de l'extraction et une durée réduite à  $100^\circ\text{C}$  dans la seconde partie de l'extraction (résultats non montrés) (Hoerlé,2010).

### 3.3.2 Impact de la puissance

A partir de ces tests, nous avons choisi d'appliquer trois puissances d'extraction :  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$ ,  $1 \text{ W.g}^{-1}$  et  $1,5 \text{ W.g}^{-1}$ , afin de couvrir la gamme testée. Dans cette partie, nous traiterons les résultats indépendamment de l'état initial des fruits. Pour cela, les données représentées en figure 55 sont le rapport des différents paramètres d'extraction entre  $1 \text{ W.g}^{-1}$  et  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$  et entre  $1,5 \text{ W.g}^{-1}$  et  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$ .

Le temps de latence, le temps nécessaire pour obtenir la moitié du volume maximal théorique ( $t_0$ ), le temps d'extraction et le débit maximal sont significativement différents entre

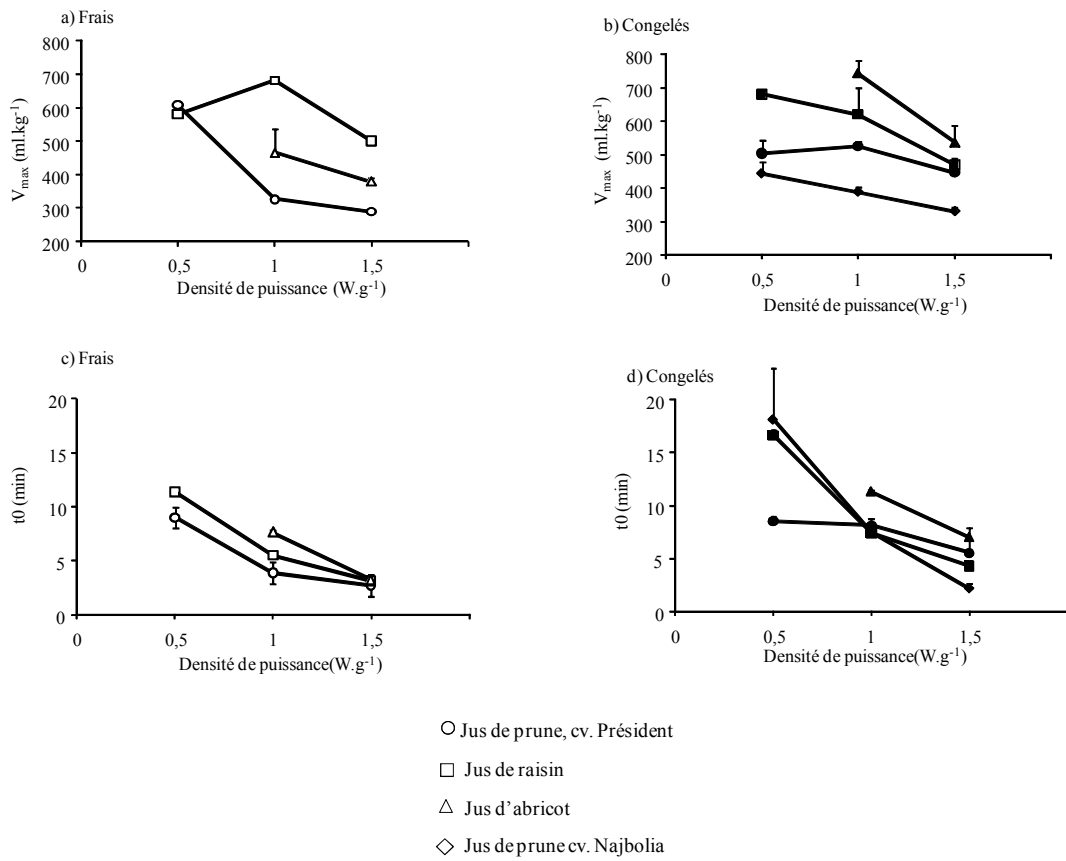


Figure 56 : Paramètres  $t_0$  (temps nécessaire pour obtenir la moitié du  $V_{max}$ ) et  $V_{max}$  (Volume théorique maximal collecté) calculés à partir du modèle phénoménologique pour l'extraction d'abricots, de raisins, de prunes cv. Président et Najbolia. a) et b)  $V_{max}$  pour des fruits frais et congelés respectivement ; c) et d)  $t_0$  pour des fruits frais et congelés respectivement

0,5 W.g<sup>-1</sup> et 1 W.g<sup>-1</sup> et entre 1 W.g<sup>-1</sup> et 1,5 W.g<sup>-1</sup> (*pvalue*=0.05). Ces résultats sont observés pour les extractions de jus de raisins et d'abricot (figure 55 a, b). Les temps relatifs à l'extraction sont diminués, et les débits sont augmentés proportionnellement à l'augmentation de puissance. En exemple, la figure 56 illustre la diminution proportionnelle du temps  $t_0$  en fonction de la puissance pour les raisins et abricots. Le volume collecté montre une tendance nette à la diminution mais celle-ci n'est pas significative.

Pour les extractions à partir des prunes cv. Najbolia (Figures 55 d et 56 d), la même tendance se dessine, cependant, le manque de données ne nous permet pas d'affirmer la significativité.

Pour les prunes cv. Président, notamment pour l'extraction à partir de prunes congelées, les débits, les temps d'extraction et le rendement en jus sont similaires entre les extractions à 0,5 W.g<sup>-1</sup> et 1 W.g<sup>-1</sup>, alors que ces paramètres sont significativement différents entre ces deux puissances et 1,5 W.g<sup>-1</sup>. Cependant, le débit dans l'extraction des jus issus de prunes fraîches, surmatures ou entre 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup> pour les prunes congelées, ne varie pas proportionnellement avec l'augmentation de puissance contrairement à ce qui a pu être remarqué avec les autres fruits testés. En exemple, le  $t_0$  (Figure 56) ne montre pas de diminution proportionnelle à l'élévation de puissance pour les prunes congelées entre 0,5 W.g<sup>-1</sup> et 1 W.g<sup>-1</sup>. Ce profil atypique est difficilement explicable.

La combinaison des deux facteurs ( $t_0$  diminué et débit augmenté) engendre une diminution du rendement d'extraction dépendante de l'augmentation de puissance. L'augmentation du débit est clairement responsable de l'épuisement plus précoce de l'eau disponible du fruit. Cependant, les rendements théoriques d'extraction ( $V_{max}$ ) montrent qu'aucune proportionnalité ne peut se dégager entre l'augmentation de puissance et le volume, même si des tendances nettes à la diminution sont observées (Figure 55).

Une possible explication de ce phénomène est une formation plus importante de vapeur d'eau, ainsi la force de conduction permettant l'expulsion du jus est augmentée. Parallèlement à ce phénomène, une plus grande part de vapeur d'eau s'échappe du système, contribuant à la baisse du rendement. Ce phénomène a été confirmé lors de tests réalisés dans le cadre d'un stage de master où l'application de différentes densités de puissance combinée à un condenseur ne montre pas de différence significative de rendement en fonction de la puissance (Hoerlé, 2010).

Tableau XX : Paramètres d'extraction obtenus pour les jus issus de prunes congelées cv. Président et de raisins congelés à  $1\text{W.g}^{-1}$ . Deux types d'extractions sont réalisés : tube d'extraction et condenseur.

		Temps de latence (min)	Température de départ d'extraction (°C)	t0 (min)	Débit max (mL.min <sup>-1</sup> )	Temps d'extraction (min)	Volume collecté (mL)
Prunes cv. Président	Tube d'extraction	3,4±0,9	21±1	8,1±0,7	35±4	19,4±0,4	240±15
	Condenseur	5,8±0,2	27±1	19,9±0,0	20±1	38±2	378±7
Raisins	Tube d'extraction	2,5±0,3	13±4	7,4±0,3	35±3	17,6±3,0	255±30
	Condenseur	3,2±1,0	12±4		12	37±3	350±40

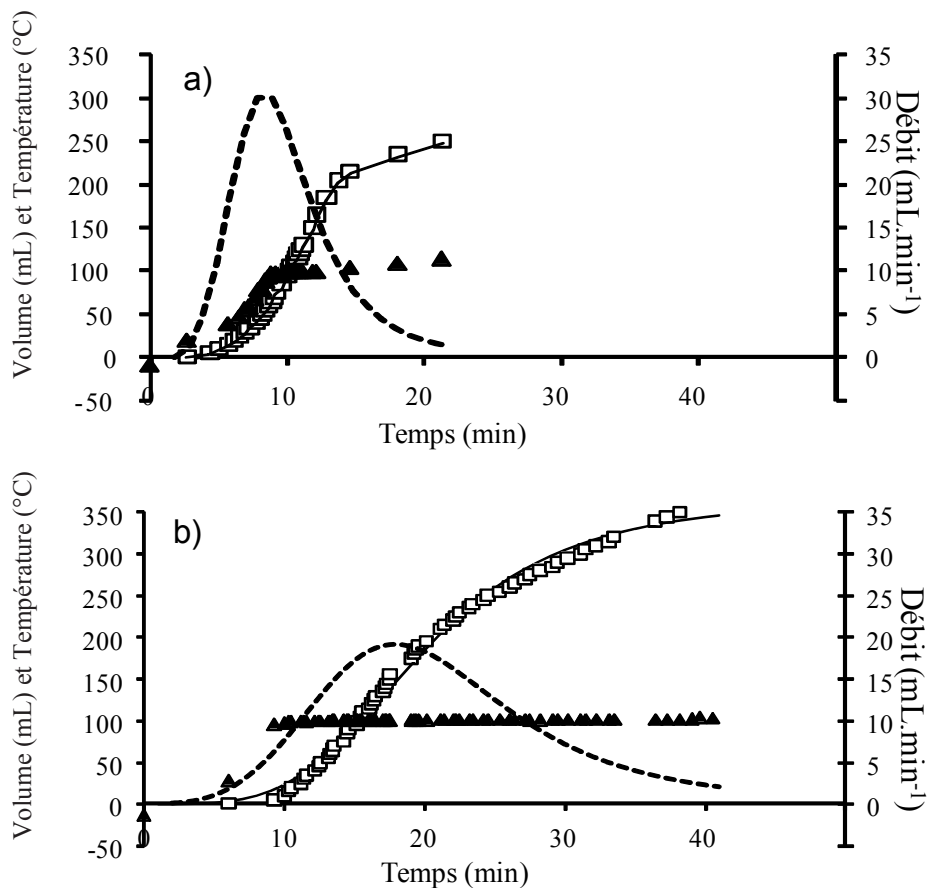


Figure 57 : Profil d'extraction de jus de prunes issus de prunes congelées cv. Président par micro-onde à  $1\text{W.g}^{-1}$  a) utilisation d'un tube d'extraction b) utilisation d'un condenseur

- ✓ ▲ Température
- ✓ □ Volume mesurés de la cinétique d'extraction ( $V=f(t)$ )
- ✓ — Volume calculées par le modèle
- ✓ --- Débit d'extraction

### 3.3.3 Mise en place d'un condenseur

Nous nous sommes rendues compte d'une perte d'eau, donc inévitablement, une perte de rendement en jus. En effet, les températures atteignant les 100°C, une partie de l'eau des fruits est convertie en vapeur qui s'échappe du système d'extraction. Ainsi, pour limiter cette perte d'eau, nous avons testé l'ajout d'un condenseur.

Le simple fait d'ajouter un condenseur permet une augmentation de 54% et 37% en moyenne pour les volumes récupérés des jus de prune et raisin à cause de la récupération de la vapeur (Tableau XX). L'ajout d'un condenseur a permis de récupérer environ 260 et 190 mL supplémentaires d'eau par kg de fruits (prunes et raisins respectivement), ce qui correspond à 760 et 420 kJ dissipés dans la production de vapeur (prunes et raisins respectivement). Le poids des résidus des prunes et des raisins mesurés après extraction, représente 20% ( $\pm 5\%$ ) du poids initial des prunes avant extraction, et 10% ( $\pm 4\%$ ) du poids initial des raisins avant extraction, indépendamment de la présence du réfrigérant. Les jus obtenus sans condenseur sont donc concentrés.

Les cinétiques obtenues avec et sans condenseur sont nettement différentes (Figure 57). Le débit est diminué et la durée de l'extraction augmentée en présence du condenseur. Les températures mesurées dans le cœur des fruits augmentent de façon similaire en début de traitement, mais la phase finale est très nettement retardée en présence du condenseur. Ce temps d'extraction plus long est imputable au débit approximativement deux fois moins élevé, puisqu'il est calculé pour 500g de prunes initiales à 20 mL.min<sup>-1</sup> avec condenseur contre 35 mL.min<sup>-1</sup> sans condenseur. Ceci nous a amenées à prendre en compte la phase d'écoulement des jus.

En effet, si nous émettons l'hypothèse que le jus extrait du fruit présente le même débit en sortie du fruit, alors cette différence est bien imputable au temps de passage dans le tube d'extraction ou le condenseur. En effet, l'épaisseur moyenne d'un film ruisselant le long d'une paroi est donnée par la relation suivante :

Tableau XXI : Evolution de la viscosité des jus de prune issus de prunes cv. Président à 1 W.g<sup>-1</sup> au cours de l'extraction avec un procédé avec condenseur et un tube d'extraction.

VISCOSITE DES JUS PENDANT L'EXTRACTION	VISCOSITE (Pa.s-1)	
	Condenseur	Tube d'extraction
Jus 1	0,0472	
Jus 2	0,114	0,0765
Jus 3	0,109	0,051
Jus 4	0,111	0,069
Jus 5	0,103	0,063
Jus 6	0,0229	
Jus 7	0,0229	0,0092
Jus 8	0,0092	

$$\delta = \left( \frac{3 \dot{m} \eta}{\rho^2 \pi d g} \right)^{0.33}$$

$\dot{m}$	Débit massique
$\rho$	Masse volumique
$\eta$	Viscosité
$d$	Diamètre
$g$	Accélération de la pesanteur

Autrement dit, si nous avons un débit de produit identique, plus le produit est visqueux, plus l'épaisseur du film est importante (la viscosité intervient à la puissance 0.33).

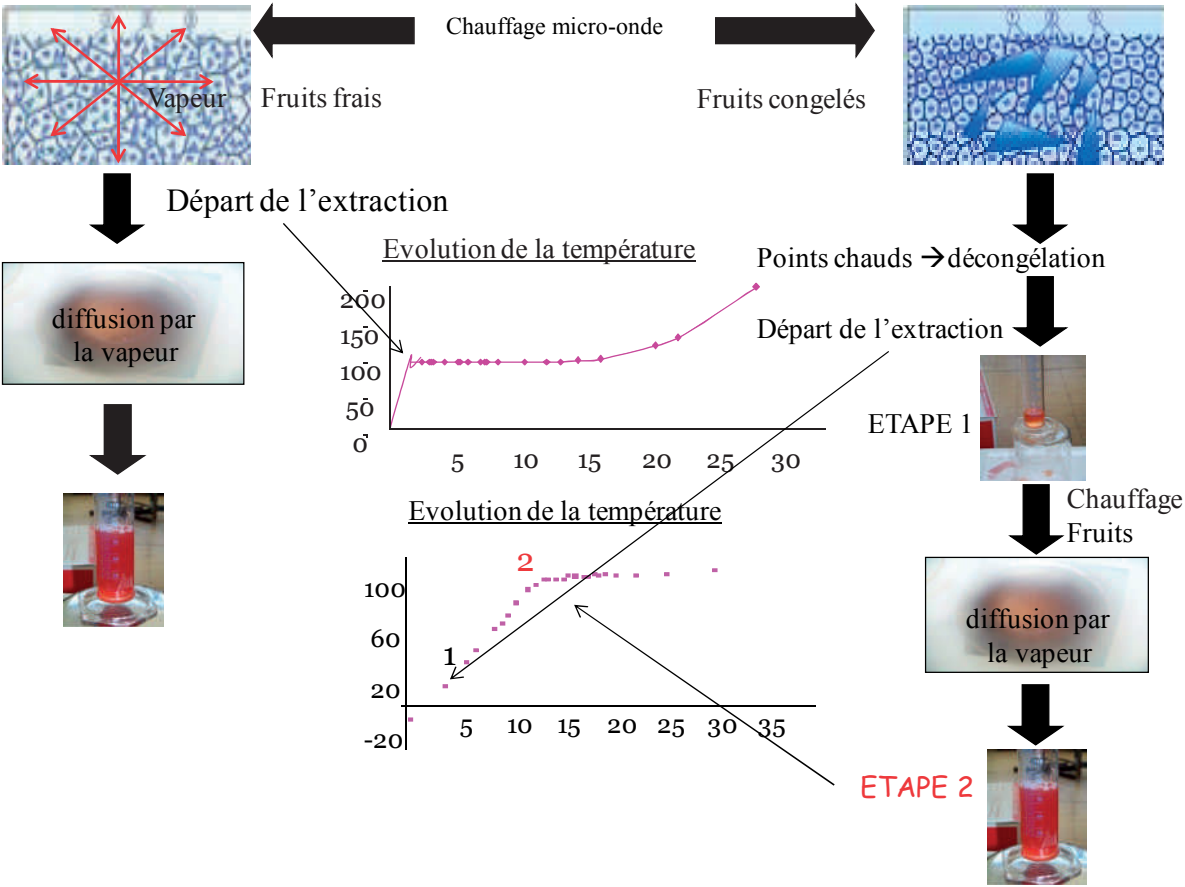
Le temps de passage du produit dans une installation est donné par :  $t = \frac{V}{\dot{V}}$

Donc, toutes choses étant égales par ailleurs, plus le produit est visqueux, plus le temps de passage est long, et plus il faut attendre pour voir apparaître le produit en bas du tube (Morison et Hartel, 2007). Une augmentation de l'épaisseur du film formée par le jus qui s'écoule dans le condenseur par rapport au simple tube a été identifiée. La viscosité des jus (Tableau XXI) est en moyenne plus élevée pour les jus extraits avec un condenseur que pour ceux extraits avec un tube. Ainsi le rapport de viscosité du jus ( $\eta_{\text{condenseur}} / \eta_{\text{tube}}$ ) au cours de l'extraction variant de 1,49 à 2,48, le film formé par le jus qui coule le long de la paroi interne du condenseur est plus épais que celui coulant dans le tube.

Le jus, en sortie du micro-onde est refroidi par le condenseur, et la viscosité d'une solution augmente en fonction de la diminution de température selon une équation différentielle type Arrhenius (Essa, 2002) :  $\eta = K_0 \exp(E_a/RT)$  ou  $\eta =$  viscosité ;  $K_0 =$  constante,  $T =$  température en K,  $E_a =$  énergie d'activation du débit et  $R =$  constante des gaz parfait (8,31 J.kg.K<sup>-1</sup>).

Ce procédé avec condenseur permet d'obtenir des rendements qui concurrencent, voir dépassent les résultats bibliographiques établis, notamment pour la prune où le rendement moyen obtenu est de 73,8%. Cependant, un rendement moyen inférieur de 15% est observé pour le jus de raisin obtenu par micro-onde comparé aux données bibliographiques de Lieu et Le, (2010). Malgré ces rendements augmentés, l'ajout du condenseur présente un aspect

Figure 58 : Mécanismes hypothétiques de l'extraction à partir de fruits frais (à gauche) et fruits congelés (à droite).





négatif, puisque celui-ci en refroidissant le jus ne permet pas son autopasteurisation en sortie du micro-onde.

### **3.4 Conclusion**

Cette partie a eu pour objectifs de tester la viabilité du procédé et d'optimiser les rendements d'extraction afin d'être potentiellement concurrentiel avec les rendements publiés sur d'autres procédés d'extraction. La viabilité du procédé d'extraction du jus de fruits par micro-onde a pu être vérifiée pour trois fruits différents dont deux variétés de prunes.

Les conditions d'extraction permettant un rendement maximal seraient un procédé avec condenseur et une extraction avec des fruits congelés. En effet, à une même densité de puissance, le rendement en jus est augmenté de 54% pour les prunes et de 37% pour les raisins. Comparé à des fruits frais avec un procédé « tube d'extraction », ce « procédé optimal » permet une augmentation de 50% du rendement en jus de prune, et de 15% pour les raisins. L'impact de la puissance est négatif sur le rendement avec un procédé sans condenseur. Cependant, la rapidité du procédé augmente avec l'augmentation de puissance à cause d'une montée plus rapide en température. Nous pouvons cependant supposer un impact limité lorsque le procédé présente un condenseur. Pour l'extraction de fruits frais, la surmaturité a un impact négatif sur le rendement d'extraction.

L'extraction des jus est différente pour les fruits frais et congelés. Nous pensons donc qu'il y a deux mécanismes d'extraction du jus (Figure 58):

- Dans le cas des fruits frais, les micro-ondes agissent sélectivement sur les « zones » plus riches en eau. Dans un fruit entier, l'eau est majoritairement disponible dans la chair du fruit. Ainsi les cellules de la chair sont plus sensibles aux micro-ondes, la montée en température de l'eau conduisant à la production de vapeur d'eau va créer une pression à l'intérieur de ces cellules entraînant leur rupture. Un transfert de matière par des mécanismes de transport à l'intérieur du fruit permet la libération du jus.
- Dans le cas des fruits congelés, les micro-ondes vont agir sur l'eau libre résiduelle des fruits et créer des points chauds (Schiffmann, 2001). L'apparition de points chauds va permettre le transfert de chaleur à l'intérieur du fruit, la glace étant un très bon conducteur de chaleur. Cette étape va conduire à la décongélation rapide

Tableau XXII : Composition des jus testés et notes d'analyse sensorielle.

		Sucres (g.L <sup>-1</sup> )	Protéines (g.L <sup>-1</sup> )	Fibres (g.L <sup>-1</sup> )	Note sensorielle année 2008	Note sensorielle normalisées	Note sensorielle année 2010
Jus micro-onde	Jus de raisin	139	10	8	5,5 (±1,9)	4,5 (±1,9) <sup>d</sup>	4,5 (±1,4) <sup>d</sup>
	Jus d'abricot	38	11	NM	3,3 (±2,2)	2,3 (±2,2) <sup>c</sup>	
	Jus de prune cv. Président	60	11	7	5,4 (±2,1)	4,4 (±2,1) <sup>a</sup>	
Jus commerciaux	Jus de raisin	150	1	1			4,7 (±1,2) <sup>d</sup>
	Nectar d'abricot	120	8	6			7,1 (±0,9) <sup>b</sup>
	Jus de prune	135	3	1			3,2 (±2,0) <sup>a</sup>

*Moyennes des notes obtenues pour les jus, suivies par la même lettre : non significativement différent, d'après le test t de Student à une probabilité p=0.05*

du fruit par fusion de l'eau et permettre la libération d'un premier jus. La glace prenant plus de place que l'eau, les cellules se trouvent partiellement déstructurées. Dans un second temps, la température à l'intérieur du fruit atteint les 100°C, ainsi l'eau se vaporise et crée des pressions internes dans les cellules permettant une déstructuration des cellules plus efficace puisque le débit maximal d'extraction est atteint.

## **4 Analyse sensorielle des jus de fruits**

La seconde étape dans notre logique expérimentale a été de savoir si les jus de fruits étaient « consommables », intéressants d'un point de vue organoleptique. En effet, le fait que le procédé fonctionne ne garantit en aucun cas l'aspect organoleptique de nos jus, hormis la couleur vive et naturelle observée.

### **4.1 Test**

Le test réalisé lors de notre première analyse sensorielle est un test consommateur typique réalisé par un panel naïf. Le panel naïf représente des consommateurs quelconques (Meiselman, 1993). Ce test traite uniquement de la partie hédonique et des sensations perçues. Le panel note les jus de 1 à 9, échelle hédonique trouvée couramment dans les publications dont celle de Crisosto, Garner *et al.* (2004) afin de permettre au panel de trancher par rapport à la moyenne. Il est demandé au panel de décrire les sensations perçues après notation. Cette description entraîne un bruit très important dû à la non spécificité des termes utilisés (Schutz, 1999). Les résultats sont présentés dans le tableau XXII.

Les jus de prune et d'abricot commerciaux sont respectivement deux et trois fois plus concentrés en sucre que les jus micro-onde. Les teneurs en protéines et fibres sont plus élevées dans les jus micro-onde.

Les résultats normalisés de l'analyse sensorielle des jus réalisés par micro-onde et les jus industriels sont relevés dans le tableau XXII. Les résultats sont normalisés par rapport aux notes des jus de raisin micro-onde analysés lors des deux tests. Le jus de raisin obtient la même note entre le jus commercial et le jus micro-onde. Le jus de prune micro-onde obtient



1,2 en plus comparé au jus commercial, tandis que le nectar d'abricot présente la meilleure note de l'ensemble des jus testés avec 7,2 contre 2,3 pour le jus d'abricot micro-onde.

Les sensations perçues diffèrent selon les jus, le goût de sucré domine essentiellement dans le jus de raisin micro-onde et commercial, ces jus sont jugés comme trop sucrés par le panel. Le jus de prune est qualifié de légèrement astringent, tandis que le jus commercial a été jugé comme étant « chimique ». Le jus d'abricot micro-onde est trop acide tandis que le nectar d'abricot industriel est savoureux. Les points positifs relevés pour l'ensemble des jus micro-onde sont la couleur et l'odeur naturelle du jus. Leur texture liquoreuse a été appréciée pour 50% du panel.

L'acidité perçue dans les jus d'abricot est vérifiée par les analyses biochimiques montrant une concentration d'acide moyenne de  $15 \text{ g.L}^{-1}$ . Des hautes teneurs en acides ont souvent un impact négatif sur la palatabilité des jus (Chang, Siddiq *et al.*, 1994). D'après les travaux de Crisosto, Garner *et al.* (2004), il est montré que lorsque le Brix est supérieur à 12 dans les jus de prunes, l'acidité n'affecte pas le degré d'acceptabilité. Les jus micro-onde testés de prunes, raisins et abricots ont un degré brix respectif de 11,8, 19,2 et 11,2 dans les jus d'abricots (Tableau XXVIII), ce qui expliquerait l'acidité fortement ressentie dans notre panel et la faible note de ce jus.

Les résultats montrent que ces jus ne sont pas comparables au niveau quantitatif. En effet, excepté pour le raisin, ces jus industriels ont été additionnés de sucre et les traitements enzymatiques utilisés ont réduit inévitablement la présence de pectines rendant ces jus moins épais. Les teneurs en protéines sont plus hautes dans les jus micro-onde que dans les jus industriels.

## **4.2 Conclusion**

En conclusion, excepté pour les jus d'abricot et le nectar d'abricot qui sont significativement différents au niveau des notes, les jus de fruit par MO présentent des critères d'appréciation différents de ceux des jus de fruits industriels mais avec des notations semblables. Le jus de fruits micro-onde est dans une gamme d'appréciation des produits commerciaux de grande notoriété.

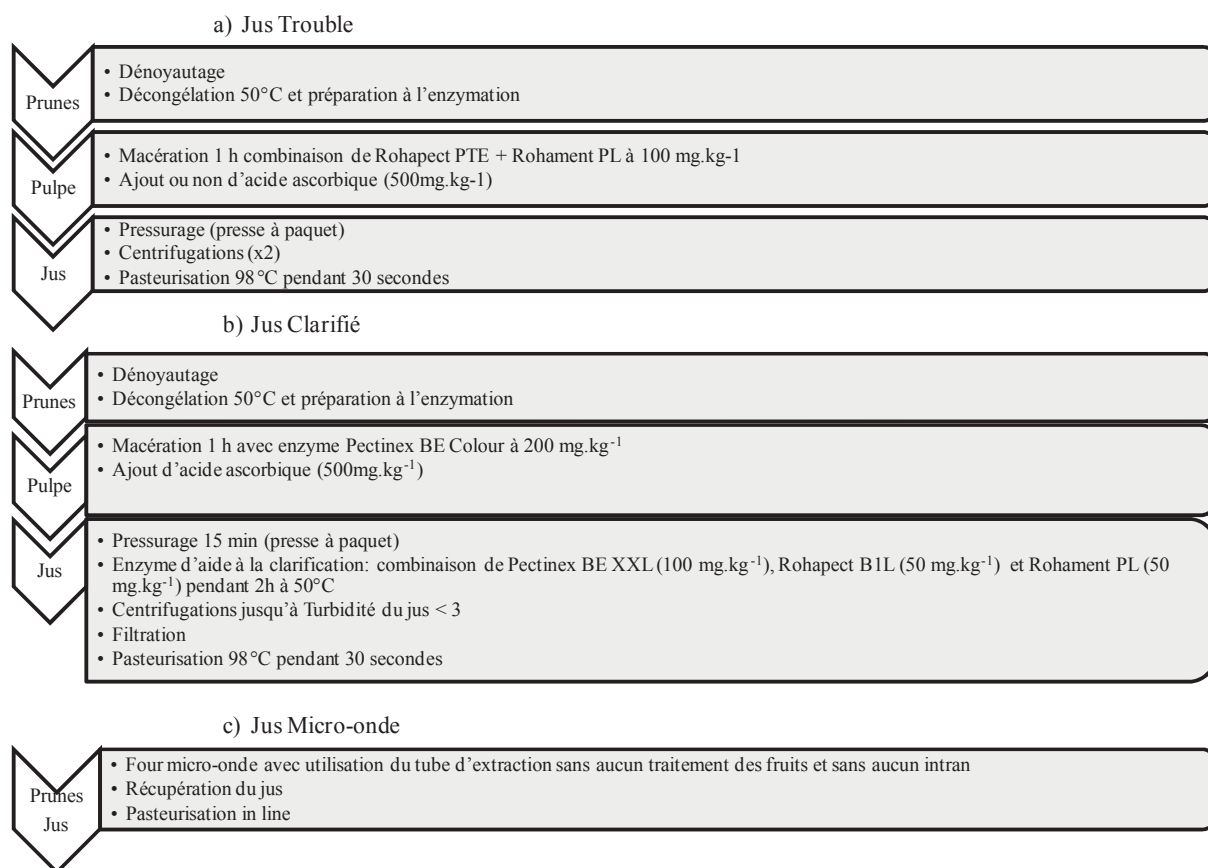


Figure 59 : Etapes d'extraction pour trois procédés de fabrication différents de jus à partir des prunes cv. Najbolia congelées a) Jus trouble b) Jus clarifié c) Jus micro-onde

Tableau XXIII : Rendement et temps de procédés de fabrication de jus à partir des prunes cv. Najbolia congelées

	Temps du procédé	Rendement	Enzymes	Acide Ascorbique
jus clarifié	> 4 h	550 (± 64) g.kg <sup>-1</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>enzyme Pectinex BE Colour</li> <li>Pectinex BE XXL+Rohapect B1L+Rohament PL</li> </ul>	OUI
jus trouble	>2 h	676 (± 4) g.kg <sup>-1</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rohapect PTE + Rohament PL</li> </ul>	OUI
jus trouble	>2 h	684(± 7) g.kg <sup>-1</sup>		NON
jus micro-onde	< 1 h	344 à 461 g.kg <sup>-1</sup>		NON

## 5 Comparaison avec un procédé enzymatique

Cette partie tente de répondre à la question suivante : Y a-t-il des avantages technologiques du procédé micro-onde dans la fabrication du jus de prunes? Pour répondre à cette question, le jus de prune a été réalisé, à partir du même cultivar *Najbolia*, par micro-onde et par un procédé classique. Ce dernier procédé comprend un enzymage suivi d'un pressurage dans une presse à paquet à une échelle semi-industrielle. Dans cette partie, nous présenterons uniquement une comparaison technologique de ces deux procédés.

### 5.1 Méthode de fabrication des jus

Les différentes étapes des procédés (Figure 59), ainsi que les rendements obtenus (Tableau XXIII) sont présentés pour une extraction sous presse et une extraction par micro-onde. Deux types de jus sont obtenus par pressurage : jus clarifié et jus trouble.

Le jus de prune obtenu par pressurage nécessite des temps d'enzymation prolongés ainsi des risques d'oxydation et de brunissement des jus. En effet, lors de la déstructuration du fruit, le contact de la polyphénol oxydase avec ses substrats préférentiels, les polyphénols, provoque une réaction de brunissement. Pour pallier ces problèmes, il est souvent ajouté de l'acide ascorbique pendant les macérations (Son, Moon *et al.*, 2001; Komthong, Igura *et al.*, 2007). Les températures d'enzymation étant de l'ordre de 50°C, l'acide ascorbique peut jouer son rôle d'antioxydant (Manso, Oliveira *et al.*, 2001). Cependant, l'effet de l'acide ascorbique est temporaire et un brunissement enzymatique se déclenche lorsque l'acide ascorbique est totalement oxydé en acide déshydroascorbique (Komthong, Igura *et al.*, 2007). Le jus réalisé par micro-onde est uniquement réalisé par chauffage sans ajout d'intrant.

Trois jus ont été réalisés par pressurage : deux jus troubles nécessitant une enzymation de 1 h (combinaison de Rohapect PTE + Rohament PL à 100 mg.kg<sup>-1</sup>) avec ajout ou non d'acide ascorbique (500 mg.kg<sup>-1</sup>) et un jus clarifié nécessitant une double enzymation, la première de 1 h en présence de Pectinex BE Colour à 200 mg.kg<sup>-1</sup> avec ajout d'acide ascorbique à 500 mg.kg<sup>-1</sup> et une seconde de 2 h consistant en une combinaison de Pectinex BE XXL (100 mg.kg<sup>-1</sup>), Rohapect B1L (50 mg.kg<sup>-1</sup>) et Rohament PL (50 mg.kg<sup>-1</sup>). Les rendements obtenus étaient respectivement de 830 (±10) g.kg<sup>-1</sup> et de 850 (±10) g.kg<sup>-1</sup>. Dans le





processus de fabrication des temps de chauffage sont nécessaires pour la déstructuration initiale des prunes, l'enzymation, et la pasteurisation (Figure 59, Tableau XXIII). Ce procédé par presse implique un dénoyautage, donc l'utilisation de fruits congelés est privilégiée tandis que pour l'extraction par micro-onde le dénoyautage n'est pas utile et le travail peut se faire en état frais ou congelé. Ces différentes étapes de fabrication des jus sont retrouvées dans la bibliographie de fabrication des jus de prune (Chang, Siddiq *et al.*, 1994; Shalom, Gur-Arie *et al.*, 1999), avec des rendements compris entre 57 et 73% mais le type d'enzymes, les temps d'incubation et les concentrations en enzymes restent des paramètres variables et spécifiquement optimisés selon le jus désiré. D'autres procédés peuvent être utilisés comme la liquéfaction suivi d'une clarification permettant des rendements maximaux de 82% (Chauhan, Tyagi *et al.*, 2001; Chang, Siddiq *et al.*, 1994). En ajoutant l'ensemble de ces étapes, un jus trouble est obtenu en 180 min environ et un jus clarifié en 300 min. Dans le procédé micro-onde, l'ensemble de ces étapes (chauffage et pasteurisation) est condensé en une étape avec une durée variant de 16 min à 63 min suivant la densité de puissance avec des rendements de 330 mL.kg<sup>-1</sup> et 440 mL.kg<sup>-1</sup>.

Cependant, il est nécessaire d'homogénéiser ces résultats. En effet, le rendement estimé après pressurage est le rapport du poids du jus brut sur le poids de la purée. Il ne prend pas en compte les pertes causées par la fabrication de la purée. La présence de noyaux est incluse dans le calcul du rendement par micro-onde et exclue dans le cas des rendements obtenus par presse.

Le rendement à partir des prunes initiales dénoyautées est compris entre 590 g.kg<sup>-1</sup> pour un jus clarifié à 690 g.kg<sup>-1</sup> pour un jus trouble. Pour les jus micro-onde, l'estimation de la densité du jus en fonction du brix nous est donnée par une table de conversion (AOAC., 1981), et les rendements pondéraux sont compris entre 344 et 461 g.kg<sup>-1</sup>. En conclusion, le rendement des jus obtenus par micro-onde est de 75 à 50% de ceux obtenus par pressurage. Cependant, la réalisation de ces jus micro-onde n'a pas été optimisée par l'ajout du condenseur, qui selon les résultats établis précédemment, nous aurait sûrement permis une augmentation de rendement de l'ordre de 40%, permettant ainsi d'être concurrentiel au rendement sous presse. Avec un temps de 3 à 19 fois plus court, le micro-onde est le moyen le plus rapide à la réalisation de ces jus et ne présente qu'une seule étape de manipulation. Pour un jus sous presse, entre 7 et 10 étapes sont nécessaires.

Tableau XXIV : Energie utilisée pour la transformation de 1 kg de fruits en jus lors des différentes étapes du procédé pour les prunes cv. Najbolia.

Energie utilisée par le procédé pour 1 kg de fruits (en kJ.kg <sup>-1</sup> )		Presse	MO
	chaleur sensible (passage de -20 °C à 0°C)	41	41
	chaleur latente de fusion de la glace	333	333
(Jus trouble et clarifié)	chaleur sensible enzymation 1 (passage de 0 °C à 50°C)	209	
(Jus trouble)	chaleur sensible pasteurisation (passage de 50 à 98 °C)	158	
(Jus clarifié)	chaleur sensible enzymation 2 (passage de 25 °C à 50°C)	105	
(Jus clarifié)	chaleur sensible pasteurisation (passage de 25 °C à 98°C)	305	
	chaleur vaporisation de l'eau (260 mL)		762
	Total (kJ.kg-1)	741 (Jus trouble) 993 (Jus clarifié)	1554

$Q=m.c.dT$ , avec m représentant la masse à chauffer en kg, c est la capacité calorifique en J.kg<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>, et dT est la variation de température en K

1 kW.h=3600J

c (glace)=2.06 kJ.kg<sup>-1</sup>

c(eau)=4.18 kJ.kg<sup>-1</sup>

Au niveau production, le fait de diminuer les étapes de fabrication des jus, diminue les points HACCP, points de contrôles critiques et les risques de contamination.

Au niveau microbiologique, les jus de presse subissent une flash pasteurisation, alors que pour les jus micro-onde, la pasteurisation peut être *inline*, c'est-à-dire directement pendant le procédé avec des températures supérieures à 80°C et par contact du jus chaud avec le récipient.

## **5.2 Besoin énergétique**

L'énergie nécessaire aux différentes étapes de la fabrication des jus est calculée pour 1 kg de fruit, assimilé à 1 kg d'eau, indépendamment du procédé (tableau XXIV).

Pour les pressurages, la chaleur sensible est calculée pour le passage de la glace de -20 à 0°C, le passage de l'eau de 0 à 50°C (première enzymation), le passage de l'eau de 50°C à 98°C (pour la pasteurisation, uniquement jus trouble), le passage de l'eau de 25 à 50°C (deuxième enzymation, uniquement pour les jus clarifiés) et le passage de l'eau de 25°C à 98°C (pour la pasteurisation, uniquement jus clarifié). Il faut ajouter à ces données la chaleur latente de fusion résultant de la transformation de la glace en eau. La somme totale des énergies utilisées dans la transformation de 1 kg de fruit en jus s'élèvent à 741 et 998 kJ.kg<sup>-1</sup> pour le jus trouble et le jus clarifié respectivement.

Pour les jus micro-onde, il n'y a pas d'enzymation et de pasteurisation, mais une vaporisation de l'eau. La quantité d'eau vaporisée est estimée avec le volume d'eau récupérée en présence de condenseur, soit 260 mL. Ainsi, hormis le calcul de la chaleur sensible de la glace et de la chaleur latente de fusion, il faut y ajouter la chaleur sensible de l'eau entre 0 et 100°C et la chaleur latente de vaporisation. La somme totale des énergies utilisées dans la transformation de 1 kg de fruit en jus est de 1554 kJ.kg<sup>-1</sup>. Ainsi, indépendamment du procédé, l'utilisation du micro-onde requiert 1,5 fois plus d'énergie pour la transformation de 1 kg de fruits que dans le procédé sous presse, pour les jus clarifiés et 2 fois plus pour les jus troubles.



## 6 Conclusion

Cette partie des résultats a eu pour but de tester la faisabilité du procédé et de recenser les différentes étapes d'optimisation du procédé d'extraction du jus par micro-onde. Le fruit se prêtant le mieux à ce procédé est le raisin, suivi par la prune notamment le cv. Président. L'abricot n'est pas un fruit adapté à ce procédé car il réagit en formant de la mousse. Les rendements en jus observés sont comparables aux prunes mais les masses mises en œuvre doivent être diminuées et les temps d'extractions augmentés à cause d'une faible diffusion du jus. Les rendements d'extraction sont améliorés par l'utilisation des fruits congelés avec une extraction débutant à des températures inférieures à 100°C (départ d'extraction à partir de fruits frais) limitant la perte d'eau par vapeur. De plus la décongélation permet une déstructuration plus importante du fruit. La décongélation initiale des fruits ne permet pas d'augmenter les rendements en jus et prolonge les temps d'extraction. La perte sous forme de vapeur d'eau observée avec ce procédé d'extraction peut être éliminée avec un condenseur, permettant ainsi l'augmentation du rendement en jus. L'augmentation de la puissance d'extraction a un impact négatif sur le rendement mais diminue les temps d'extraction. En effet, puissance n'est élevée, plus les températures d'extraction (température de l'ordre de 10-40°C pour les fruits congelés et 100°C pour les fruits frais) sont atteintes rapidement permettant une extraction intense avec un débit et des temps d'extraction respectivement augmenté et diminué proportionnellement à l'augmentation de la puissance (raisins, abricots, prune cv. Najbolia).

Les analyses sensorielles nous montrent que les jus sont acceptés par des consommateurs potentiels au même titre que des jus industriels renommés. Cependant, en terme de ressenti ces jus sont différents : ils sont plus visqueux et moins sucrés que les jus industriels. Cependant, leurs couleurs vives, et leur « odeur de fruit » fait ressentir aux consommateurs le « naturel » du produit.

L'ajout du condenseur permettant d'augmenter les rendements en jus, permet à ce procédé de s'avérer concurrentiel aux procédés classiquement utilisés dans la fabrication de jus. De plus ce procédé présente d'autres avantages comme un temps d'extraction réduit et une montée rapide en température évitant le brunissement des jus par l'inactivation des enzymes.



Une analyse microbiologique récente des jus micro-onde avec et sans condenseur, réalisé par un prestataire de service (CTCPA, Avignon, France) exclut la présence de micro-organismes pathogènes après une conservation d'une semaine à 4°C. Avec une manipulation unique pour la fabrication des jus de fruits par micro-onde, ce procédé permet de limiter les risques de contamination microbiologique et permet une réduction des points de contrôles indispensables en industrie.





# PARTIE II : COMPOSITION DES JUS EN MACROCONSTITUANTS ET POLYPHÉNOLS : IMPACT DU PROCÉDE

La composition des jus de fruits est déterminante dans l'acceptabilité de ceux-ci. En effet, un manque de sucre ou une acidité trop prononcée influencent négativement le choix du consommateur. De plus, suivant le procédé utilisé, l'oxydation plus ou moins importante des polyphénols présente un impact sur la couleur des jus de fruits. Outre cet aspect sensoriel caractéristique, les polyphénols ont un impact sur la qualité nutritionnelle des jus. En effet, il est généralement admis que les polyphénols contribuent aux effets positifs des fruits et légumes sur la santé (Brat, Mennen *et al.*, 2007), il est donc nécessaire pour que les jus de fruits soient admis comme bons substituants au fruit, qu'ils en possèdent des quantités équivalentes aux fruits. Cependant, au cours de l'extraction, plusieurs paramètres peuvent limiter la diffusion de ces constituants (paroi végétale, polarité des constituants) ou les détériorer (oxydation, température du procédé). Pour comprendre les paramètres ayant un impact lors de l'extraction, nous avons suivi l'évolution de la diffusion des constituants des fruits (sucres, acides, polyphénols, anthocyanes) au cours du procédé. Pour cela, les jus sont collectés et analysés par fraction de 40 mL pour les jus de prunes et de raisins, et de 30 mL pour les jus d'abricots. Nous avons également comparé les compositions des fruits et des jus de fruits afin de connaître les composés les mieux extraits. Enfin, les jus de fruits issus du procédé micro-onde ont été comparés aux jus issus d'un procédé d'extraction classique.

Cette partie des résultats va répondre à la question suivante : quels sont les paramètres de l'extraction micro-onde qui permettent d'obtenir le jus de fruit présentant le meilleur intérêt nutritionnel, celui-ci est-il en accord avec les conclusions de la partie 1 des résultats ?

Tableau XXV : Composition de la chair et de la peau des abricots, des raisins, des prunes cv. Président et Najbolia. Teneur en g/kg de matière fraîche en sucres, acides, polyphénols et anthocyanes totales. Les valeurs marquées # sont calculées à partir des compositions et des proportions (cf. Tableau XIV) de la peau et de la chair.

		glc	fru	sac	mal	cit	tar	polyphénols totaux	anthocyanes
Abricot	chair	nd	nd	nd	nd	nd		1,10 (±0,10)	
	peau	nd	nd	nd	nd	nd		3,50 (±0,41)	0,148 (±0,03)
	<i>% dans peau</i>							50%	100%
	fruit	14,1 (±1,0)	9,1 (±1,1)	35,0 (±2,2)	4,6 (±0,1)	13,5 (±2,1)		1,50#	0,034 (±0,004)
Raisin	chair	108 (±12)	109 (±9)	5,7 (±1,1)	nd	nd	nd	0,58 (±0,02)	
	peau	89 (±4)	89 (±4)	3,8 (±0,5)	nd	nd	nd	3,98 (±0,12)	1,071 (±0,11)
	<i>% dans peau</i>	28%	28%	26%				76%	100%
	fruit	102#	103#	4,8#	3,6 (±0,1)	0,8 (±0,1)	3,6 (±0,2)	1,68#	0,343
Prunes cv, Président	chair	31 (±3)	38 (±2)	3,3 (±0,9)	9,0 (±1,0)	0,4 (±0,0)		3,33 (±0,92)	
	peau	36 (±4)	41 (±5)	1,4 (±0,1)	10,1 (±1,1)	0,5 (±0,1)		6,60 (±0,91)	1,250 (±0,123)
	<i>% dans peau</i>	16%	15%	7%	15%	23%		25%	100%
	fruit	31#	37#	3,0#	9,0#	0,3#		3,84#	0,175
Prunes cv, Najbolia	chair	nd	nd	nd	nd	nd		3,33 (±0,41)	
	peau	nd	nd	nd	nd	nd		5,99 (±0,42)	0,941 (±0,037)
	<i>% dans peau</i>							37%	100%
	fruit	nd	nd	nd	nd	nd		3,71#	0,207

Avec Glc: glucose, Fru: fructose, sac: saccharose, mal: acide malique, tar: acide tartrique, polyphénols totaux en équivalent acide chlorogénique (ECG), anthocyanes en équivalent cyanidine-3-glucoside pour les raisins et les abricots et en équivalent cyanidine-3-rutinoside pour les prunes, Les données entre parenthèse représentent les écarts-type,

## 1 Composition des fruits

Le tableau XXV résume les caractéristiques générales des fruits utilisés. Le tableau XXVI présente les concentrations phénoliques analysées en CLHP pour les prunes et le tableau XXVII les teneurs en matériaux insoluble à l'alcool (MIA) des prunes cv. *Najbolia*, *Président* et des raisins.

### 1.1 Abricot

Les abricots (Tableau XXV) ont une teneur en sucres de  $58 \text{ g.kg}^{-1}$ , le saccharose est le sucre majoritaire (60%), suivi par le glucose (25%) et le fructose (15%).

Les abricots présentent les teneurs les plus élevées en acide ( $18 \text{ g.kg}^{-1}$ ), essentiellement (75%) de l'acide citrique.

Ces données sont en accord avec les données publiées par Gurrieri, Audergon *et al.* (2001), Bureau, Ruiz *et al.* (2009) et Drogoudi, Vemmos *et al.* (2008).

Les polyphénols sont en moyenne 3 fois plus concentrés dans la peau que dans la chair, cependant dans le fruit, les polyphénols de la peau représentent 50% des polyphénols totaux. Ces résultats sont en accord avec les teneurs en polyphénols totaux établies par Kalyoncu, Akbulut *et al.* (2009) qui recensent selon les variétés, des concentrations de 0,7 à  $3 \text{ g.kg}^{-1}$ . Brat, Mennen *et al.* (2007), ont mesuré des concentrations de  $1,7 \text{ g.kg}^{-1}$  (en équivalent acide gallique). La concentration en anthocyanes des abricots est la plus basse des fruits étudiés, et ne représente que  $1/10^{\text{ème}}$  de celle des raisins. Les anthocyanes ne sont présentes que dans la peau de la variété A3844. D'autres variétés d'abricots rouges comme A3576 présentent ces mêmes caractéristiques (Bureau, Renard *et al.*, 2009).

### 1.2 Raisin

Les raisins (Tableau XXV) sont les plus concentrés en sucres des fruits étudiés avec  $210 \text{ g.kg}^{-1}$ , soit près de 4 fois la concentration des abricots. Le glucose et le fructose sont les



sucres majoritaires, et le rapport glc/fru est égal à 1. La faible teneur en saccharose est causée par son hydrolyse lors de la maturation des raisins. Un quart des sucres des fruits est contenu dans la pellicule.

Les raisins sont peu concentrés en acide avec un ratio acide tartrique/acide malique proche de 1. Ces teneurs en sucres et acides sont en accord avec celles trouvées dans la Table de Composition des Aliments (Souci, Fachmann *et al.*, 2000) et rentrent dans les intervalles établis par la bibliographie (Liu, Wu *et al.*, 2006) sur différentes variétés de raisins.

La majorité des polyphénols analysés (76%) sont présents dans la pellicule (les polyphénols des pépins n'ont pas été mesurés). Les polyphénols de raisin sont essentiellement composés de tannins et d'anthocyanes (Fournand, Vicens *et al.*, 2006; Vicens, 2007). Les anthocyanes sont exclusivement présentes dans la peau et la concentration en anthocyanes est la plus élevée des quatre fruits étudiés. Les concentrations en polyphénols et anthocyanes sont en accord avec celles établies dans la bibliographie.

Le glucose représente 46% des oses pariétaux, (Tableau XVII) tant pour la peau que la chair des raisins, soit légèrement plus que les valeurs rapportées par Lecas et Brillouet (1994), ou Nunan, Sims *et al.* (1997). La grande majorité (90%) de ce glucose est d'origine cellulosique (Lecas et Brillouet, 1994, Nunan, Sims *et al.*, 1997). Le rapport Glc/AU (acide uronique) nous indique une teneur plus élevée en cellulose qu'en pectines. La teneur en AU de la préparation pariétale est plus de quatre fois supérieure dans la peau que dans la chair. Ces pectines sont moyennement méthylées avec un DM plus élevé dans la peau que dans la chair. Le galactose et l'arabinose sont les oses neutres majoritaires après le glucose. La faible proportion de rhamnose est révélatrice de la prédominance des homogalacturonanes. La présence comme hémicellulose majoritaire de xyloglucanes et minoritaire de mannanes (Doco, Williams *et al.*, 2003) expliquent les teneurs de xylose et mannose.

### **1.3 Prune**

Les prunes (Tableau XXV) cv. Président ont une teneur en sucres de 71 g.kg<sup>-1</sup>, principalement du glucose et du fructose en proportions équivalentes. L'acide malique est le principal acide des prunes. Ces données sont en accord avec celles établies par Glew, Ayas *et al.* (2005) et Nergiz, Yildiz *et al.* (1997). Les sucres de la peau ne représentent qu'environ 15% des sucres du fruit.

Tableau XXVI : Teneurs en polyphénols (mg.kg<sup>-1</sup>) dans la chair et dans la peau des prunes cv. Président et Najbolia. Les valeurs pour les prunes entières sont recalculées à partir des compositions et des proportions de la chair et de la peau.

	Prop dans le fruit	MS	Procyanidines		Flavan-3-ols Monomère	Acides phénoliques				Flavonols			Anthocyanes				
	g/g	g/g	Conc	DP	CAT	nCQA	Coum	CQA	Tot	Rut	Gly, Querc,	Tot	Cya-3-Glc	Cya-3-rut	Peo-3-rut	Tot	
Prunes cv, Président																	
chair	0,84	0,17	867	5,9	7	310	40	50	400								
écart type			53		1	2	0	1									
peau	0,14	0,19	1095	3,3	8	1040	70	480	1590	314	214	529	234	224		458	
écart type			21		1	6	0	4		12	41		12	8			
% dans peau			20%		15%	36%	25%	62%	39%	100%	100%		100%	100%			
Prunes entières		0,17	881	5,4	7	400	40	110	550	44	30	74	33	31		64	
Prunes cv, Najbolia																	
chair	0,7265	0,15	1300	12,6		525	17	44	585								
écart type			348			72	7,5	6									
peau	0,215	0,17	1442	11,9		595	19	116	730	90	32	122	160	561	78	799	
écart type			251,6			81,6	8,5	16,8		10,2	8,5		6,8	10	19		
% dans peau			25%			25%	25%	44%	27%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Prunes entières			1333	12		541	17	60	618	21	6,9	28	36	128	18	182	

Avec MS : matière sèche, DP : degré de polymérisation, Tot : total, CAT : (+)-catéchine, nCQA : acide néochlorogénique, Coum : acide p-coumaroylquinique, CQA : acide chlorogénique, rut : rutine, Gly.Querc : autres glycosides de quercétine, Cya-3-glc : cyanidine-3-O-glucoside, Cya-3-rut : cyanidine-3-O-rutinoside, Peo-3-rut : péonidine-3-O-rutinoside.

La prune présente les concentrations en polyphénols les plus élevées des fruits analysés. La majorité de ces polyphénols est apportée par la chair : 75% dans Président et 64% dans Najbolia. Les anthocyanes sont uniquement présentes dans la peau, où leurs concentrations sont proches de celle de la peau de raisin, pour des teneurs dans le fruit représentant la moitié au deux tiers de celle du raisin. Des teneurs équivalentes sont rapportés dans les différentes variétés de prunes (Kim, Jeong *et al.*, 2003; Cevallos-Casals, Byrne *et al.*, 2006).

L'analyse spécifique des polyphénols (Tableau XXVI) montre dans un premier temps une concentration totale plus basse que celle établie par spectrophotométrie par la méthode de Folin-Ciocalteu. Certains polyphénols, présents en faibles concentrations et / ou pour lesquels les standards ne sont pas disponibles, ne sont pas quantifiés par CLHP-DAD. De plus, la méthode de Folin-Ciocalteu quantifie des composés réducteurs autres que les polyphénols, dont la vitamine C (George, Brat *et al.*, 2005). Enfin la quantification par la méthode colorimétrique repose sur l'utilisation d'un standard unique, alors que les différents polyphénols ont des réponses variées. Les classes majoritaires, étudiées après réaction de thiolysse pour les polymères, sont les procyanidines représentant 55% (Président) et 64% (Najbolia) des polyphénols quantifiés, suivies par les acides phénoliques (35% (Président) et 26% (Najbolia)), les anthocyanes avec 4% (Président) et 9% (Najbolia) et les flavonols présents uniquement dans la peau (4% (Président) et 1% (Najbolia)). La (+)-catéchine est le seul flavanol monomère détecté, uniquement dans la variété Président, où sa teneur est inférieure à 1% des polyphénols quantifiés. Les composés majoritaires sont : l'acide néochlorogénique (nCQA) pour les acides phénoliques, la rutine pour les flavonols. Dans la variété Président, la cyanidine-3-O-glucoside et la cyanidine-3-O-rutinoside sont présentes dans des proportions équivalentes, alors que la cyanidine-3-O-rutinoside est l'anthocyane majoritaire dans la variété Najbolia. La péonidine-3-glucoside n'a été détectée que dans la variété Najbolia. Les composés analysés et leurs teneurs sont globalement en accord avec les résultats bibliographiques (Raynal, 1989; Ahmed, Shivhare *et al.*, 2004; Del Caro, Piga *et al.*, 2004; Usenik, Kastelec *et al.*, 2008; Nunes, Guyot *et al.*, 2008, Rapport Isafruit, 2007). Del Caro, Piga *et al.* (2004) et le rapport Isafruit (2007) montrent bien la dominance de la rutine et de l'acide néochlorogénique dans les variétés Président et Najbolia. Par contre, aucun flavan-3-ol n'avait été identifié dans la variété Président (Del Caro, Piga *et al.*, 2004), alors que dans la variété Najbolia, le rapport (Isafruit 2007) indique la présence de (+)-catéchine et de (-)-épicatechine, dans une proportion de 2% du total des flavan-3-ols. Nous n'avons pas mis en

Tableau XXVII : Composition des MIA ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de la peau et de la chair de raisin, prunes cv. Président et Najbolia.

	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	AU	MeOH (DM)
Raisin Peau	6	3	21	13	12	19	139	486	41 (46)
Raisin Chair	7	3	22	20	8	22	158	102	10 (56)
Prune cv, Président Chair	13	7	38	22	19	115	231	218	30 (84)
Prune cv, Président Peau	11	5	43	20	16	87	196	216	28 (85)
Prunes cv, Najbolia Chair	2	1	20	13	5	17	65	225	37 (90)
Prunes cv, Najbolia Peau	8	3	104	30	15	39	137	301	34 (61)
<i>Ecart type</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	<i>10</i>	<i>3</i>	<i>2</i>	<i>14</i>	<i>17</i>	<i>39</i>	<i>4</i>

*Avec Rha : rhamnose, Fuc : fucose, Ara : arabinose, Xyl : xylose, Man : mannose, Gal : galactose, AU : acide uronique, MeOH : méthanol, DM : degré de méthylation.*



évidence de péonidine-3-O-rutinoside dans la variété Président, alors qu'elle y avait été détectée par Del Caro, Piga *et al.* (2004).

Les principaux oses neutres pariétaux (Tableau XXVII) sont le glucose avec 32% et 36% des oses analysés pour la chair et la peau respectivement, le galactose (17% et 15%), l'arabinose (6% et 7%) dans la variété Président. Les parois de Najbolia présentent des teneurs moindres en glucose (18% et 21% pour la chair et la peau, respectivement) et galactose 6% et 6%, et plus élevées en arabinose dans la chair (6% et 16%). Le ratio glucose/acide uronique montre la prédominance des pectines dans les MIA de Najbolia. Nunes, Guyot *et al.* (2008) et Renard et Giniès (2009) ont observé des teneurs plus élevées d'acide uronique et de glucose dans les parois de prunes. Le degré de méthylation des pectines est élevé et est équivalent dans la peau et la chair pour la variété Président tandis que les pectines sont plus méthylées dans la chair pour la variété Najbolia. Renard et Giniès (2009) rapportent des DM variant de 62 à 84 selon les variétés de prunes. Le rapport galactose/arabinose varie entre la peau et la chair. Il est plus élevé dans la peau de la variété Najbolia et dans la chair de Président. Les teneurs élevées en Ara et Gal font présumer de leur association dans les régions hérissées des pectines. Le sucre d'origine hémicellulosique majoritaire est le xylose. De plus la présence de fucose est détectée et est caractéristique des fucogalactoxyloglucanes. Ces mêmes résultats ont été observés par Ito et Kato (2002) et par Renard et Giniès (2009).

## 2 Composition des jus de fruits

Les extractions de jus de fruits ont été réalisées avec plusieurs variables du procédé (puissance et réfrigérant) et de la matrice (espèces, état congelé ou frais, surmaturité). Le rendement en jus variait avec le classement suivant :

- Extraction à 0.5 W.g<sup>-1</sup> > Extraction à 1 W.g<sup>-1</sup> > Extraction à 1.5 W.g<sup>-1</sup>
- Extraction avec réfrigérant > Extraction avec tube
- Extraction fruits congelés > Extraction fruits frais à maturité commerciale > Extraction fruits frais à surmaturité.

Nous allons décrire dans un premier temps, les compositions des jus de fruits par espèces (abricots, raisins et prunes), pour une extraction à 1 W.g<sup>-1</sup>, des fruits congelés et sans réfrigérant (Tableau XXVIII), en resituant les teneurs observées par rapport à la bibliographie

Tableau XXVIII : Composition des jus d'abricot, de raisin, de prune cv. Président et cv. Najbolia obtenus par extraction micro-onde à 1 W.g<sup>-1</sup> à partir des fruits congelés.

	Brix (°B)	Glc g.L <sup>-1</sup>	Fru g.L <sup>-1</sup>	Sac g.L <sup>-1</sup>	Mal g.L <sup>-1</sup>	Cit g.L <sup>-1</sup>	Tar g.L <sup>-1</sup>	Polyphénols totaux g.L <sup>-1</sup> EAC	Anthocyanes mg.L <sup>-1</sup> ECG/ECR	Pectines mg.100g <sup>-1</sup>	Protéines g.L <sup>-1</sup>
Jus d'abricot	11,2 (±0,2)	5,9 (±1,7)	3,4 (±0,7)	34,6 (±3,2)	3,0 (±0,1)	8,1 (±1,0)		1,5 (±0,5)	8,1 (±1,7)	nd	8,1 (±0,3)
Jus de raisin	19,2 (±0,1)	66 (±8,8)	68 (±5,3)	7,8 (±1,0)	3,1 (±0,1)	0,2 (±0,0)	1,3 (±0,0)	1,0 (±0,0)	38,9 (±8,3)	804,1 (±198,1)	10,4 (±0,6)
Jus de prune cv. Président	11,8 (±0,1)	18,1 (±2,1)	21,4 (±2,1)	4,1 (±0,3)	6,8 (±0,3)	0,2 (±0,0)		3,2 (±0,4)	38,9 (±5,3)	737,7 (±73,3)	11,8 (±0,9)
Jus de prune cv. Najbolia	12,3 (±0,1)	19,0 (±1,1)	14,6 (±2,1)	33,0 (±3,1)	7,5 (±0,8)	traces		4,0 (0,1)	96,0 (±2,6)	nd	nd

Avec Glc : glucose, Fru : fructose, Sac : saccharose, Mal : acide malique, Cit : acide citrique, Tar : acide tartrique, EAC : équivalent acide chlorogénique, ECG : équivalent cyanidine-3-glucoside pour les raisins et ECR : équivalent cyanidine-3-rutinoside. Les données entre les parenthèses représentent les écarts à la moyenne, n=2, nd : non déterminé.

ou aux produits industriels. Les conditions choisies sont celles de l'analyse sensorielle présentée au chapitre précédent. La composition globale des jus est calculée à partir des compositions mesurées pour chaque fraction de jus collectée. Cette comparaison reste dans un cadre purement indicatif puisque la variété des fruits, la localisation des vergers, l'année de production sont des paramètres influençant fortement la composition des jus.

## **2.1 Jus d'abricot**

Le jus d'abricot (Tableau XXVIII) présente un degré brix de 11,2°B. Cette teneur est la plus faible des trois jus extraits par micro-onde. De plus, cette valeur est plus faible que celle publiée par Chauhan, Tyagi *et al.* (2001) sur les jus obtenus par liquéfaction (15,5°B).

La teneur en sucre de ces jus est de 44 g.L<sup>-1</sup> composés de 13% de glucose, 8% de fructose et de 78% de saccharose, soit une teneur plus faible que dans les fruits et une augmentation de la proportion de saccharose. Après liquéfaction, Chauhan, Tyagi *et al.* (2001) mesurent une teneur en sucre de 99 g.L<sup>-1</sup>. Ces concentrations sont aussi plus faibles que celles recensées par Versari, Parpinello *et al.* (2008) dans les jus commerciaux : concentrations de 58 à 70 g.L<sup>-1</sup> avec une dominance faiblement marquée du saccharose comparé au fructose et glucose. Cependant, Gurrieri, Audergon *et al.* (2001), ont montré dans les abricots une large dominance du saccharose comparée aux sucres réducteurs. Les données industrielles de productions françaises recensent des valeurs en sucres totaux comprises entre 125 et 140 g.L<sup>-1</sup> dans les nectars et les jus mélangés à base d'abricots.

La concentration en acides est de 11 g.L<sup>-1</sup> avec une dominance de l'acide citrique (73%), soit une teneur plus faible que dans le fruit mais sans changement des proportions. Ces valeurs sont élevées comparées aux jus commerciaux qui ont des concentrations comprises entre 3 et 5 g.L<sup>-1</sup> avec des teneurs équivalentes en acides citrique et malique. A la dégustation ces fruits apparaissent effectivement inhabituellement acides.

La teneur en polyphénols est de 1,5 g.L<sup>-1</sup> en équivalent acide chlorogénique (EAC) dont 8,1 mg.L<sup>-1</sup> équivalent cyanidine glucoside (ECG) d'anthocyanes. Dans les purées d'abricot, la teneur moyenne en polyphénols analysée par CLHP est de 0,13 g.L<sup>-1</sup> (Dragovic-Uzelac, Delonga *et al.*, 2005). La teneur en protéines est de 8 g.L<sup>-1</sup>. Dans les jus commerciaux, la teneur en acides aminés libres (asparagine, proline et glycine) est de 1,2 g.L<sup>-1</sup> (Versari, Parpinello *et al.*, 2008).



## 2.2 Jus de raisin

Le jus de raisin (Tableau XXVIII) présente le degré brix le plus élevé avec 19,2°B. Les sucres représentent 136 g.L<sup>-1</sup> dont 49 % de glucose, 50% de fructose et 1% de saccharose. Il n'y a pas eu de modifications qualitatives entre le fruit et le jus, mais ici encore la concentration baisse après extraction micro-onde. Ces teneurs sont plus faibles que les jus de raisin commerciaux avec 150 g.L<sup>-1</sup> pour les données industrielles UNIJUS et pour les jus de raisin cv Muscat de la marque Joker™ (Tableau XXII). D'autres jus de raisin obtenus par macération et sonification présentent des valeurs entre 122 et 142 g.L<sup>-1</sup> (Liu, Wu *et al.*, 2006). Cependant, des jus issus de raisins d'Amérique du Sud faiblement sucrés présentent des concentrations moyennes de 100 g.L<sup>-1</sup> (Lester, Manthey *et al.*, 2007). Les jus de raisin ont des teneurs en sucres souvent très élevées qui jouent négativement sur l'acceptabilité des jus par les consommateurs et qui, de plus, imposent une consommation limitée (Lieu et Le, 2010). La concentration en acide est faible (4,4 g.L<sup>-1</sup>) avec une teneur élevée en acide malique (70%), suivie par l'acide tartrique (29%). Il y a donc eu ici extraction préférentielle de l'acide malique, contrairement à ce qui a eu lieu pour les abricots.

La teneur en polyphénols des jus de raisin est la plus basse des quatre jus. Elle est de 1 g.L<sup>-1</sup> EAC dont 38,8 mg.L<sup>-1</sup> d'anthocyanes ECG provenant uniquement de la peau des raisins utilisés (Vicens, 2007). Cette teneur est plus basse que dans le cas de jus concentré reconstitué où la teneur varie de 1,4 à 2,8 g.L<sup>-1</sup> équivalent acide gallique (EAG) (Gollucke, Catharino *et al.*, 2009). La teneur en anthocyanes est cinq fois plus faible que celle trouvée dans les jus fabriqués à partir de raisins sans pépin (158 mg.L<sup>-1</sup>) (Tiwari, Patras *et al.*, 2010).

La teneur en protéine est dix fois plus élevée (10,4 g.L<sup>-1</sup> eq. SAB) que celle trouvée dans les jus de raisin Joker™ (1g.L<sup>-1</sup>) (Tableau XXII).

La teneur en MIA est élevée (8 g.kg<sup>-1</sup> de jus) par rapport aux jus industriels (1g.kg<sup>-1</sup> de jus de raisin Joker™), c'est une spécificité causée par le procédé d'extraction qui se fait sans enzymation. Le fort écart type relevé signale la difficulté de précipiter de façon reproductible les MIA des jus. En effet, des co-précipitations ont lieu, ce que démontre la couleur brune des MIA lyophilisés (Manas et Sauracalixto, 1993).

Les MIA (Tableau XXX) présentent une forte proportion d'acides uroniques (AU) révélatrice de la présence de pectines. Les oses neutres majoritaires du MIA sont classés par ordre croissant : le glucose, le galactose, et l'arabinose. L'arabinose et le galactose sont présents dans des proportions assez proches avec un rapport Ara/Gal de 0,88. Le rhamnose

Tableau XXIX : Teneur en polyphénols (mg.L<sup>-1</sup>) dans les jus de prune (cv. Président) extraits par micro-onde (MO) à trois densités de puissances (0,5 ; 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup>) et dans les jus de prune (cv. Najbolia) extraits à 1 W.g<sup>-1</sup>.

	Procyanidines		Flavan-3-ol monomérique	Acides phénoliques				Flavonols			Anthocyanes			
	DP			CAT	nCQA	Coum	CQA	Tot	Rut	Gly. Quer.	Tot	Cya-3-glu	Cya-3-rut	Péo-3-rut
<b>Prunes cv, Président</b>														
jus MO 0,5 W.g-1	309	3,55	4,9	140	9	14	163	12,3	10,0	22,3	18,3	13,3		31,6
jus MO 1 W.g-1	397	2,70	5,3	162	5	15	182	10,4	11,0	21,4	10,1	8,5		18,6
jus MO 1,5 W.g-1	469	2,45	5,8	172	7	17	196	9,6	13,4	23,0	11,5	9,3		20,8
<i>écart-type</i>	74	0,2	1,4	13	0,3	0,3		0,2	0,1		0,1	0,2		
<b>Prunes cv, Najbolia</b>														
jus MO 1W.g-1	329	8,4		311	8	37	356	10,00	8,20	18,2	6,0	36,3	6,8	49,0
<i>écart-type</i>	16	0,4		6,4	0,1	2,1		1,4	0,6		1,1	0,2	0,1	

Avec : DP : degré de polymérisation, Tot : total, CAT : (+)-catéchine, nCQA : acide néochlorogénique, Coum : acide p-coumaroylquinique, CQA : acide chlorogénique, rut : rutine, Gly.Querc : autres glycosides de quercétine, Cya-3-glc : cyanidine-3-O-glucoside, Cya-3-rut : cyanidine-3-O-rutinoside, Péo-3-rut : péonidine-3-O-rutinoside,

représente 2% de l'AU, ce qui montre la présence d'une faible proportion de rhamnogalacturonane parmi les polysaccharides des extraits, une différence marquée par rapport aux jus obtenus après enzymation. Les pectines présentent un faible degré de méthylation (32), plus faible que celui relevé dans les fruits (52), et généralement conforme avec le DM bas des pectines de raisin (Nunan, Sims *et al.*, 1997).

Le glucose est fortement représenté, et du mannose est présent. Ces deux sucres, d'origine cellulosique et hémicellulosique, pourraient marquer la présence des fragments pariétaux dans les jus.

### **2.3 Jus de prune**

Les jus de prune (Tableau XXVIII) extraits par micro-onde présentent un degré brix moyen de 12 °B. Cette valeur est très proche de celle du jus d'abricot. La fraction majoritaire est composée des sucres, 67 g.L<sup>-1</sup> pour les jus de la variété Najbolia et 44 g.L<sup>-1</sup> pour les jus de la variété Président. Il s'agit d'une teneur nettement plus basse que celle relevée dans les fruits de Président. Les deux variétés diffèrent par une teneur en saccharose nettement plus élevée dans les jus Najbolia. Le fructose est le sucre le plus abondant dans les jus Président et le moins abondant dans les jus Najbolia. Ces mêmes proportions de sucre sont observées dans les jus de prunes par Will et Dietrich (2006) alors que Chang, Siddiq *et al.* (1994) relèvent des teneurs en saccharose plus élevées que celle en glucose et fructose.

La concentration en acide est d'environ 7 g.L<sup>-1</sup>, presque exclusivement de l'acide malique. La proportion d'acide citrique est négligeable.

La teneur en polyphénols totaux (3,2 et 4 g.L<sup>-1</sup> EAC pour les jus de Président et Najbolia respectivement) est trois à quatre fois celle trouvée dans les jus de raisin et plus du double de celle des jus d'abricot, ce qui confère au jus de prune de fortes qualités anti-oxydantes.

La teneur en anthocyanes dans le jus de Najbolia est le triple de celle du jus de Président, alors que les teneurs dans le fruit étaient proches. Des valeurs similaires ont été mesurées dans les jus de prune obtenus sous presse (Chang, Siddiq *et al.*, 1994).

L'analyse de ces jus par CLHP (Tableau XXIX, jus réalisé à 1 W.g<sup>-1</sup>) permet une analyse fine de la composition en polyphénols. La somme des polyphénols analysée par

Tableau XXX : Rendement et composition des MIA ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) des jus de prune (prunes cv. Président) et de raisin

	Rendement	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	AGU	MeOH
<u>Jus de Prune</u>										
jus 0.5 $\text{W.g}^{-1}$	550	4	2	22	6	18	57	141	471	57 (58)
jus 1 $\text{W.g}^{-1}$	737	4	2	20	6	18	52	148	532	59 (62)
jus 1.5 $\text{W.g}^{-1}$	537	3	1	14	4	13	43	105	729	57 (44)
écart-type	108	0.7	0.7	4.7	1.3	3.3	8.0	9.0	32.0	1.3
<u>Jus de Raisin</u>										
jus 0.5 $\text{W.g}^{-1}$	620	2	0	13	2	3	15	19	25	3 (53)
jus 1 $\text{W.g}^{-1}$	804	2	0	15	4	3	17	23	78	4 (32)
jus 1.5 $\text{W.g}^{-1}$	747	2	0	14	3	3	17	20	101	3 (21)
écart-type	152	0.5		1.1	1.1	0.5	1.3	2.4	44.1	0.7

Avec Rha : rhamnose, Fuc : fucose, Ara : arabinose, Xyl : xylose, Man : mannose, Gal : galactose, AGU : acide galacturonique, MeOH : méthanol, DM : degré de méthylation.



CLHP est inférieure à la concentration des polyphénols totaux trouvés dans les jus. Aux causes citées au paragraphe 1.3, il faut ajouter ici la présence de molécules néoformées. En CLHP, seuls les polyphénols natifs ont été quantifiés, alors que le dosage par la méthode de Folin-Ciocalteu prend en compte les produits d'oxydation.

Les procyanidines sont majoritaires dans le jus de prune Président (52%) et les acides phénoliques dans le jus de prune Najbolia (47%). Il y a donc eu pour cette variété une rétention préférentielle des procyanidines, majoritaires dans le fruit, par le résidu d'extraction. La composition en anthocyanes des jus reflète la composition des fruits, avec une domination de la cyanidine-3-O-glucoside et la présence de péonidine-3-O-rutinoside dans le jus Najbolia. Seules la cyanidine-3-O-glucoside et la cyanidine-3-O-rutinoside, en proportions proches, ont été identifiées dans les jus de Président. Ces teneurs sont plus faibles que celle trouvée dans les jus de prunes obtenus par enzymation et pressurage (Will et Dietrich, 2006) où quatre anthocyanes ont été répertoriées.

La teneur en MIA dans le jus de Président (Tableau XXX jus de prune réalisé à 1 W.g<sup>-1</sup>) est de 737 et 617 mg.L<sup>-1</sup> pour les jus de Najbolia (Tableau XXXIV, jus micro-onde). Ces teneurs sont équivalentes à celles rapportées par Chang, Siddiq *et al.* (1994) pour un jus obtenu avec une pectinase (Clarex L) sans pasteurisation, et la moitié de celle d'un jus extrait sans enzymation. La composition des MIA des jus de prune montre, comme attendu en l'absence de traitement enzymatique, une forte teneur en acide uronique révélatrice de la présence de pectines. Les oses neutres majoritaires de la pectine des jus de Président sont classés par ordre décroissant : le glucose, le galactose, et l'arabinose, tandis que dans les jus de Najbolia, les teneurs en galactose et arabinose sont plus élevées que celles en glucose

Le rapport Ara/Gal est de 0,4 et 0,5 dans les jus de Président et Najbolia respectivement. Le rhamnose représente dans les deux jus moins de 4% de l'AU, donc ici encore une faible proportion de rhamnogalacturonanes. Ces pectines sont fortement méthylées avec un degré de méthylation autour de 60, en accord avec les forts DM des pectines des prunes. Le glucose est fortement représenté et la proportion de mannose est significative. Ces deux sucres, d'origine cellulosique et hémicellulosique, pourraient marquer la présence des fragments pariétaux dans les jus.

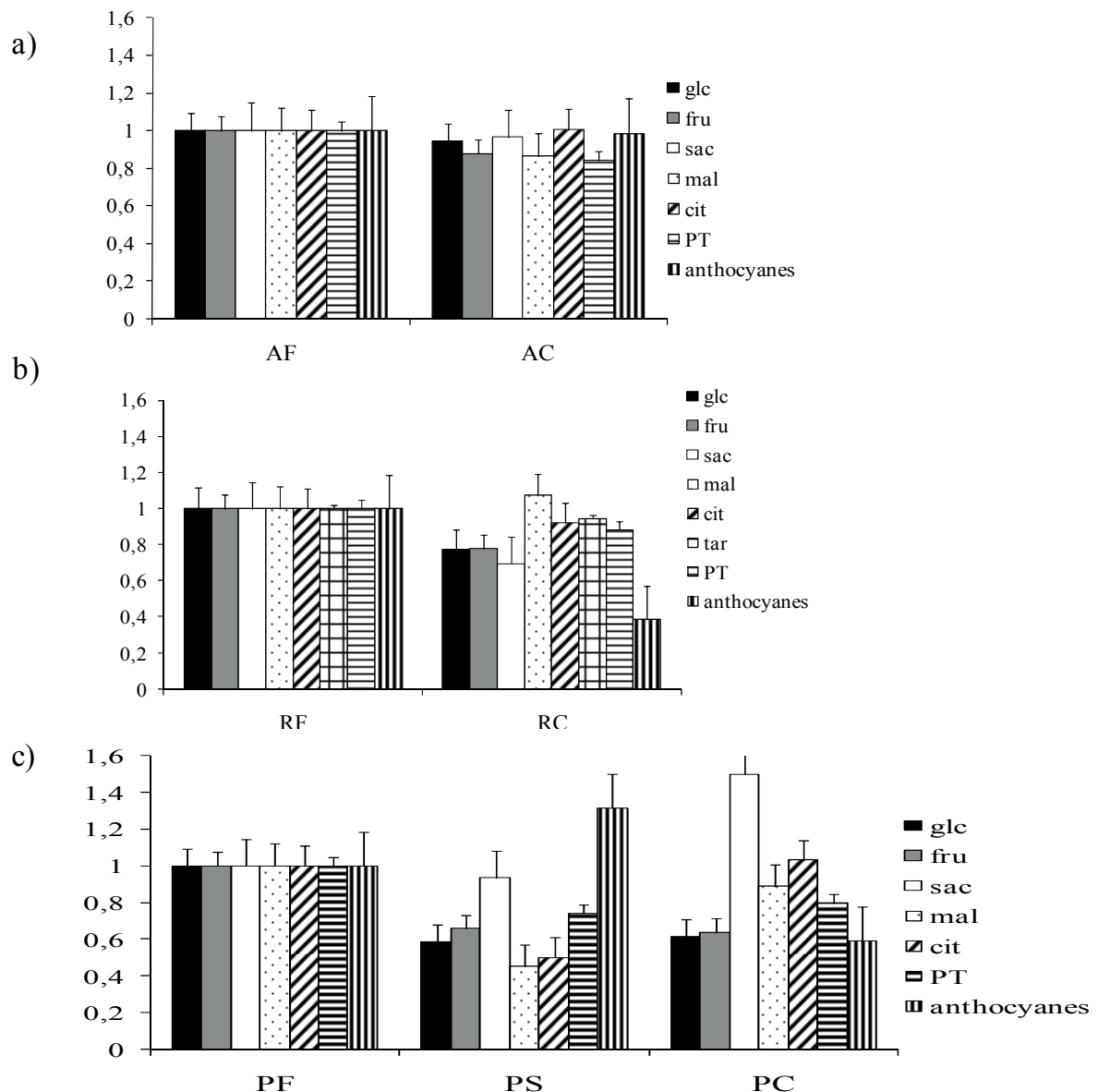


Figure 60 : Comparaison des concentrations en glucose, fructose, saccharose, acide malique, acide citrique, acide tartrique (raisin), polyphénols totaux et anthocyanes pour les jus d'abricot, les jus de raisin et les jus de prune, indépendamment de la puissance d'extraction. Les concentrations dans les jus issus des fruits congelés ou surmatures sont rapportées à celles mesurées dans les jus de fruits frais, indépendamment de la puissance. a) AF : jus d'abricot extrait à partir d'abricots frais, AC : jus d'abricot extrait à partir d'abricots congelés b) RF jus de raisin extrait à partir de raisins frais RC : jus de raisin extrait à partir de raisins congelés, c) PF jus de prune extrait à partir de prunes fraîches à maturité commerciale PS : jus de prune extrait à partir de prunes fraîches surmatures, PC : jus de prune extrait à partir de prunes congelées.

### 3 Impact des variables du procédé sur la composition des jus

L'impact des variables du procédé a été discuté pour le rendement en jus en partie I. Il s'agit de voir ici de quelle manière ces variables vont influencer sur la composition finale des jus. Les différentes variables testées sont les suivantes :

- Avant le procédé d'extraction, nous testons trois types de décongélation, longue à température ambiante, rapide par micro-onde et aucune décongélation (Figures 62 et 63).
- Au cours du procédé d'extraction, les variables seront d'une part apportées par l'état de la matrice végétale (fruits frais, surmatures ou congelés) (Figures 60 et 61), et d'autre part par le procédé en variant la puissance d'extraction (Figures 64 et 65). Selon la variable testée, les données sont traitées indépendamment de la puissance ou indépendamment de l'état du fruit.
- En sortie d'extraction du fruit, nous testerons l'impact de la condensation de la vapeur produite lors du chauffage micro-onde (Figures 62 et 63).

#### 3.1 Impact de la surmaturité

La surmaturité a une influence sur le rendement en jus, causée par une déshydratation du fruit et une baisse de l'élasticité de la peau et de la chair, d'où des membranes plus difficiles à rompre.

Lorsque l'extraction se fait avec des fruits surmatures (Figure 60), les jus de fruits sont statistiquement ( $pvalue=0.05$ ) moins concentrés en sucres, acides, et polyphénols, ainsi la surmaturité des fruits entraîne une perte d'extractibilité de ces composés. Torchio, Cagnasso *et al.* (2010) ont montré que la maturation des raisins entraîne une réduction de l'extractibilité des tannins causée par la formation de liaisons polymères entre les unités flavan-3-ols. Les procyanidines sont les composés majoritaires des prunes, et la diminution de leur extractibilité pourrait avoir un impact notable sur la concentration en polyphénols totaux des jus. La concentration en anthocyanes des jus n'est pas significativement différente entre fruits frais et surmatures ( $pvalue=0,05$ ). Les photographies de prunes prises à maturité commerciale (Figure 61a) et à surmaturité (Figure 61d) permettent un début d'explication. En effet, à

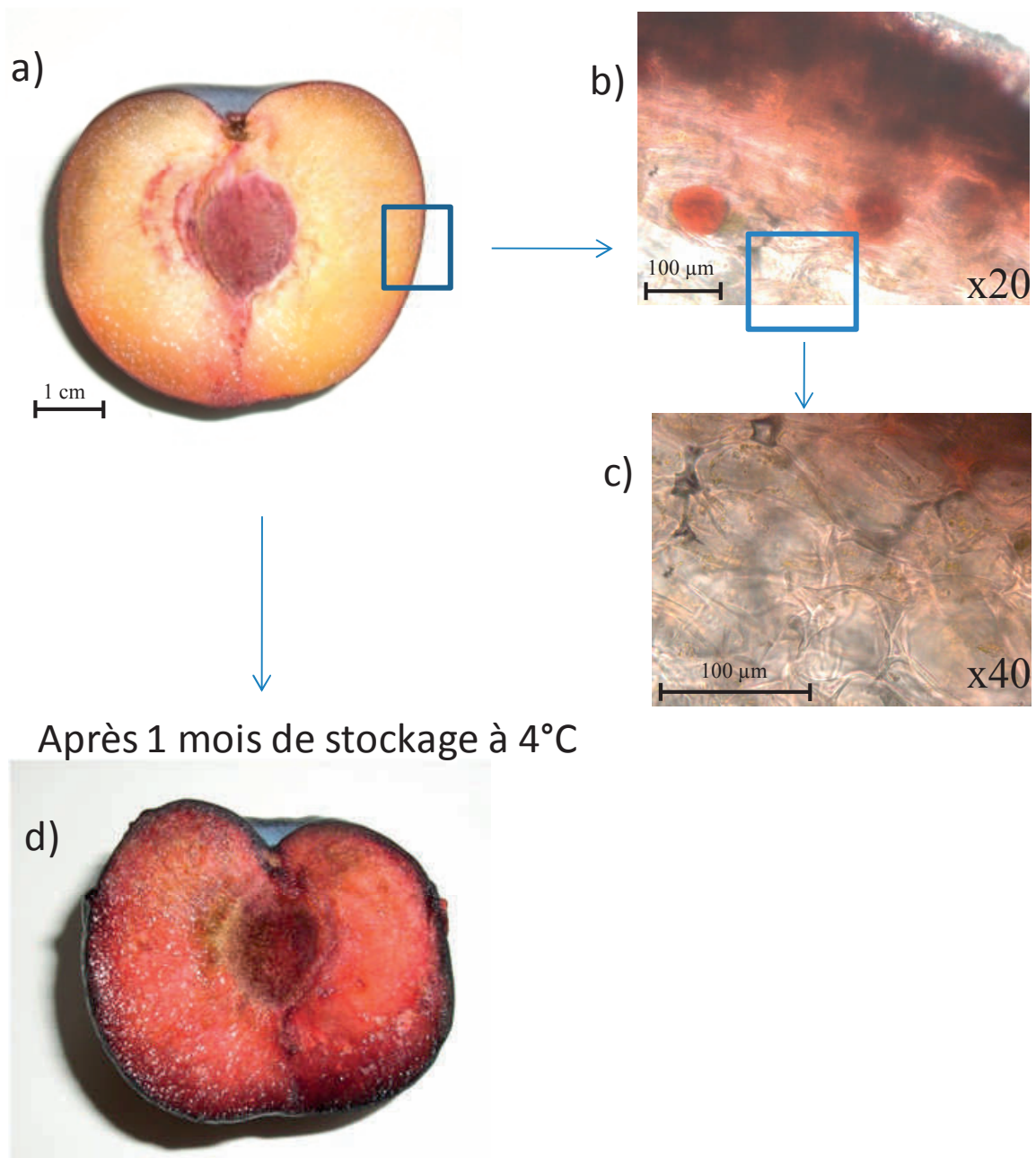


Figure 61 : a) Prune cv. Président coupée en 2 à maturité commerciale; b) Photo par microscope x20 de cellules de l'épiderme; c) cellule du parenchyme de la prune cv. Président. Photo M. El Maataoui x40 ; d) Prune cv. Président coupée en 2 après 1 mois de stockage à 4°C.

maturité, les anthocyanes sont bien localisées dans les cellules épidermiques (Figure 61 b, c) (Raynal et Moutounet, 1989). Les parois cellulaires dans l'épiderme de la peau sont beaucoup plus épaisses que dans la chair (cf. chapitre IV, I), ainsi rompre la paroi afin de libérer les anthocyanes dans la peau paraît plus difficile que libérer des constituants situés dans la chair. La photographie prise à surmaturité montre la diffusion des anthocyanes dans la chair des fruits surmatures. Les anthocyanes se trouvant localisées dans la chair seraient ainsi plus facilement extractibles.

### **3.2 Impact de la congélation**

Pour les abricots, l'augmentation des rendements observée avec les fruits congelés ne se traduit pas par une modification significative des concentrations ( $pvalue=0,05$ ) (Figure 60a), bien qu'une tendance à l'augmentation soit observée. Au contraire pour les raisins et les prunes (Figure 60 b, c), les concentrations sont en générales significativement plus faibles dans les jus issus de fruits congelés que dans ceux de fruits frais ( $pvalue=0,05$ ).

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces divergences entre les jus d'abricot d'une part et les jus de raisin et de prune de l'autre.

L'augmentation du volume constatée lors de l'extraction avec des fruits congelés n'est pas uniquement constituée d'eau mais aussi des composés nutritifs des fruits. La congélation permettrait une hydrodiffusion facilitée des composés nutritifs et de l'eau des fruits. La congélation entraîne une perte de la structure cellulaire des fruits, provoquée par la croissance des cristaux de glace (Letang et Chourot, 2002 ; Petzold et Aguilera, 2010). Leur fonte fragiliserait les structures pariétales, facilitant la création de pores lors du chauffage micro-ondes. Enfin, la congélation des raisins et prunes s'est faite a posteriori des extractions avec les fruits frais. Les prunes congelées ont un niveau de maturation quasi-équivalent aux prunes surmatures. L'impact de la surmaturité sur l'extraction a été discuté dans le paragraphe précédent. La comparaison des jus de prunes congelées et de prunes surmatures montre des concentrations équivalentes en sucres et polyphénols.

La concentration en anthocyanes est statistiquement inférieure ( $pvalue=0,05$ ) dans les jus issus de fruits congelés. Avec les fruits congelés, l'extraction commence à des températures basses ne permettant pas l'inactivation de la PPO, ce qui se matérialise par la couleur brune des premiers jus extraits. Les anthocyanes ne sont pas des substrats directs de la

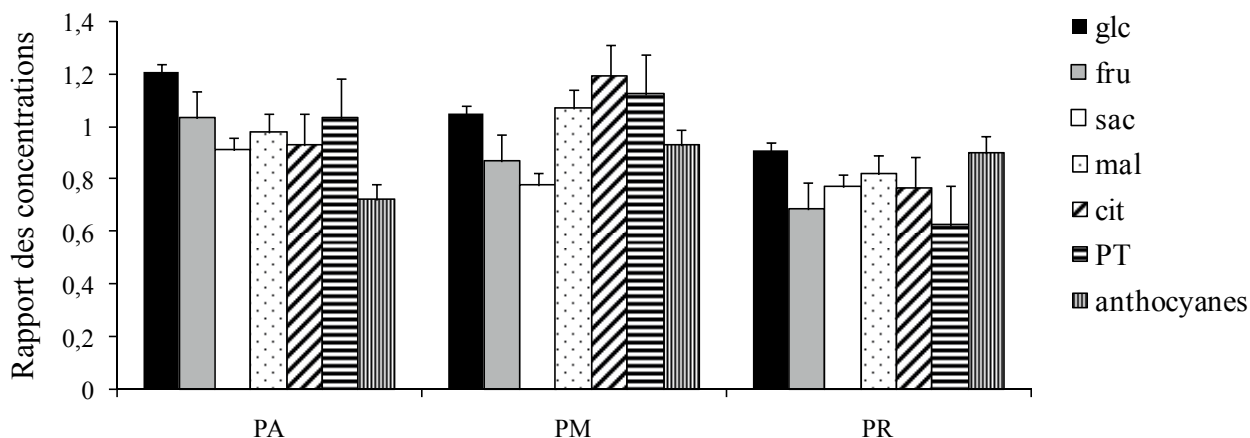


Figure 62 : Comparaison des concentrations en glucose, fructose, saccharose, acide malique, acide citrique, polyphénols totaux et anthocyanes pour les jus de prunes issus de prunes congelées. Les concentrations dans les jus issus des fruits décongelés 10 h à température ambiante (PA), décongelés 6 min par micro-onde à  $200 \text{ W.g}^{-1}$  (PM) et extrait à partir de prunes congelées avec un condenseur (PR) sont rapportées à celles mesurées dans les jus de prune extraits à partir de prunes congelées (PC).

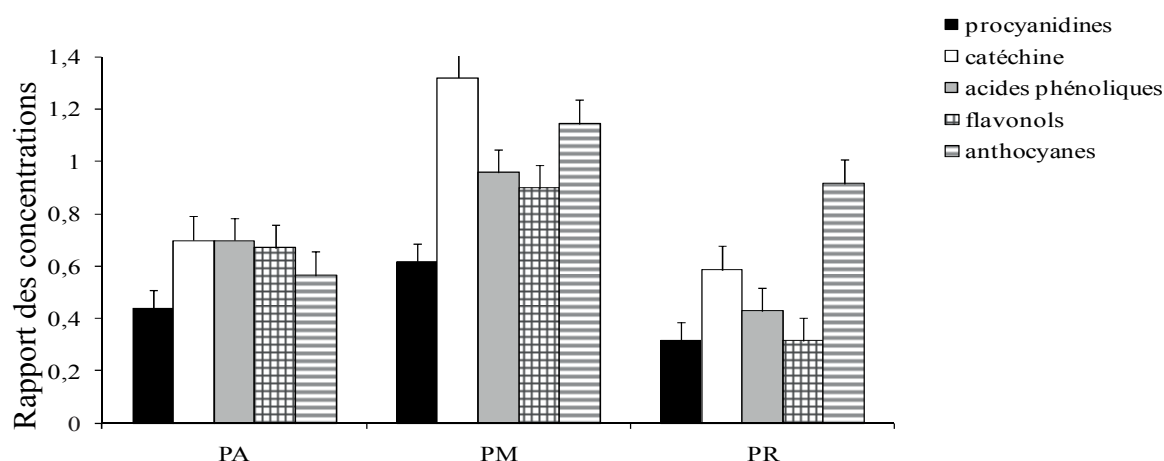


Figure 63 : Comparaison des concentrations en procyanidines, flavan-3-ols monomériques, acides phénoliques, flavonols et anthocyanes pour les jus de prunes issus de prunes congelées. Les concentrations dans les jus issus des fruits décongelés 10 h à température ambiante (PA), décongelés 6 min par micro-onde à  $200 \text{ W.g}^{-1}$  (PM) et extrait à partir de prunes congelées avec un condenseur (PR) sont rapportées à celles mesurées dans les jus de prune extraits à partir de prunes congelées (PC).

PPO (Raynal, 1989; Kim, Jeong *et al.*, 2003), mais des réactions d'oxydations couplées avec les quinones sont à l'origine de leur dégradation et la PPO est leur principale cause de dégradation. Cette perte pourrait être aussi causée par le stockage auquel les anthocyanes sont sensibles (Srivastava, Akoh *et al.*, 2007).

### **3.3 Impact de la décongélation préalable**

La décongélation préalable des prunes à température ambiante et par micro-onde (6 min à 200 W), ne semble pas avoir d'impact sur l'extraction des sucres (Figure 62). Cependant, un léger impact est observé sur l'extraction des anthocyanes et des polyphénols qui semblerait facilitée par une décongélation micro-onde. Les analyses par CLHP (Figure 63) montrent que les substrats directs de la PPO (acides phénoliques et flavan-3-ols monomériques) et les anthocyanes ont des concentrations équivalentes dans les jus issus de fruits traités directement ou après décongélation micro-onde. Les procyanidines ont des concentrations plus faibles dans les jus après décongélation micro-onde montrant probablement une plus forte rétention par la paroi cellulaire des fruits. Les jus issus de fruits décongelés à température ambiante ont les concentrations les plus faibles en polyphénols natifs, ce qui indique une oxydation lors de la décongélation longue à température ambiante. De plus, la faible teneur en procyanidines dans les jus montre une rétention de ces composés par les parois causée par une déstructuration lente du fruit et ainsi un temps de contact prolongé.

Ainsi, l'extraction des procyanidines pourrait être facilitée par une décongélation brutale du fruit (c'est-à-dire chauffé directement sans étape de décongélation) limitant le contact composé-paroi. De plus, la décongélation à température ambiante n'augmente pas l'extraction des composés et favorise l'oxydation des jus.

### **3.4 Impact du condenseur**

L'ajout du condenseur dans notre procédé est bien responsable d'une dilution des jus par rapport aux mêmes conditions sans condenseur (Figure 62). L'augmentation du volume est de l'ordre de 50%. Les sucres totaux, les acides et les polyphénols totaux ont des concentrations diminuées de 22, 19 et 38%. Cette différence de transfert est difficilement

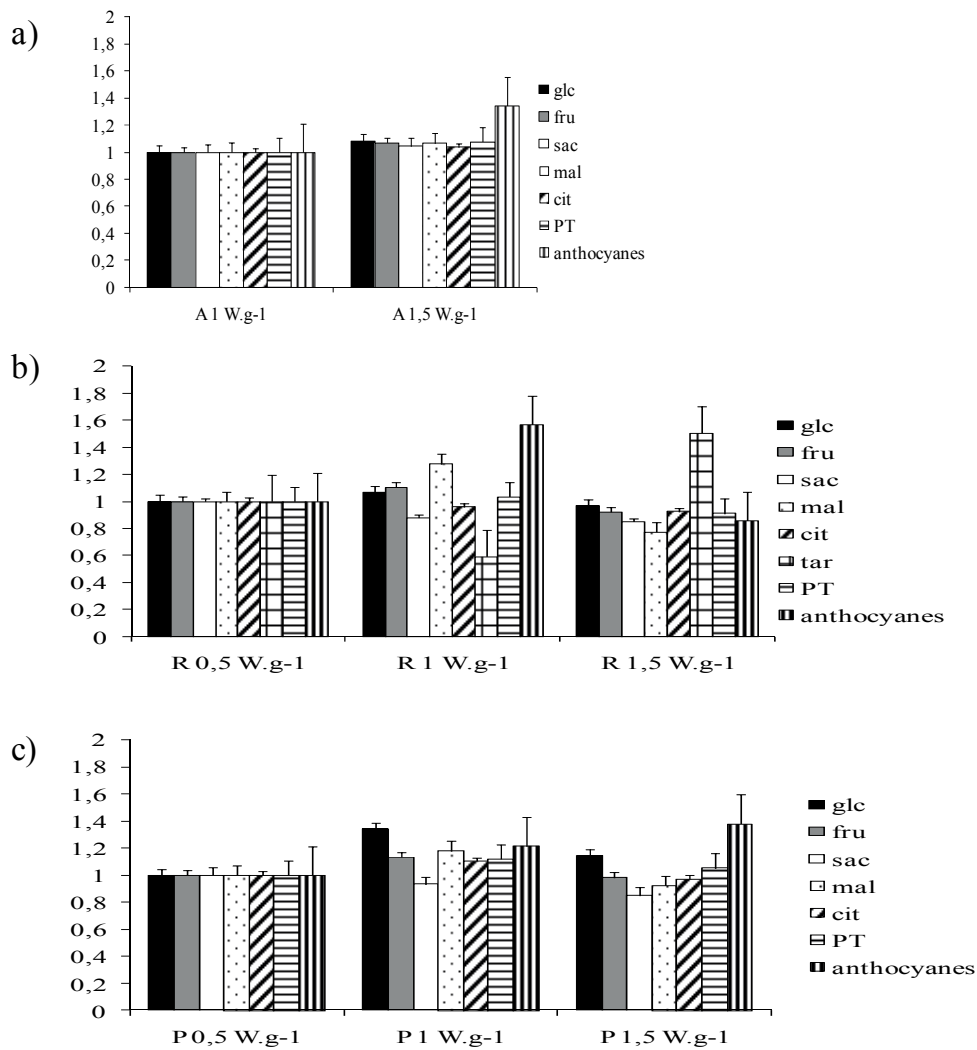


Figure 64 : Comparaison des compositions des jus issus des fruits indépendamment de l'état (congelés ou non) à différentes puissances. Les concentrations des jus extrait à 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup> sont rapportées à celle mesurées à 0,5 W.g<sup>-1</sup>. P : jus de prune.

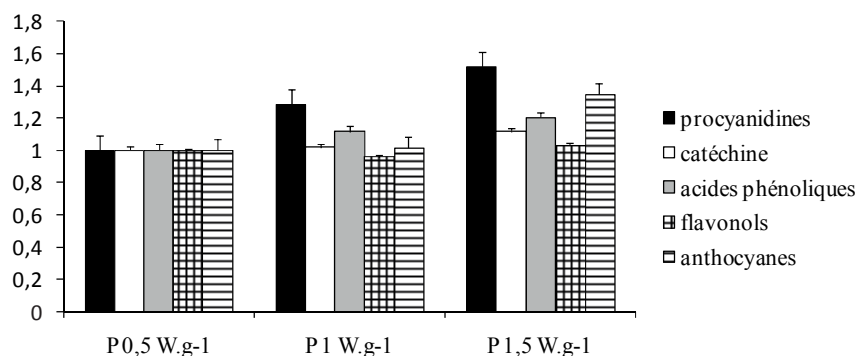


Figure 65 : Comparaison des compositions des jus issus de prunes congelées à différentes puissances. Les concentrations des jus extrait à 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup> sont rapportées à celle mesurées à 0,5 W.g<sup>-1</sup>. P : jus de prune.



explicable, sachant que le condenseur permet uniquement la récupération d'eau, or, les facteurs de dilutions ne sont pas conservés. Malgré une dilution apportée par la vapeur refroidie, la concentration en anthocyanes totale est comparable, montrant, ainsi, une plus faible détérioration de ces molécules. Le jus, passant par le condenseur, sort à des températures nettement inférieures (légèrement supérieure à la température de l'eau de refroidissement) et peut préserver les anthocyanes de la dégradation thermique. L'analyse des polyphénols spécifiques montre une diminution globale de 64% des polyphénols avec peut-être une oxydation supplémentaire des composés polyphénoliques natifs comparée à une extraction avec tube (Figure 63). Ce procédé favorise moins l'inactivation de la PPO que le procédé sans condenseur, puisque le jus est rapidement refroidi lors de sa sortie du fruit. La PPO peut agir plus longtemps, favorisant l'apparition de composés oxydés non dosés en CLHP.

Le condenseur permet la récupération de l'eau transformée en vapeur, donc une augmentation du volume de jus, mais ces jus sont moins concentrés en composés nutritifs. De plus, ce procédé favoriserait l'oxydation des polyphénols en empêchant l'inactivation de la PPO.

### **3.5 Impact de la puissance**

Pour les trois jus testés, il n'y a pas d'impact significatif ( $pvalue=0,05$ ) de la puissance sur la concentration en sucres totaux, en acides totaux et en polyphénols totaux (Figure 64). Bien que le rendement en jus soit affecté par l'augmentation de puissance, les teneurs sont constantes quelle que soit la puissance pour chacun des fruits testés. Il n'y a pas de compensation entre le volume extrait et la concentration.

L'augmentation de puissance est accompagnée d'une augmentation de la concentration en anthocyanes entre 0,5 et 1  $W.g^{-1}$  dans les jus de prune et de raisin et entre 1 et 1,5  $W.g^{-1}$  dans les jus d'abricot et les jus de prune. Les jus de raisin extraits à 1,5  $W.g^{-1}$  présentent la concentration en anthocyanes la plus faible. Cette perte pourrait être causée par une surchauffe locale des raisins. Ce profil n'est pas retrouvé pour les autres composés. L'étude de la diffusion des anthocyanes dans les jus de raisin pourra nous permettre de comprendre mieux ce résultat.



L'analyse des polyphénols spécifiques par CLHP ne confirme pas les résultats obtenus avec les polyphénols totaux (Figure 65). En effet, l'augmentation de puissance appliquée est concomitante à l'augmentation de concentration des procyanidines et des acides phénoliques. Les acides phénoliques (Raynal, 1989) sont les substrats privilégiés de la PPO, et sont plus concentrés dans les jus à 1,5 W.g<sup>-1</sup>. La montée plus rapide de la température à forte puissance permettrait une inactivation plus rapide de la PPO. L'augmentation de la puissance faciliterait l'extraction des procyanidines par une déstructuration plus rapide de la paroi des prunes. En effet, plus le temps de contact procyanidine-paroi est long, plus la rétention de ces composés sera élevée. La différence entre les deux méthodes de dosage des polyphénols serait due à la détection des polyphénols oxydés par la méthode de Folin-Ciocalteu.

La concentration en anthocyanes natives est plus faible dans les jus extraits à 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup> que dans les jus extraits à 0,5 W.g<sup>-1</sup>. Le dosage par CLHP permet l'analyse des anthocyanes glycosylées et non des anthocyanes libres, il y aurait donc soit une augmentation de l'extraction des anthocyanes libres (cependant celles-ci sont minoritaires dans les fruits) avec l'augmentation de puissance, soit une perte par déglycosylation causée par le traitement thermique (Patras, Brunton *et al.*, 2010).

Les rendements en MIA sont comparables quels que soit la puissance d'extraction et les fruits testés excepté pour le jus de prune à 1,5 W.g<sup>-1</sup>.

L'analyse de la composition des MIA montre une augmentation de la teneur en acide uronique avec la puissance (Tableau XXX). Plus d'homogalacturonanes sont extraites quand la puissance augmente, ce qui pourrait être lié à une décompartmentation du fruit plus marquée et plus rapide permettant un passage accru de molécules de pectines. La hiérarchie des concentrations des oses majoritaires est conservée quelle que soit la puissance d'extraction, avec en ordre décroissant : le glucose, le galactose, et l'arabinose. Dans les jus de prune, le galactose domine nettement et le rapport Ara/Gal diminue avec l'augmentation de puissance avec des valeurs de 0,38, 0,38 et 0,32 à 0,5, 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup> respectivement. Pour les jus de raisin, l'arabinose et le galactose ont des teneurs assez proches, avec un rapport Ara/Gal qui varie de 0,82 à 0,88. Le degré de méthylation des pectines dans les jus de prune et de raisin diminue avec l'augmentation de puissance. De plus, ces résultats semblent indiquer que l'hydrolyse acide, responsable de la dépolymérisation des pectines, favorisée dans nos conditions, c'est-à-dire par un pH acide et une température élevée (Fraeye, De Roeck *et al.*, 2007) est plus importante à 0,5 W.g<sup>-1</sup> probablement à cause d'une durée d'extraction plus longue.

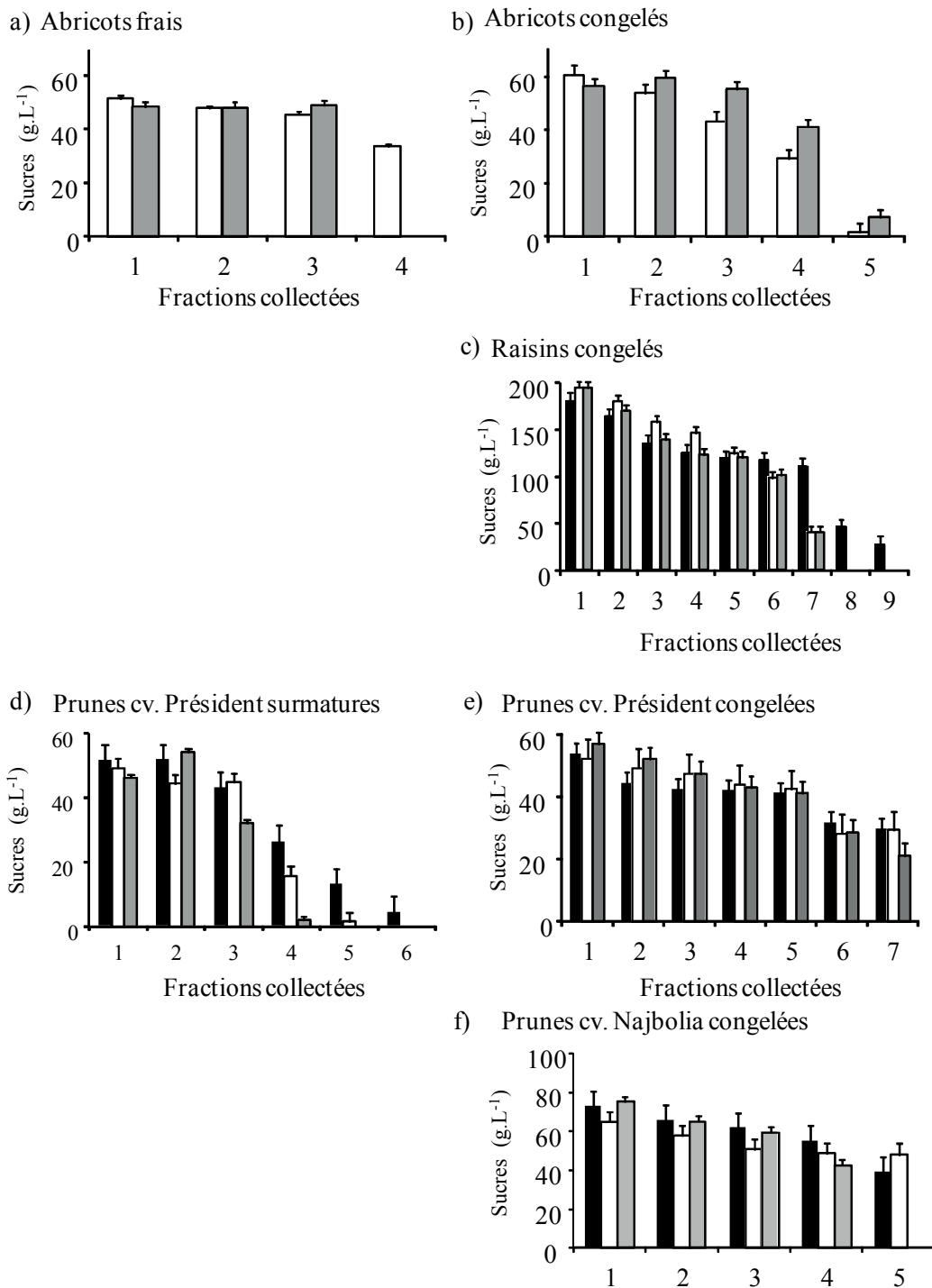


Figure 66 : Suivi de la diffusion des sucres (somme de glucose, fructose et saccharose) aux trois puissances d'extraction dans les jus a) d'abricot extrait à partir d'abricots frais, b) d'abricot extrait à partir d'abricots congelés c) de raisin extrait à partir de raisins congelés, d) de prune extrait à partir de prunes fraîches cv. Président surmatures, e) de prune extrait à partir de prunes congelées cv. Président, f) de prunes à partir de prunes congelées cv. Najbolia

- extraction à 0,5 W.g<sup>-1</sup>
- extraction à 1 W.g<sup>-1</sup>
- ▒ extraction à 1,5 W.g<sup>-1</sup>

### 3.6 Conclusion

En conclusion, le tableau A résume l'impact des variables du procédé et de la matrice sur la concentration des composés, indépendamment du rendement en jus obtenus.

Tableau A : Impact des variables de la matrice végétale initiale et du procédé d'extraction par micro-onde sur les concentrations en différents composants dans les jus.

	Sucres	Acides	Polyphénols totaux	Anthocyanes totales	Procyanidines	Catéchine	Acides phénoliques	Flavonols	Anthocyanes	Pectines	DM
Surmaturité	-	-	-	+							
Congélation	=	=	=	-							
Décongélation <i>T°ambiante</i>	=	=	=	-	-	-	-	-	-		
Décongélation <i>MO</i>	=	=	+	=	-	=	=	=	+		
Condenseur	-	-	-	=	-	-	-	-	=		
Puissance	=	=	=	+	+	+	=	=	-	+	-

Les concentrations en sucres, acides et polyphénols totaux semblent peu affectées par l'état de décongélation, le mode de décongélation ou la puissance. La composition des jus en ces composés majeurs est donc peu modifiée par la méthode même d'extraction, sauf l'effet de dilution lié au condenseur. La composition du jus qui sort du fruit semble donc relativement constante. Au contraire, le mode de décongélation et la vitesse d'extraction impactent les différents composés phénoliques de façon différentielle. L'étude de leur cinétique d'extraction dans la partie suivante éclairera ces différences.

## 4 Dynamique d'hydrodiffusion

Un suivi de la dynamique d'extraction a été fait par composé, pour les jus d'abricots frais et de prunes surmatures et les jus de fruits congelés, en collectant des fractions de jus tous les 40 mL (jus de raisin et prune) et 30 mL (jus d'abricot). La comparaison entre prunes congelées et surmatures est plus appropriée car les fruits sont au même état de maturité. Cette étude de la dynamique d'extraction nous permettra de discuter les rendements d'extractions observés au chapitre précédent.

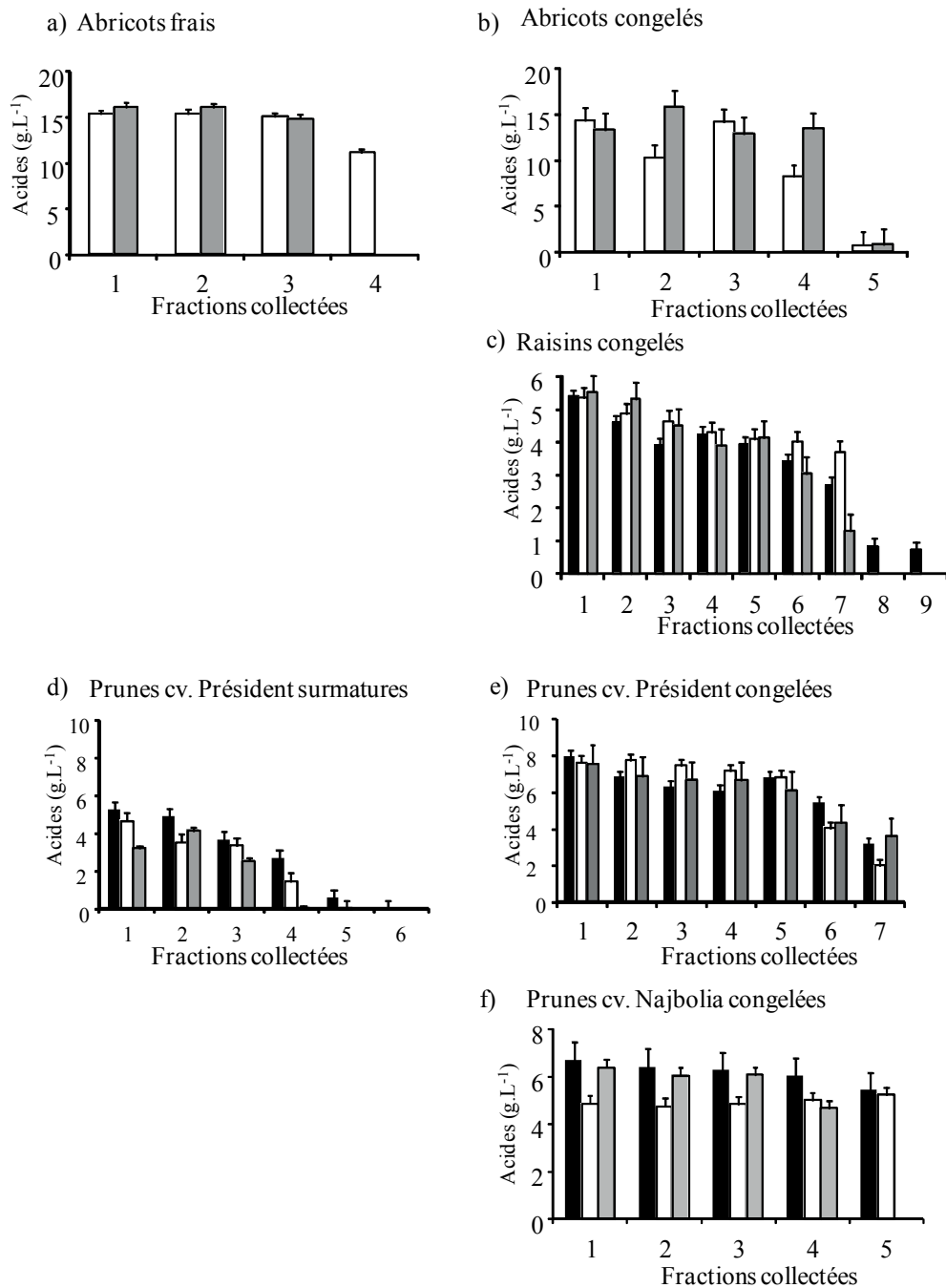


Figure 67 : Suivi de la diffusion des acides (somme des acides maliques, citriques, tartriques) dans les jus extrait à 0,5 ; 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup> à partir a) d'abricots frais, b) d'abricot extrait à partir d'abricots congelés, c) de raisin extrait à partir de raisins congelés, d) de prune extrait à partir de prunes fraîches cv. Président surmatures, e) de prune extrait à partir de prunes congelées cv. Président, f) de prunes à partir de prunes congelées cv. Najbolia

- extraction à 0,5 W.g<sup>-1</sup>
- extraction à 1 W.g<sup>-1</sup>
- ▒ extraction à 1,5 W.g<sup>-1</sup>

## **4.1 Les sucres**

Les sucres sont des composés solubles du fruit, et sont situés dans la vacuole avec une plus forte proportion dans la chair des fruits que dans la peau.

Quels que soit le fruit et l'état du fruit (Figure 66), les sucres sont libérés dès le départ de l'extraction du jus puis un épuisement, plus ou moins marqué, de la diffusion des sucres est observé en fin d'extraction. Dans la première fraction de jus collectée, la concentration en sucres est similaire quel que soit la puissance d'extraction ou l'état des fruits initiaux. Les fractions finales collectées quand l'extraction se passe à faible puissance sont globalement pauvres en sucres, expliquant l'obtention au final de concentrations identiques dans les jus obtenus par les différentes variantes d'état de la matrice et de puissance. L'augmentation du volume collecté par la congélation des fruits est accompagnée d'une diffusion prolongée des sucres, entraînant des jus plus concentrés dans les phases finales d'extraction. En exemple, la fraction 4 pour les jus de prunes surmatures (Figure 66, d) extrait à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  ne contient plus que  $15 \text{ g.L}^{-1}$  de sucres, alors que pour le fruit congelé, cette même fraction en contient encore plus de  $40 \text{ g.L}^{-1}$  (Figure 66, e) pour la même quantité de jus extrait. La congélation donc n'a pas d'impact sur les rendements d'extraction mais modifie la manière de diffuser des sucres. Ceci explique aussi que l'extraction à forte puissance ne permette pas d'épuiser les fruits.

## **4.2 Les acides**

Les acides sont majoritairement présents dans la chair et sont des composés solubles, situés dans les vacuoles des fruits. Leur comportement est donc logiquement très proche de celui des sucres.

Les profils (Figure 67) montrent une libération maximale au départ de l'extraction dans les jus de prunes cv. Président surmatures et congelées, dans les jus de raisins congelés et dans les jus de prunes cv. Najbolia congelées. Pour les jus d'abricots congelés extrait à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  au contraire la concentration en acides est maximale en fin de procédé. La puissance ne semble pas avoir d'impact significatif sur la vitesse de libération des acides. Cependant, le jus collecté en plus lors de l'application de faible puissance est pauvre en acides. Dans les jus de raisins congelés, l'épuisement de la concentration en acide est bien visible à  $0,5 \text{ W.g}^{-1}$ , contrairement aux deux autres puissances. Ici encore, l'arrêt d'extraction causé par la surchauffe des fruits intervient alors que l'épuisement n'est pas atteint.

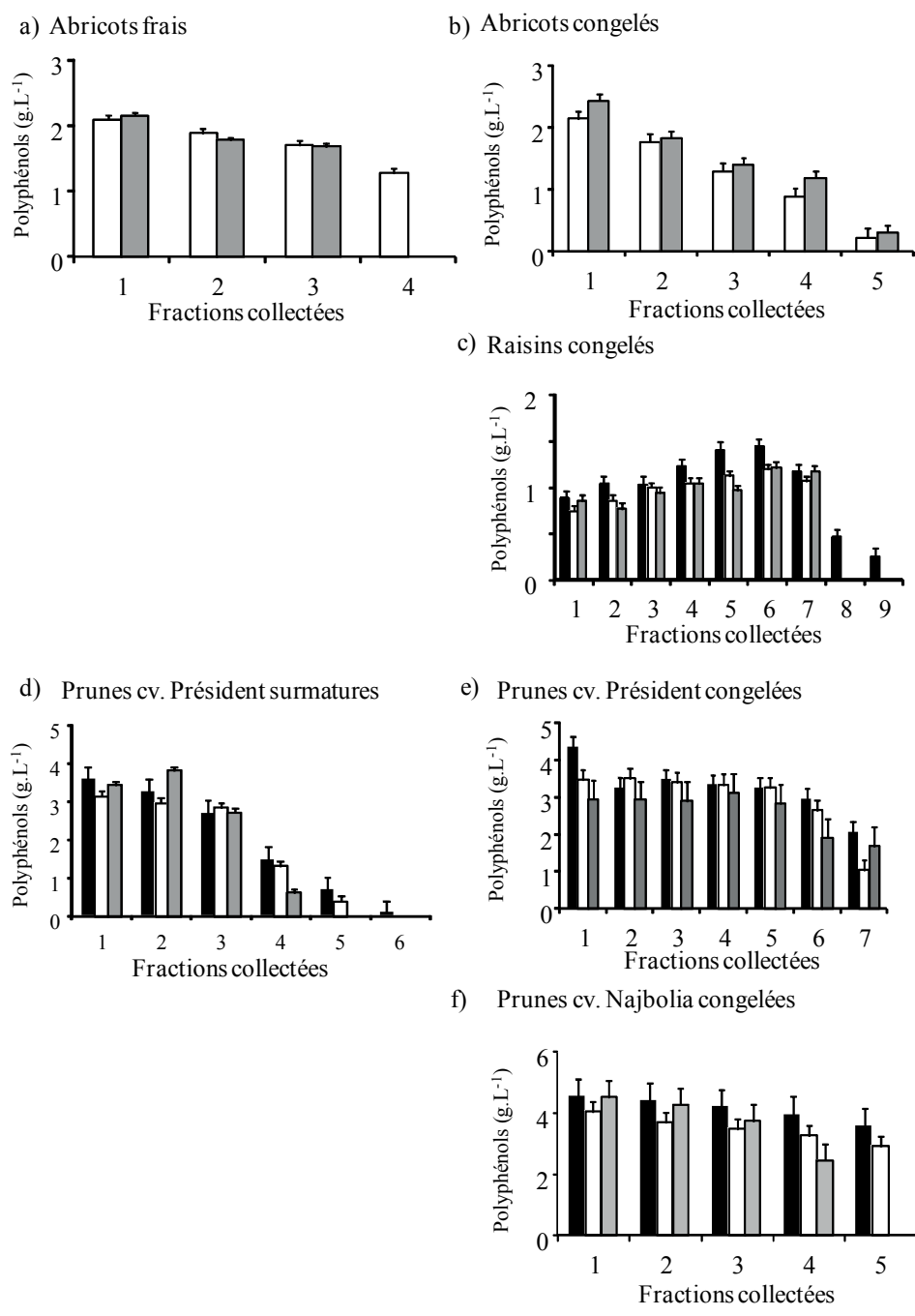


Figure 68 : Suivi de la diffusion des polyphénols totaux dans les jus extraits à 0,5 ; 1 et 1,5 W.g<sup>-1</sup> à partir a) d'abricots frais, b) d'abricots congelés c) de raisins congelés, d) de prunes fraîches cv. Président surmatures, e) de prunes congelées cv. Président, f) de prunes congelées cv. Najbolia

- extraction à 0,5 W.g<sup>-1</sup>
- extraction à 1 W.g<sup>-1</sup>
- extraction à 1,5 W.g<sup>-1</sup>



### 4.3 Polyphénols

Les polyphénols sont des composés modérément solubles situés dans les vacuoles. Les flavonols et les anthocyanes sont retrouvés exclusivement dans la peau. Les procyanidines se lient spontanément aux parois cellulaires (Le Bourvellec, Guyot *et al.*, 2004; Le Bourvellec et Renard, 2010). Parmi les acides phénoliques, les acides chlorogéniques sont les substrats prioritaires de la PPO, mais les mécanismes d'oxydation couplés conduisent à leur régénération et à l'oxydation des autres polyphénols, en priorité les flavan-3-ols monomères et les anthocyanes.

#### 4.3.1 Polyphénols totaux

Les polyphénols totaux (Figure 68) sont majoritairement libérés dès le début de l'extraction dans les jus de prune et d'abricot, issus de fruits frais ou congelés et quelle que soit la puissance. Cependant, un profil différent est observé avec les jus de raisins congelés : l'extraction est progressive et atteint un maximum en milieu d'extraction. Ce profil atypique peut être expliqué par la répartition des polyphénols dans les raisins. Contrairement aux deux autres fruits, les composés phénoliques du raisin sont majoritairement localisés dans la pellicule, et donc plus difficilement extractibles que ceux de la chair.

#### 4.3.2 Anthocyanes

La libération des anthocyanes est progressive (Figure 69) pour atteindre une libération maximale en milieu d'extraction puis un épuisement en fin d'extraction. La congélation a un impact sur les anthocyanes et leur concentration en début d'extraction est fortement diminuée dans les jus issus de fruits congelés, certainement à cause d'une forte oxydation (jus brunis, Figure 72 a). La concentration plus élevée des jus en milieu d'extraction est apportée par une diffusion plus élevée des anthocyanes. Un temps minimum est ainsi nécessaire à la libération des anthocyanes, et cette forte diffusion de ces composés compense leur dégradation thermique. Un impact de la puissance est observé pour les jus de prunes Président surmatures, les jus de prunes Président congelées et les jus d'abricots congelés : à forte puissance, la concentration maximale d'anthocyanes est à la fois plus élevée et atteinte plus rapidement. Dans les jus de raisins et Najbolia congelés, ce profil est inversé, la concentration par fraction

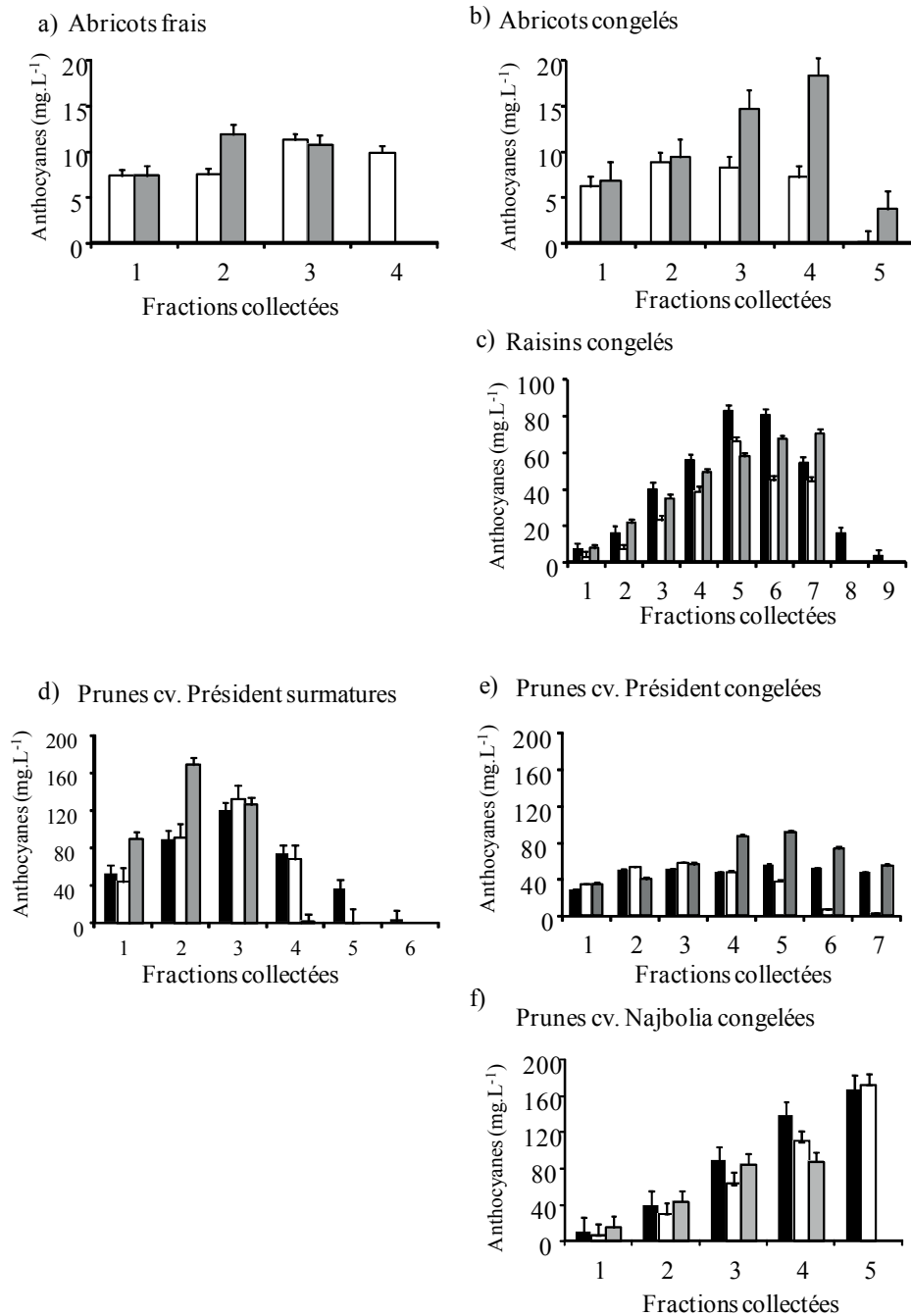


Figure 69 : Suivi de la diffusion des anthocyanes dans les jus dans les jus extraits à partir a) d'abricots frais, b) d'abricots congelés c) de raisins congelés, d) de prunes fraîches cv. Président surmatures, e) de prunes congelées cv. Président, f) de prunes congelées cv. Najbolia.

- extraction à 0,5 W.g<sup>-1</sup>
- extraction à 1 W.g<sup>-1</sup>
- ▒ extraction à 1,5 W.g<sup>-1</sup>

est supérieure lorsque le jus est extrait à faible puissance et la concentration atteint son maximum dans le dernier tube collecté. Ces deux fruits se caractérisent par des teneurs plus fortes en pectines dans l'épiderme. L'épaisseur de la paroi et sa composition pourraient expliquer une rupture plus longue des cellules de la peau, entraînant une libération continue au cours de l'extraction. Il est aussi possible que la fin de l'extraction des anthocyanes n'ait pas été atteinte.

#### 4.3.3 Polyphénols spécifiques

L'étude de la diffusion des polyphénols spécifiques a été réalisée sur trois jus de prunes cv. Président issus de deux types de décongélations : prunes décongélées à température ambiante ou décongélées par micro-onde, et sur les jus obtenus avec un condenseur en sortie de micro-onde (Figure 70). La diffusion des anthocyanes et des polyphénols présente un profil similaire à celui obtenu avec les prunes congelées sans décongélation. La première fraction du jus issu de prunes décongélées à température ambiante est le résultat de l'exsudation de jus. Cette fraction est riche en polyphénols totaux, mais montre une absence ou une très faible présence de polyphénols natifs, sauf pour les flavonols pour qui la concentration est maximale. La couleur des jus est brune (Figure 72 b), montrant une forte oxydation des polyphénols natifs.

L'ensemble des profils obtenus pour les polyphénols spécifiques est différent de ceux observés en analyse spectrophotométrique lors du dosage des polyphénols totaux. Cette différence pourrait être liée à une oxydation des polyphénols natifs, les composés oxydés étant pris en compte par la méthode de Folin-Ciocalteu. Les procyanidines sont libérées de la prune progressivement pour atteindre une concentration maximale dans la 4<sup>ème</sup> fraction pour les jus issus de prunes décongélées à température ambiante ou par micro-onde et en 5<sup>ème</sup> fraction pour les jus extraits avec un condenseur. La concentration maximale est plus rapidement atteinte pour la (+)-catéchine et les acides phénoliques (en 3<sup>ème</sup> fraction) qui sont des composés plus solubles que les procyanidines. Ces résultats montrent de plus, la difficulté d'extraction des procyanidines causée par la rétention par la paroi cellulaire.

Contrairement à ce qui était attendu de par la localisation épidermique des flavonols, ces composés sont libérés dès le départ de l'extraction dans les jus analysés. Pour les anthocyanes, la libération est importante dès le départ, la décongélation préalable du fruit étant responsable d'une déstructuration cellulaire. La concentration maximale est atteinte en

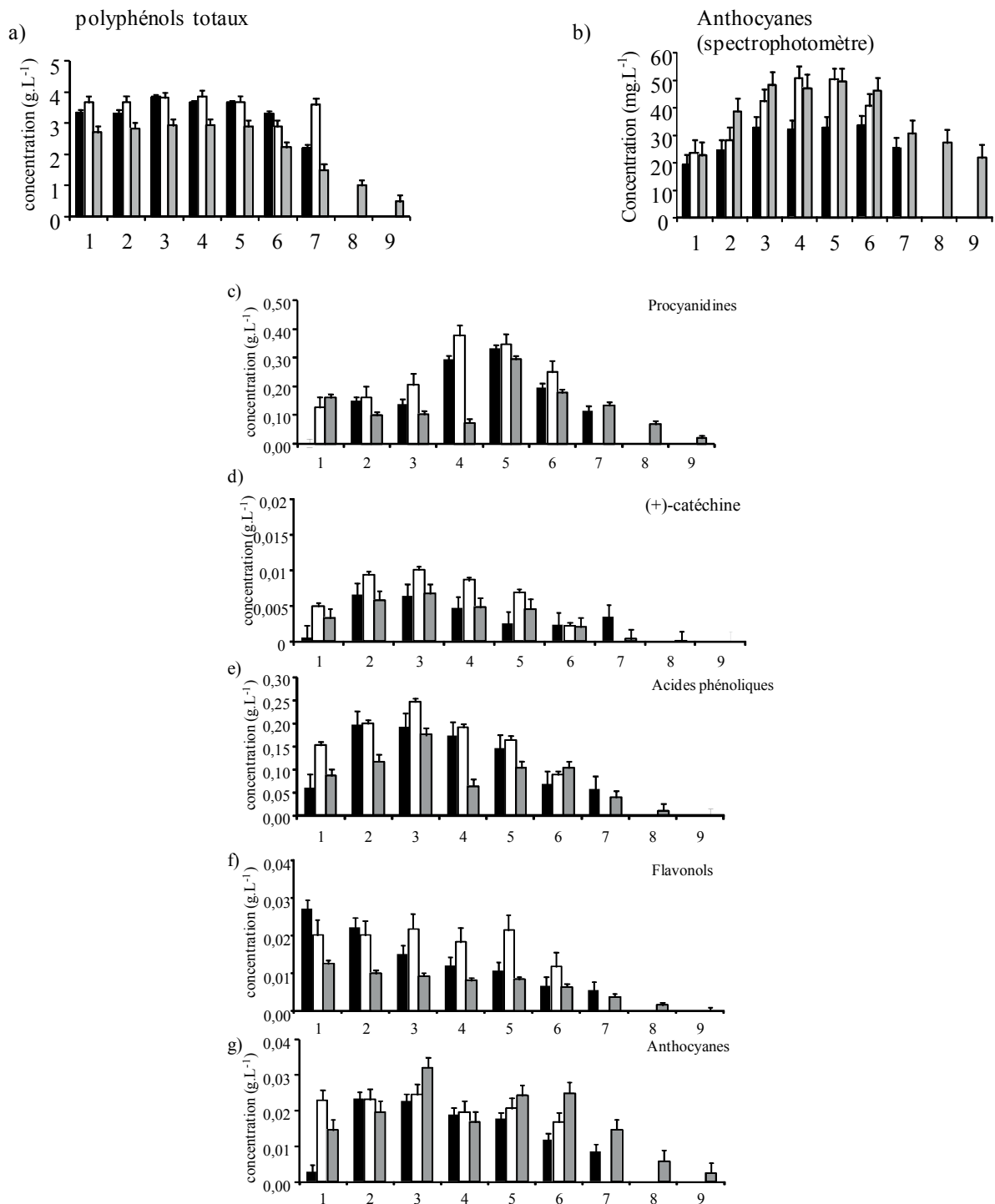


Figure 70 : Diffusion des polyphénols totaux, anthocyanes (dosage spectrophotométrique) et différentes classes de polyphénols (dosage CLHP) au cours de l'extraction du jus de prunes congelées à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  : a) polyphénols totaux, b) anthocyanes (spectrophotomètre) c) procyanidines (CLHP) d) catéchine (CLHP) monomériques (CLHP), e) acides phénoliques (CLHP) f) flavonols (CLHP) et g) anthocyanes (CLHP)

- Extraction à partir de prunes décongelées à température ambiante pendant 10h
- Extraction à partir de prunes décongelées à 200 W pendant 6 min
- Extraction à partir de prunes congelées sans décongélation préalable avec réfrigérant

fraction 2 pour les jus issus d'une décongélation des prunes à température ambiante et d'une décongélation par micro-onde. Dans les jus obtenus avec un condenseur, sans décongélation initiale des fruits, une extraction progressive des anthocyanes est observée avec une concentration maximale en fraction 3.

#### **4.4 Conclusion**

Nous avons pu voir que la diffusion des nutriments et micro-nutriments était fortement dépendante de la localisation dans le tissu (peau ou chair) et de la solubilité des composés extraits. Un profil type de libération peut être observé mais selon la spécificité du fruit, il n'est pas toujours respecté. Nous avons aussi pu voir que l'épuisement, notamment des sucres et acides, n'est pas toujours atteint. La surchauffe des fruits apparait donc comme un phénomène limitant, plutôt qu'un épuisement. Le tableau B récapitule les profils d'extraction les plus couramment observés. Il est entendu par hydrodiffusion directe une libération des composés dès le départ de l'extraction, et par hydrodiffusion « en triangle », une extraction progressive jusqu'à une concentration maximale, suivie par une diminution de l'extraction par épuisement des composés du fruit.

Tableau B : Dynamique d'hydrodiffusion des composés des fruits.

Extraction	Hydrodiffusion directe	Hydrodiffusion "en triangle"
Sucres	X	
Acides	X	
Polyphénols totaux	X	
Anthocyanes		X
(+)-catéchine		X
Acides phénoliques		X
Procyanidines		X
Flavonols	X	

## **5 Du fruit au jus**

Nous avons vu les variations du rendement et de la composition des jus avec les différentes variantes du procédé, et examiné les dynamiques d'extraction des différents composés. Il nous reste à savoir dans quelle mesure les jus obtenus sont représentatifs de la

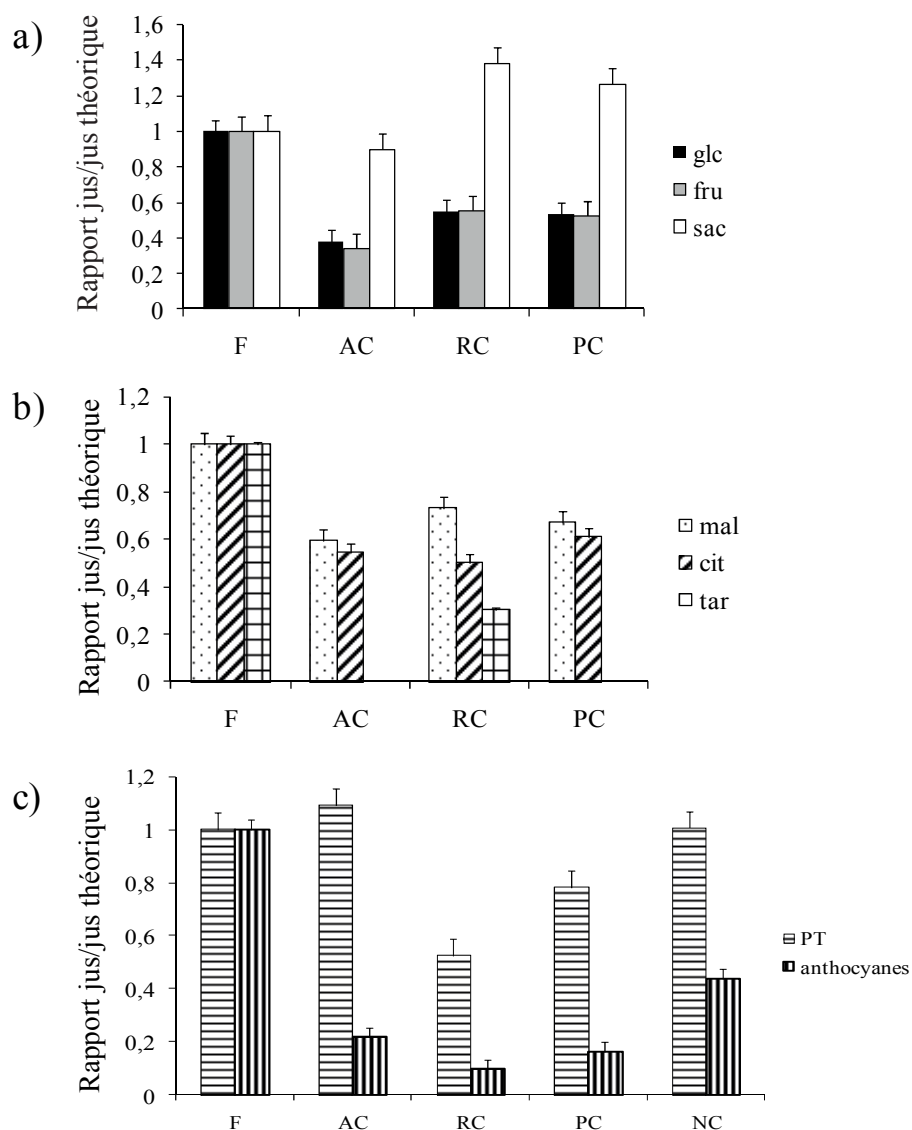


Figure 71 : Comparaison des concentrations dans le jus théorique du fruit et dans le jus de fruits (ratio Jus/Jus théorique : a) extrait à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  à partir de fruits congelés, sans condenseur : a) glucose, fructose et saccharose ; b) acide malique, acide citrique et acide tartrique (raisins) ; c) polyphénols et anthocyanes

F : fruit (représente les abricots, raisins, prunes cv. Président et Najbolia) a) AC : jus d'abricot extrait à partir d'abricots congelés, RF : jus de raisin extrait à partir de raisins frais, RC : jus de raisin extrait à partir de raisins congelés, PC : jus de prune extrait à partir de prunes congelées, NC jus de prunes issu de prunes congelées du cv. Najbolia

composition des fruits. Les polyphénols extraits, en particulier, représentent-ils une fraction significative des polyphénols initialement présents dans les fruits ?

Pour nous affranchir des variations de rendement, nous avons choisi de comparer les concentrations dans les jus aux concentrations dans le « jus théorique ». Ce « jus théorique » représente la composition dans la fraction liquide du fruit. Ce concept revient à assimiler le fruit à une éponge, dont la partie solide est représentée par l'insoluble et la partie liquide par le « jus théorique », contenant toute l'eau et les matières solubles. La composition du jus théorique est donc calculée à partir de celle du fruit, comme décrit au chapitre III, 1.4 et le volume de jus par kilogramme de fruit est calculé à partir de leur teneur en matière sèche et de la densité du jus théorique obtenu par conversion du degré Brix en densité par les tables de conversion (AOAC., 1981).

Les conditions expérimentales retenues, pour répondre à cette question, sont celles des jus fabriqués à  $1 \text{ W.g}^{-1}$  à partir des fruits congelés. Les petits fruits rouges et notamment les prunes sont en effet principalement utilisés congelés par les industriels du jus de fruits, de façon à étaler les périodes de production.

Cette comparaison a été réalisée en calculant le rapport des concentrations dans les jus réels à celle du jus théorique pour les sucres (glucose, fructose, saccharose), les acides (malique, citrique et tartrique dans le raisin) pour les trois espèces de fruits (abricot, raisin, prune *cv. Président*), les polyphénols totaux et les anthocyanes (abricot, raisin, prunes *cv. Président* et *Najbolia*) (Figure 71). L'étude de la diffusion de quatre classes de polyphénols (procyanidines, flavan-3-ol monomériques, acides phénoliques et anthocyanes) a été réalisée pour les prunes *cv. Najbolia* et *Président* (Tableau XXXI et XXXIII).

### **5.1 Transfert du sucre**

Le rapport des concentrations dans les jus et les jus théoriques varie de 0,38 à 0,55 pour le glucose, de 0,34 à 0,56 pour le fructose et de 0,90 à 1,38 pour le saccharose. Quelle que soit l'espèce de fruit, le saccharose semble le mieux extrait (Figure 71 a).

Les sucres sont des composés solubles présents majoritairement dans les vacuoles des cellules et devraient être entraînés par l'eau. Cependant, le taux de transfert en sucre du fruit au jus est inférieur à 1, montrant une rétention de ceux-ci par le résidu.





Les jus d'abricot ont le plus faible rapport de concentration en glucose et fructose. Ce faible transfert entre le fruit et le jus peut s'expliquer par le pouvoir moussant des abricots détaillé auparavant. Les taux de transfert des sucres obtenus pour les raisins et les prunes sont similaires.

Les concentrations en saccharose systématiquement plus élevées dans les jus que dans les fruits peuvent s'expliquer par la présence d'invertase dans le fruit et un biais de méthode. Le saccharose est un sucre évoluant en fructose et glucose sous l'action de l'invertase lors de la maturation des fruits (Wrolstad et Shallenberger, 1981 ; Vicens, 2007). Dans notre procédé, l'action de l'enzyme est limitée car des températures élevées permettant son inactivation sont très vite atteinte. Par contre, pour l'analyse des teneurs en sucres dans les fruits, ceux-ci sont préalablement découpés à température ambiante et broyés avant extraction. Ces temps d'attente pourraient permettre l'action d'invertase résiduelle.

En résumé, si nous prenons en considération la moyenne des sucres totaux, le classement des fruits présentant les meilleurs transferts en sucres dans les jus est le suivant :

**Raisin = Prune *cv. Président* > Abricot**

Le transfert des sucres lors de la fabrication des jus n'est que peu détaillé dans la bibliographie et est généralement supposé être total. La comparaison avec un procédé classique d'extraction nous permettra de voir l'impact réel de notre procédé sur la diffusion des sucres.

## **5.2 Transfert des acides**

Les concentrations en acide (Figure 71 b) malique des jus varient de 59% à 73% de celle du fruit, les transferts les plus élevés sont trouvés dans les jus de raisin et le plus faible dans le jus d'abricot. Les rapports de concentrations en acide citrique dans les jus varient entre 50 et 61%, le plus bas dans les jus de raisin et le plus élevé dans les jus de prune. Pour l'acide tartrique, le taux de transfert est de 30% dans les jus de raisin. Quels que soit l'espèce et l'état du fruit, l'acide malique est l'acide le mieux extrait entre les fruits et les jus.

En résumé, si nous prenons en considération la moyenne des acides, le classement des fruits présentant les meilleurs transferts en acides dans les jus est le suivant :

**Prune *cv. Président* > Raisin > Abricot**



### 5.3 Transfert des polyphénols

#### 5.3.1 Transfert des anthocyanes

La concentration en anthocyanes (Figure 71c) dans les jus ne représente que 10 à 22% de celle dans le fruit, et donc seulement une petite fraction de celle de la peau.

Le taux de transfert le plus faible est obtenu pour les jus de raisin et le plus élevé pour le jus de prune cv. Najbolia.

Dans les jus, une faible teneur en anthocyanes est souvent observée. Elle a été attribuée à des phénomènes de dégradations thermiques (Kirca, Ozkan *et al.*, 2006; Will et Dietrich, 2006) et enzymatiques (Raynal, 1989; Kim, Jeong *et al.*, 2003) mais aussi à la localisation épidermique de ces constituants et leur association avec la paroi cellulaire.

En résumé, si nous prenons en considération la moyenne des anthocyanes, le classement des fruits présentant les meilleurs transferts en anthocyanes dans les jus est le suivant :

**Prune cv. Najbolia > Prune cv. Président=Abricot > Raisin**

#### 5.3.2 Polyphénols totaux

Les concentrations en polyphénols totaux (Figure 71 c) dans les jus représentent de 52% à 120% de celles des jus théoriques. Le rapport le plus élevé est obtenu dans le jus de Najbolia et le plus faible dans le jus de raisin. Ces forts taux d'extractions peuvent s'expliquer en partie par l'hydrosolubilité des polyphénols. Cependant, des transferts supérieurs à 100% sont observés dans les jus d'abricot et de prune cv. Najbolia. Ce rendement supérieur à 100 % pourrait être le résultat de la formation de dérivées furfuriques en fin d'extraction. Dans les conditions de température observées en fin d'extraction, la déshydratation des sucres restants pourrait être favorisée. Les derniers jus extraits lorsque l'extraction est très poussé sont jaunes et présentent une odeur caractéristique de caramélisation. Le dosage par la méthode de Folin-Ciocalteu détecte aussi les dérivées furfuriques.

Tableau XXXI : Concentrations (mg.L<sup>-1</sup>) et rendements des polyphénols dans le jus théorique (Prunes cv. Président) et dans le jus extrait par micro-onde à 1 W.g<sup>-1</sup> à partir de prunes cv. Président congelées.

Prunes cv. Président	Procyanidines		Flavan-3-ol monomérique	Acides phénoliques				Flavonols			Anthocyanes		
	DP		CAT	nCQA	Coum	CQA	Tot	rut	Gly.quer.	Tot	cya-3-glu	cya-3-rut	Tot
jus théorique	963	5,9	9	437	44	120	601	48	32	80	36	34	70
<i>écart type</i>	47	0,9	4	10	2	1		2	6		2	1	
jus mo 1 W.g-1	397	2,7	5	162	5	15	182	10	11	21	10	9	19
<i>écart type</i>	35	0,4	1	14	1	1		2	3		1	1	
<b>rendement</b>	<b>0,41</b>		<b>0,61</b>	<b>0,37</b>	<b>0,11</b>	<b>0,12</b>	<b>0,30</b>	<b>0,21</b>	<b>0,34</b>	<b>0,26</b>	<b>0,28</b>	<b>0,25</b>	<b>0,27</b>

Avec DP : degré de polymérisation, Tot : total ; CAT : (+)-catéchine ; Coum : acide *p*-coumaroylquinique ; CQA : acide chlorogénique ; Rut : rutine ; Gly. quer : autres glycosydes de quercétine ; Cya-3-glu : cyanidine-3-O-glucoside ; Cya-3-rut : cyanidine-3-O-rutinoside.

Les polyphénols de la prune sont majoritairement présents dans la chair (dans un ratio approximatif de 3 pour 1 pour la chair et la peau), pour les abricots ce rapport est de 1 pour 1 et pour les raisins ce rapport est de 0.3 pour 1. Les composés de la peau sont a priori plus difficilement extractibles à cause d'une paroi plus épaisse. Ceci pourrait expliquer les plus faibles rendements pour le raisin. Au final, le classement des fruits présentant les meilleurs transferts en polyphénols totaux dans les jus est le suivant :

**Prune cv *Najbolia* >Abricot >Prune cv *Président* > Raisin**

### 5.3.3 Classes de polyphénols

L'étude du transfert des différentes classes de polyphénols a été réalisée sur les polyphénols natifs du fruit (Tableaux XXXI et XXXIII).

La classe de polyphénols présentant le meilleur transfert est différente selon la variété de prune. En effet, par ordre décroissant, les meilleurs rendements sont observés pour la (+)-catéchine (60%), les procyanidines (41%), les acides phénoliques (30%), les anthocyanes (28%) et les flavonols (26%), pour les extractions à partir des prunes cv. *Président* (Tableau XXXI). Pour les extractions à partir des prunes cv. *Najbolia* (Tableau XXXIII), les meilleurs rendements sont observés pour les flavonols (64%), les acides phénoliques (54%), les anthocyanes (28%) et les procyanidines (23%). Les taux de transfert en anthocyanes mesurés en CLHP sont supérieurs à ceux calculés avec le dosage colorimétrique indiquant un meilleur transfert des anthocyanes glycosylées

La faible extraction des flavonols dans le jus issu de la prune cv *Président* est en accord avec la bibliographie. En effet, lors de la fabrication de jus de pomme sans ajout d'enzyme, la quasi-totalité des flavonols se retrouve dans le marc (Van der Sluis, Dekker *et al.*, 2004). Avec un prétraitement enzymatique, les rendements rapportés varie de 12 (Van Der Sluis, Dekker *et al.*, 2004) à 48% (Markowski, Mieszczakowska *et al.*, 2009). Les flavonols se trouvant exclusivement dans la peau, ils sont difficilement extraits. De plus, ces composés sont dégradés par oxydation couplée avec les quinones d'acide chlorogénique et par la chaleur (Raynal, 1989). Le transfert élevée en flavonols dans les jus issus de la prunes cv. *Najbolia* est plus surprenant. La raison la plus probable pourrait être une extraction incomplète de ces composés de la peau du fruit. La concentration trouvée dans cette même variété est de 40 mg.kg<sup>-1</sup> dans le rapport Isafruit (2007) contre 28 mg.kg<sup>-1</sup>.



La (+)-catéchine et les acides hydroxycinnamiques se trouvent majoritairement dans la chair (dans des proportions de 72 et 61% respectivement) et sont des composés solubles (Van Der Sluis, Dekker *et al.*, 2004). De plus, Renard, Baron *et al.* (2001) ont montré que ces deux composés sont très faiblement retenus par les parois. Les transferts obtenus sont en accord avec les données publiées sur les jus de pomme qui présentent un transfert variant de 31 à 100% pour le 5 CQA et de 51 à 84% pour la catéchine (Guyot, Marnet *et al.*, 2003; Van Der Sluis, Dekker *et al.*, 2004; Le Bourvellec, Le Quere *et al.*, 2007; Markowski, Mieszcakowska *et al.*, 2009). Les rendements maximaux sont obtenus en présence de NaF qui protège de l'oxydation. Cependant, avec notre procédé, le transfert n'est pas total entre le fruit et le jus. Du fait de leur forte solubilité, les acides hydroxycinnamiques et les flavan-3-ols sont extraits au départ du procédé alors que la PPO est encore active. Ces substrats présentent la meilleure affinité avec cette enzyme (Raynal *et al.*, 1989 ; Kim, Jeong *et al.*, 2003), il est justifiable de penser à leur oxydation et seul les polyphénols natifs sont ici quantifiés.

Dans le jus de prune cv. Najbolia, le rapport entre procyanidines et acides phénoliques s'inverse. Une telle inversion est fréquemment observée dans les jus de pomme et les mécanismes responsables ont été identifiés : il y a d'une part une forte rétention des procyanidines par les parois (Le Bourvellec, Guyot *et al.*, 2009) et d'autre part, une régénération de l'acide chlorogénique par les mécanismes d'oxydation couplée, qui en oxydant les flavan-3-ols, permettent de le réduire sous sa forme initiale (Cheynier, Basire *et al.*, 1989).

La différence de transfert en procyanidines entre les deux variétés peut s'expliquer par leur degré de polymérisation dans les fruits de départ. Des études ont montré l'augmentation de la capacité de rétention avec le degré de polymérisation des tannins (Guyot, Marnet *et al.*, 2003; Le Bourvellec, Le Quere *et al.*, 2007; Bindon, Smith *et al.*, 2010). Dans notre étude, la prune cv. Président présente un DP moyen de 5.4 tandis que la prune cv. Najbolia a un DP moyen de 12.

#### **5.4 Conclusion**

Quel que soit le composé, à l'exception des flavonols (prunes cv. Najbolia), le taux de transfert est inférieur à 1. Le jus extrait présente des concentrations plus faibles que le jus





théorique. Le procédé par hydrodiffusion montre une extraction préférentielle de l'eau et des classes de composés suivantes:

**Polyphénols totaux > Acides > Sucres (*Sac* > *Glc* = *Fru*) > Anthocyanes**

Concernant les classes de polyphénols, le procédé par hydrodiffusion montre une extraction préférentielle:

➤ Prunes cv. Président

**Catéchine > Procyanidines > Acides phénoliques > Anthocyanes > Flavonols**

➤ Prunes cv. Najbolia

**Flavonols (*biais* ?) > Acides phénoliques > Anthocyanes > Procyanidines**

Le rendement entre le fruit et le jus est dépendant du composé lui-même mais aussi des caractéristiques intrinsèques du fruit, le classement des fruits les plus aptes au transfert par hydrodiffusion par catégorie de composés nutritifs :

Sucres : Raisin = Prune > Abricot

Acides : Prune > Raisin > Abricot

Polyphénols Totaux : Prune cv *Najbolia* > Abricot > Prune cv *Président* > Raisin

Anthocyanes : Prune cv. *Najbolia* > Prune cv. *Président* = Abricot > Raisin

## 6 Comparaison avec un procédé d'extraction classique

Le jus extrait par micro-onde contient moins de nutriments et de micronutriments que le fruit. Pour savoir si ce résultat est impliqué ou non au procédé d'hydrodiffusion par micro-onde, nous allons répondre à la question suivante : Comment ces jus se situent-ils par rapport à des « jus classiques » ?

Les jus de prune ont été extraits en Pologne en utilisant des cocktails enzymatiques d'aide au pressurage avec des prunes cv. *Najbolia* congelées. Trois types de jus (2 répétitions technologiques) ont été obtenus : jus clarifié avec acide ascorbique (AA), jus trouble avec acide ascorbique et jus trouble sans acide ascorbique. Les prunes du même lot ont également été soumises à une extraction (en double) par micro-onde.

Tableau XXXII : Composition et degré brix des jus de prune (cv. Najbolia) obtenus par pressurage (jus clarifié, jus trouble, jus trouble+AA) et par micro-onde (MO). Les jus ont été fabriqués à partir de prunes congelées à maturité commerciale.

	brix (°B)	glc (g.L <sup>-1</sup> )	fru (g.L <sup>-1</sup> )	sac (g.L <sup>-1</sup> )	mal (g.L <sup>-1</sup> )	polyphénols totaux (g.L <sup>-1</sup> )	anthocyanes (mg.L <sup>-1</sup> )
jus clarifié	13	22,5	15,6	33,2	6,8	5,0	117,5
jus trouble + AA	13,3	29,3	19,2	37,4	9,4	5,2	116,5
jus trouble	13	24,8	16,5	30,3	8,5	4,5	73,5
jus micro-onde	12,3	19	14,6	33	7	4,0	96
écart type	0,3	0,4	0,66	1,4	1,1	0,2	6,5

Avec Glc : glucose ; Fru : fructose ; Sac : saccharose ; Mal : acide malique ; AA : acide ascorbique.

L'intensité des traitements enzymatiques est dépendante du jus souhaité, et plus intense pour les jus clairs. Les différentes étapes de fabrication du jus et les traitements appliqués sont représentés en figure 59. Brièvement, les jus clarifiés nécessitent une double enzymation, les jus troubles une simple enzymation et les jus micro-onde aucune.

Ces différents jus seront comparés entre eux et le rendement en composés sera discuté.

## **6.1 Impact du procédé**

### **6.1.1 Sucres et acide**

La même variété de prune donne des jus avec des degrés brix différents, approximativement 13 dans les jus obtenus par pressurage et 12 pour les jus micro-onde, ainsi les jus micro-onde sont globalement moins concentrés (Tableau XXXII). Les teneurs en sucres varient selon le procédé d'extraction, cependant les proportions des trois sucres restent inchangées. Le saccharose représente environ 50% de la concentration totale en sucre, le glucose environ 30% et le fructose environ 20%. L'acide malique est le seul acide quantifié. En effet, la concentration en acide citrique est inférieure au seuil de détection.

Les teneurs en sucres varient dans les jus « classiques » selon le procédé utilisé et l'intensité de l'enzymage. Le jus trouble avec AA présente les plus fortes concentrations en sucres et acide. Même dans ces procédés, le fruit n'a ainsi pas un comportement passif, comme une éponge. Quoi qu'il en soit, les concentrations des sucres sont inférieures pour les jus micro-onde. La concentration des sucres du jus micro-onde varie de 77% à 93% comparé aux jus par presse. La déstructuration de la paroi cellulaire et des pectines par enzymation paraît légèrement plus performante que la déstructuration par MO, permettant ainsi un plus fort transfert de sucre.

### **6.1.2 Polyphénols et anthocyanes**

Les polyphénols et les anthocyanes sont plus concentrés dans les jus contenant de l'acide ascorbique (Tableau XXXII). L'acide ascorbique a un pouvoir protecteur face à l'oxydation des polyphénols en consommant les quinones produites par leur oxydation.

Tableau XXXIII : Concentration (mg.L<sup>-1</sup>) et rendement des polyphénols dans les jus (Prunes cv. Najbolia) obtenus par pressurage (jus clarifié, jus trouble avec acide ascorbique) et le jus micro-onde (MO) extrait à 1 W.g<sup>-1</sup>.

	Procyanidines		Acides phénoliques				Flavonols					Anthocyanes			
	Conc	DP	nCQA	Coum	CQA	Tot	Rut	Hyp	Isoq	Qci	Tot	Cya-3-Glc	Cya-3-Rut	Peo-3-Rut	Tot
<b>Jus théorique</b>	<b>1430</b>	<b>13</b>	<b>580</b>	<b>18</b>	<b>64</b>	<b>663</b>	<b>22</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>30</b>	<b>39</b>	<b>137</b>	<b>19</b>	<b>195</b>
jus clarifié	81	4	384	35	88	507	26	5	3	1	36	9	79	10	98
<i>rendement</i>	<i>0,06</i>		<i>0,66</i>	<i>1,91</i>	<i>1,37</i>	<i>0,76</i>	<i>1,15</i>	<i>2,54</i>	<i>0,75</i>	<i>0,98</i>	<i>1,19</i>	<i>0,22</i>	<i>0,57</i>	<i>0,53</i>	<i>0,45</i>
jus trouble+AA	153	3	330	41	75	446	31	8	4	2	45	10	60	10	80
<i>rendement</i>	<i>0,11</i>		<i>0,57</i>	<i>2,24</i>	<i>1,17</i>	<i>0,67</i>	<i>1,39</i>	<i>3,59</i>	<i>0,94</i>	<i>1,63</i>	<i>1,49</i>	<i>0,27</i>	<i>0,44</i>	<i>0,53</i>	<i>0,45</i>
jus trouble	128	5	261	26	36	323	25	5	4	2	36	5	30	8	43
<i>rendement</i>	<i>0,09</i>		<i>0,45</i>	<i>1,41</i>	<i>0,55</i>	<i>0,49</i>	<i>1,09</i>	<i>2,4</i>	<i>0,91</i>	<i>2,24</i>	<i>1,2</i>	<i>0,13</i>	<i>0,22</i>	<i>0,43</i>	<i>0,27</i>
jus MO	333	9	315	8	39	362	11	5	2	1	19	6	36	7	49
<i>rendement</i>	<i>0,23</i>		<i>0,54</i>	<i>0,44</i>	<i>0,60</i>	<i>0,55</i>	<i>0,49</i>	<i>2,4</i>	<i>0,47</i>	<i>0,89</i>	<i>0,64</i>	<i>0,16</i>	<i>0,26</i>	<i>0,36</i>	<i>0,28</i>
écart type	24,3	0,8	73,0	1,0	8,1		3,9	2,0	1,3	1,0		2,7	20,5	2,1	

Avec DP : degré de polymérisation ; MS : matière sèche ; n-CQA : acide néochlorogénique ; Coum : acide p-coumaroylquinique ; CQA : acide chlorogénique ; Rut : rutine ; Hyp : hyperoside ; Isoq : isoquercétine ; Qci : quercétine ; Cya-3-glu : cyanidine-3-O-glucoside ; Cya-3-rut : cyanidine-3-O-rutinoside ; Peo-3-rut : péonidine-3-O-rutinoside ; AA : acide ascorbique.

Cependant le pouvoir antioxydant est temporaire et il ne perdure que jusqu'à sa conversion totale en acide déhydroascorbique (DHA) (Son, Moon *et al.*, 2001). De plus, l'acide ascorbique par ses propriétés réductrices, est pris en compte dans le dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu.

Dans les jus ne contenant pas d'acide ascorbique, les concentrations sont légèrement inférieures. Les jus micro-onde ont la concentration la plus faible en polyphénols totaux.

### 6.1.3 Polyphénols spécifiques

La concentration la plus élevée en procyanidines est observée dans les jus MO avec un rendement de 23% (Tableau XXXIII). L'enzymation entraîne un temps de contact prolongée entre la pulpe du fruit et les polyphénols. Les procyanidines présentent des capacités de rétention par la paroi cellulaire et le temps de contact prolongé permet cette rétention. La durée du procédé micro-onde ne favorise pas ce contact est permet une meilleure libération des procyanidines.

La concentration en acides phénoliques est supérieure dans les jus avec acide ascorbique montrant bien l'effet protecteur de l'acide ascorbique face à l'oxydation. Dans les jus MO, la concentration en acides phénoliques est plus élevée que dans le jus trouble sans acide ascorbique. La PPO est plus rapidement inactivée dans le procédé micro-onde que dans les procédés sous presse où il est nécessaire d'attendre la pasteurisation.

Les rendements les plus élevés en anthocyanes sont obtenus pour les jus avec acide ascorbique avec un rendement de 45%. Ce rendement n'est plus que de 27 et 28% pour les jus troubles et micro-onde respectivement. Le rapport des dosages anthocyanes spectrophotomètre/anthocyanes CLHP est le plus élevé dans le jus micro-onde, montrant une déglycosylation plus importante des anthocyanes par la chaleur continue du procédé d'extraction micro-onde.

Les transferts élevés en flavonols seraient causés par une extraction analytique incomplète des flavonols de la peau des prunes initiales.

Tableau XXXIV : Rendement et composition ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) des MIA des jus de prune (cv. Najbolia) par pressurage (jus clarifié, jus trouble, jus trouble+AA) et par micro-onde (MO) (cv. Najbolia).

	Rendement	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	AU	MeOH (DM)
jus clarifié	422	18	1	39	6	4	69	32	323	25 (44)
jus trouble	728	15	1	61	6	6	141	41	466	57 (68)
jus trouble+AA	629	20	2	100	8	7	201	50	411	59 (78)
jus MO	617	15	2	110	10	9	201	40	462	57 (59)
écart type	21	1,5	0	6,7	0,7	0,7	18,6	12,0	24,4	4,1

Avec Rha : rhamnose, Fuc : fucose, Ara : arabinose, Xyl : xylose, Man : mannose, Gal : galactose, AGU : acide galacturonique, MeOH : méthanol, DM : degré de méthylation.

#### 6.1.4 Pectines

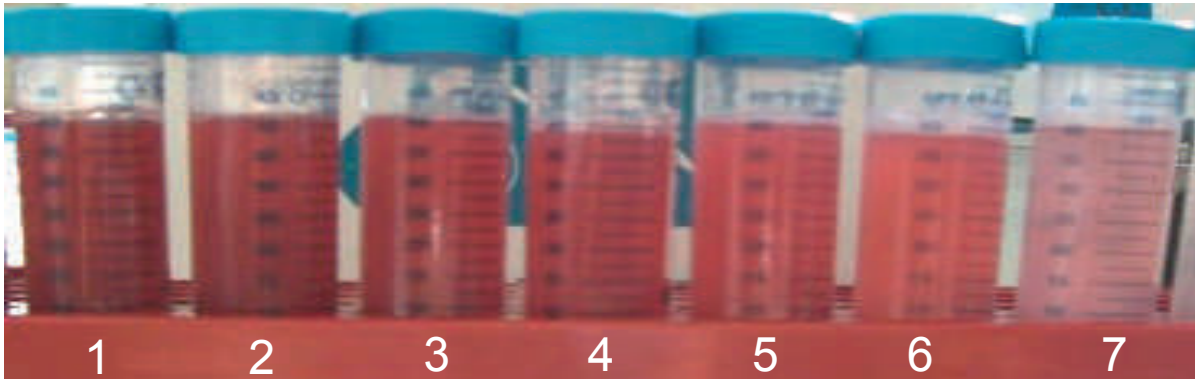
Le rendement en Matériel Insoluble à l'Alcool est plus faible dans les jus clarifiés que dans les autres jus sous presse ou micro-onde. Le rendement en MIA des jus micro-onde est équivalent au jus trouble+acide ascorbique, et est inférieur au jus trouble sans acide ascorbique. Le traitement de clarification a ainsi permis de réduire significativement la teneur en pectines (Tableau XXXIV).

La composition des MIA montre des teneurs en acides uroniques comparables dans les jus troubles et les jus micro-onde. Cette teneur est largement supérieure à celle des jus clarifiés. L'enzyme utilisée dans la fabrication des jus troubles est choisie pour permettre une dépolymérisation limitée des pectines. Le traitement thermique par micro-onde conduit à une extraction assez efficace des pectines. La double enzymation dans le cas des jus clarifiés et surtout les centrifugations multiples permettent de diminuer significativement la teneur en pectines polymériques qui sont seules précipitées par l'alcool. La teneur en galactose est supérieure dans les jus micro-onde et les jus troubles avec acide ascorbique avec un rapport Gal/Rha de 13 et 10 respectivement. Les chaînes d'oses neutres des zones ramifiées restent plus polymérisées dans les jus micro-onde et les jus troubles avec acide ascorbique que dans les jus clarifiés où ce rapport est de 4. La teneur en rhamnose est inférieure à 5% de la teneur en acides uroniques, pour l'ensemble des jus, ce qui montre une faible proportion de rhamnogalacturonane. Le DM retrouvé dans les jus troubles et le jus micro-onde est plus élevé que dans le jus clarifié où l'action de la PME apporté par le cocktail enzymatique a été efficace.

## 6.2 Conclusion

Les concentrations des sucres sont légèrement plus élevées dans les jus réalisés par pressurage, montrant une rétention plus importante par le fruit lors des traitements micro-onde. Le traitement enzymatique plus drastique appliqué aux fruits dans ce procédé facilite le transfert des composés. En ce qui concerne les polyphénols, l'efficacité de l'extraction interfère avec l'intensité de l'oxydation. En effet, les jus obtenus par micro-onde présentent des concentrations faiblement inférieures à celle des jus troubles sans acide ascorbique, mais notablement plus faibles de celles des jus troubles avec acide ascorbique. Le traitement micro-onde favorise l'extraction des procyanidines en limitant leur rétention. Les teneurs en pectines

a)



b)



Figure 72 : Couleur des jus variant au cours du procédé d'extraction. Chaque fraction de jus représente 40 mL. Cette extraction a été réalisée à partir de prunes congelées à  $1 \text{ W.g}^{-1}$ . a) sans décongélation initiale, b) après décongélation 10 h à température ambiante. La couleur de la fraction 1 est caractéristique d'une oxydation des jus par la PPO, notamment lorsque il y a une décongélation préalable de 10 h à température ambiante. L'inhibition de la PPO permet une couleur vive des jus observé dans les fractions suivantes collectées.



dans les jus micro-onde et les jus trouble avec acide ascorbique sont comparables, mais les viscosités très différentes.

La double enzymation permet une déstructuration plus élevée des fruits initiaux et la centrifugation, permet d'éliminer le trouble en déstabilisant l'équilibre colloïdal. Dans le procédé micro-onde, aucune enzyme n'a été rajoutée, pourtant, la formation d'une structure gélifiée impactant l'extraction n'a pas été observée. En effet, le procédé d'hydrodiffusion n'implique pas de traitements mécaniques contrarié par la formation de gels pectiques et la rétention d'eau par les parois.

Le jus obtenu par micro-onde est visqueux, ce qui signe bien la présence de pectines, mais limpide. Aucune décantation, ni gélification du jus n'a été observé à deux semaines de conservation à température ambiante, montrant bien l'inactivation des enzymes endogènes telles que la polygalacturonase, responsable de la dépolymérisation des pectines ou la pectine méthyl-estérase, responsable de leur gélification calcique (Rouse et Atkins, 1952).

Le transfert incomplet des composés du fruit au jus est imputable à notre procédé d'extraction, cependant, un procédé classique pour la fabrication de jus trouble donne un transfert de même grandeur. La perte entre le fruit et le jus est d'une part dépendante des techniques d'extraction et d'autre part de la propriété de rétention des fruits.

## 7 Conclusion

Avec les fruits congelés, les rendements en jus sont augmentés et pourtant, les concentrations sont similaires à celle des jus de fruits frais. L'utilisation de fruits congelés permet ainsi un rendement quantitatif en composés nutritifs plus efficace que dans le cas d'une extraction avec des fruits frais. La décongélation préalable des fruits ne facilite pas l'extraction des composés et favoriserait même l'oxydation des polyphénols. De plus, la puissance d'extraction n'a pas d'impact sur la composition nutritionnelle des jus.

Le suivi de la dynamique d'hydrodiffusion nous renseigne sur la difficulté d'extraction de certains composés et de leur niveau d'oxydation. En effet, si les composés majoritairement solubles de la chair du fruit (sucres, acides, polyphénols totaux) sont extraits dès le départ, il n'en est pas de même pour les anthocyanes de la peau. De plus, l'analyse spécifique des polyphénols des jus de prunes congelées nous montre une oxydation dans la première fraction collectée des acides phénoliques et de la (+)-catéchine, responsable de la couleur brune des



jus (Figure 72). Cependant, la montée en température permet de rapidement limiter cette oxydation, et au final, les jus présentent des couleurs vives et attrayantes.

Le transfert du fruit au jus de fruit n'est pas total, le jus de fruit est globalement moins riche que le fruit en sucres et acides. Cependant, le transfert des polyphénols totaux « porteur de l'aspect protecteur des fruits contre les maladies cardiovasculaires et cancers » est globalement élevé avec en moyenne de transferts sur les fruits étudiés de 84%. Nous avons aussi constaté que les raisins, bien qu'ayant les rendements en jus les plus élevés, ne présentent pas les meilleurs transferts entre les fruits et les jus, les composés des prunes seraient plus aptes à l'hydrodiffusion micro-onde.

Au final, les jus obtenus par procédé micro-onde présentent des compositions proches de celles des jus troubles « classiques ». Les jus MO obtenus sont effectivement visqueux mais l'inactivation des enzymes endogènes des fruits permet une bonne stabilité de ces jus.

Ce procédé micro-onde est bien concurrentiel par plusieurs aspects, aux procédés de routine présents dans les industries de transformation des jus : il engendre des manipulations réduites, aucun temps de préparation des échantillons, aucune addition d'intrant et une pasteurisation *in line*. Pour un temps de procédé plus court, un jus quasi-équivalent est obtenu aux jus trouble sous presse.

*CONCLUSION GENERALE*

*ET*

*PERSPECTIVES*

# CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La consommation quotidienne des jus de fruits est recommandée dans le Plan National Nutrition Santé pour aider à parvenir aux objectifs de cinq fruits et légumes par jour.

Le marché du jus de fruits est bien développé avec des industriels équipés principalement de presses. Un marché porteur existe d'ailleurs pour des jus de hautes valeurs nutritionnelles et aux nouveaux goûts. Cependant, le pressurage n'est pas toujours adapté à la production de ces nouveaux jus.

Nous avons mis en place et développé au cours de cette thèse un procédé innovant d'extraction de jus de fruits. Ce procédé repose sur l'hydrodiffusion de composés biologiques par l'irradiation micro-onde, procédé breveté, au départ, pour l'extraction d'huile essentielle (Chemat, Vian *et al.*, 2010). L'hydrodiffusion appliquée aux fruits consiste à chauffer instantanément par micro-onde l'eau du fruit et ainsi permettre le relargage de ses molécules fonctionnelles.

Les objectifs principaux fixés dans ce projet étaient doubles :

- Vérifier la faisabilité et la viabilité du procédé d'extraction;
- Caractériser la qualité nutritionnelle des jus.

Pour ce faire, nous avons, dans une première étape, étudié les rendements d'extraction en jus, en fonction des variables propres à la matrice (espèce, variété, congélation, décongélation) et propres au procédé d'extraction (puissance, ajout d'un condenseur) dans un souci d'optimiser les rendements. L'analyse de la viabilité du procédé s'est conclue par une analyse sensorielle des jus de fruits obtenus et une étude comparative avec un procédé « classique » d'extraction par pressurage.

Dans une seconde étape, nous avons mesuré la composition des jus de fruits obtenus par micro-onde et étudié l'effet de ces mêmes variables du procédé sur celle-ci. L'analyse de la diffusion des constituants des fruits au cours du procédé nous a permis de connaître les composés les plus aptes à l'hydrodiffusion. Dans un dernier point, nous avons calculé les rendements d'extraction des différents composés du fruit au jus, et comparé à nouveau le procédé d'extraction micro-onde aux procédés de pressurage.

### Extraction du jus

Les rendements d'extraction en jus, indépendamment de l'espèce (raisin, abricot ou prune), et de la puissance d'extraction, varient pour des jus issus de fruits frais entre 300 à 610 mL.kg<sup>-1</sup> avec des rendements plus élevés pour le raisin. Ces rendements peuvent être améliorés par la congélation du fruit, la présence d'un condenseur et une faible puissance d'extraction.

Deux mécanismes d'extraction différents interviennent dans la libération du jus du fruit suivant l'état frais ou congelé de celui-ci : expulsion due à une vaporisation interne pour les fruits frais et déstructuration plus conduction de la chaleur produite au niveau de « points chauds » à travers la glace pour les fruits congelés.

Aucune optimisation « poussée » n'a été réalisée telle que la conduite des températures pour éviter la surchauffe des fruits. Ce procédé d'extraction est simple comparé à un procédé de fabrication de jus classique. En effet, il est mono-étape, sans transformation préalable du fruit (hormis congélation), sans aucun intrant et rapide. De plus, il permet une pasteurisation *in line* du produit.

### Analyse sensorielle

Le jus obtenu par micro-onde est épais, ce qui signe bien la présence de pectines, mais limpide. Aucune décantation, ni gélification du jus n'ont été observées à deux semaines de conservation à température ambiante, montrant bien l'inactivation des enzymes. Les analyses microbiologiques confirment l'absence de microorganismes dans le jus à une semaine de conservation.

Ce jus est organoleptiquement acceptable, bien que difficilement comparable aux jus industriels en terme de ressenti. La couleur et la texture sont jugées attractives par la majorité

du panel, mais les jus sont légèrement astringents. Le jus est qualifié de « jus naturel » par le panel.

### Composition

L'utilisation de fruits congelés permet une extraction plus efficace des différents constituants du jus (sucres, acides, polyphénols) qu'une extraction à partir de fruits frais. La décongélation préalable des fruits ne facilite pas l'extraction des composés et favoriserait même l'oxydation des polyphénols. L'ajout d'un condenseur, en permettant la récupération de la vapeur d'eau, entraîne la dilution des jus. De plus, la puissance d'extraction n'a pas d'impact sur la composition nutritionnelle des jus.

### Dynamique de diffusion

Le suivi de la dynamique d'hydrodiffusion nous renseigne sur la difficulté d'extraction de certains composés et leur niveau d'oxydation. Il y a des dynamiques marquées d'extraction des différents composés. En effet, si les composés majoritairement solubles de la chair du fruit (sucres, acides, polyphénols totaux) sont extraits dès le départ, il n'en est pas de même pour les anthocyanes de la peau, qui présentent un maximum de concentrations au cours de l'extraction. De plus, l'analyse spécifique des polyphénols pour les jus de prunes congelées nous montre une oxydation dans la première fraction collectée des acides phénoliques et de la (+)-catéchine.

Ainsi, la composition du jus varie au cours de l'extraction, les premiers jus extraits présentent des teneurs maximales en sucres, acides, et en polyphénols totaux tandis que c'est au cours du procédé que les jus auront des teneurs en anthocyanes et en procyanidines maximales.

### Rendement fruit/jus de fruits

Le transfert des composés nutritifs entre le fruit et le jus de fruit n'est pas total. Cependant, le transfert en polyphénols, un des principaux « attrait santé » du fruit est en moyenne de 80% pour l'ensemble des fruits testés.

La comparaison avec un procédé d'extraction classique par pressurage nous permet de voir que cette perte est dépendante des procédés d'extraction utilisés. En effet, le fruit n'a pas un comportement passif comme une « éponge », et les différents traitements subis ont un impact sur l'extractabilité des composés. L'extraction par micro-onde permettrait d'obtenir un produit comparable, en termes de composition nutritionnelle, à un jus trouble.

### Situation au regard de la concurrence industrielle

Ce procédé micro-onde est bien concurrentiel, par plusieurs aspects, aux procédés de routine des industries de transformation des jus : il engendre des manipulations réduites, aucun temps de préparation des échantillons, aucune addition d'auxiliaire technologique et une pasteurisation *in line*. Un jus proche, en termes de composition, d'un jus trouble classique est obtenu en un temps plus court et avec moins de manutentions.

Les rendements observés avec le procédé micro-onde sont seulement les  $\frac{3}{4}$  de ceux obtenus à partir des mêmes fruits par un procédé d'extraction classique. Cependant, aucune optimisation « poussée » du procédé micro-onde n'a été réalisée, telle que la conduite en température, qui permettrait d'éviter la surchauffe des fruits, et probablement d'augmenter le rendement.

### Perspectives

Le procédé d'extraction par micro-onde est une alternative intéressante pour pallier aux problèmes de pressurage de certains fruits, tels que les petits fruits rouges. En effet, outre les prunes et les abricots étudiés ici, les « jus » de fraise, cerise, myrtille... sont rarement 100% pur jus et sont souvent des jus mélangés ou des nectars.

Dans le cadre d'un stage de Master (Hoerlé, 2010), l'adaptabilité du procédé micro-onde à ce type de fruit a été validée. En effet, un jus 100% pur jus peut être obtenu avec des rendements variant de 55 à 80% selon le fruit (rendement d'extraction maximal trouvé pour la fraise). L'analyse sensorielle de ces jus par profil caractéristique et napping a été réalisée et est en cours d'exploitation.

En perspective, il serait nécessaire de tester ce procédé à l'échelle pilote avec une conduite plus fine. Un prototype de micro-onde d'ailleurs est en cours d'élaboration, celui-ci



serait adapté à de plus gros volumes et à une production en continu avec pilotage des températures (Figure 73).

De plus, il est possible de penser à la valorisation des co-produits pour la fabrication de petit jus ou de compote.



Figure 73 : Prototype du dispositif d'extraction par micro-onde en continu pour la fabrication des jus de fruits

# *BIBLIOGRAPHIE*

# BIBLIOGRAPHIE

## A

Aguilo-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R. et Martin-Belloso, O. (2010). "Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 11(2): 299-305.

Ahmed, A. E. et Labavitch, J. M. (1980). "Cell-wall metabolism in ripening fruit .1. cell-wall changes in ripening bartlett pears." *Plant Physiology* 65(5): 1009-1013.

Ahmed, J., Shivhare, U. S. et Raghavan, G. S. V. (2004). "Thermal degradation kinetics of anthocyanin and visual colour of plum puree." *European Food Research and Technology* 218(6): 525-528.

Akhtar-Danesh, N. et Dehghan, M. (2010). "Association between fruit juice consumption and self-reported body mass index among adult Canadians." *Journal of Human Nutrition and Dietetics* 23(2): 162-168.

Akkari, E., Chevallier, S. et Boillereaux, L. (2006). "Observer-based monitoring of thermal runaway in microwaves food defrosting." *Journal of Process Control* 16(9): 993-1001.

Al-Muhtaseb, A. H., McMinn, W. A. M. et Magee, T. R. A. (2002). "Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review." *Food and Bioproducts Processing* 80(C2): 118-128.

Albagnac, G., Varoquaux, P. et Montigaud, J. C. (2002). "Technologies de transformation des fruits." Tech & Doc Lavoisier, Paris.

Almeida, M. E. M. et Nogueira, J. N. (1995). "The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables - a study of the interactions between the chemical-compounds used and heat-treatment." *Plant Foods for Human Nutrition* 47(3): 245-256.

Amerine, M. A., Roessler, E. B. et Ough, C. S. (1965). "Acids and the Acids Taste. I. The Effect of pH and Titratable Acidity." *American Journal of Enology and Viticulture* (16:1): 29-37.

Anonyme (2004). "Fruits Oubliés : A la découverte des prunes."

Association of official Agricultural Chemists : AOAC. (1981). "Sucrose Conversion Table. International Scale." Technical Inspections Procedures.

Auffret, A., Ralet, M. C., Guillon, F., Barry, J. L. et Thibault, J. F. (1994). "Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres." *Lebensmiedelen -Wissenschaft und -Technology*. 27, 166-172.

Aymerich, T., Picouet, P. A. et Monfort, J. M. (2008). "Decontamination technologies for meat products." *Meat Science* 78(1-2): 114-129.

## **B**

Baker, R. A. et Bruemmer, J. H. (1969). "Cloud stability in the absence of various orange juice soluble components." *Proceedings of the Floride State Horticultural Society* (82): 215-220.

Bannach, W. (1984). "Food gelatin in the beverage industries - an important help in juice and wine fining." *Confructa Studien*: 28 (3) 198-206.

Baron, A. (1990). "Quelques emplois de polyosidases dans l'industrie des fruits et légumes. Liquéfaction et Macération." *Technique*.

Baron, A. (2002). "Jus de fruits. Dans G. Albagnac, P.Varoquaux & J.C. Montignaud : *Technologies de transformation des fruits*."(Lavoisier, Paris): pp : 287-344.

Bayindirli, A., Alpas, H., Bozoglu, F. et Hizal, M. (2006). "Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in apple, orange, apricot and sour cherry juices." *Food Control* 17(1): 52-58.

Beltman, H., Pilnik, W. et De Vos, L. (1971). "Die Kramer'sche Scherpresse als Laboratorium-Pressvorrichtung und Ergebnisse von Versuchen mit Äpfeln." *Confructa* 16: 4-9.

Besser, R. E., Lett, S. M., Weber, J. T., Doyle, M. P., Barrett, T. J., Wells, J. G. et Griffin, P. M. (1993). "An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from escherichia-coli o157-h7 in fresh-pressed apple cider." *Jama-Journal of the American Medical Association* 269(17): 2217-2220.

Bindon, K. A., Smith, P. A. et Kennedy, J. A. (2010). "Interaction between Grape-Derived Proanthocyanidins and Cell Wall Material. 1. Effect on Proanthocyanidin

Composition and Molecular Mass." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(4): 2520-2528.

Blakey, R. J., Bower, J. P. et Bertling, I. (2009). "Influence of water and ABA supply on the ripening pattern of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit and the prediction of water content using Near Infrared Spectroscopy." *Postharvest Biology and Technology* 53(1-2): 72-76.

Blumenkrantz, N., Asboe-Hansen G., (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*. 54, 481-489.

Boursiquot, J. M., Sapis, J. C. et Macheix, J. J. (1986). "Application of hydroxycinnamic ester determinations to taxonomy problems in *vitis* genus - preliminary-results." *Comptes Rendus de l'Academie Des Sciences Serie III-Sciences de la Vie-Life Sciences* 302(6): 177-180.

Box, G. E. P., Hunter, W. G. et Hunter, J. S. (1978). "Statistics for experimenters, an introduction to design, data analysis, and model building." Eds Wiley J. et Sons, New York, p 319.

Bozkurt, H. et Icier, F. (2010). "Ohmic cooking of ground beef: Effects on quality." *Journal of Food Engineering* 96(4): 481-490.

Bradford, M. M. (1976). "A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding." *Analytical Biochemistry*(72): 248-254.

Brat, P. (2001). "Application du procédé de flash-détente sous vide aux fruits tropicaux et méditerranéens pour la préparation de purées et huiles essentielles." Thèse de doctorat : Université de Montpellier II, France, p.137.

Brat, P. et Cuq, B. (2007). "Transformation et Conservation des fruits: Perte de la structure Initiale." *Techniques de l'Ingénieur*.

Brat, P., Mennen, L., George, S., Scalbert, A., Bellamy, A., Amiot-Carlin, M. J. et Chaffaut, L. d. (2007). "Determination of the polyphenol content of fruits and vegetables. Establishment of a database and estimation of the polyphenol intake in the French diet." *Acta Horticulturae*(744): 61-69.

Bravo, L. (1998). "Polyphenols : chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance." *Nutrition Review*.: 56, 317-333.

Brown, R. M. J., Saxena, I. M. et Kudlincka, K. (1996). "Cellulose biosynthesis in higher plants." *Trends in Plants Science*. 1: 149-156.

Bureau, S., Renard, C.M.G.C., Reich, M., Ginies, C. et Audergon, J. M. (2009). "Change in anthocyanin concentrations in red apricot fruits during ripening." *Lwt-Food Science and Technology* 42(1): 372-377.

Bureau, S., Ruiz, D., Reich, M., Gouble, B., Bertrand, D., Audergon, J. M. et Renard, C.M.G.C. (2009). "Application of ATR-FTIR for a rapid and simultaneous determination of sugars and organic acids in apricot fruit." *Food Chemistry* 115(3): 1133-1140.

## C

Carpita, N. C. et Gibeaut, D. M. (1993). "Structural models of primary cell walls in flowering plants : consistency and molecular structure with the physical properties of the walls during growth." *Plant Journal*. 3, 1-30.

Cevallos-Casals, B. A., Byrne, D., Okie, W. R. et Cisneros-Zevallos, L. (2006). "Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties." *Food Chemistry* 96(2): 273-280.

Chang, T. S., Siddiq, M., Sinha, N. K. et Cash, J. N. (1994). "Plum Juice Quality Affected by Enzyme Treatment and Fining." *Journal of Food Science* 59(5): 1065-1069.

Chang, T. S., Siddiq, M., Sinha, N. K. et Cash, J. N. (1995). "Commercial pectinases and the yield and quality of stanley plum juice." *Journal of Food Processing and Preservation* 19(2): 89-101.

Charlton, A. J., Baxter, N. J., Khan, M. L., Moir, A. J. G., Haslam, E., Davies, A. P. et Williamson, M. P. (2002). "Polyphenol/peptide binding and precipitation." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(6): 1593-1601.

Chauhan, S. K., Tyagi, S. M. et Singh, D. (2001). "Pectinolytic liquefaction of apricot, plum, and mango pulps for juice extraction." *International journal of food properties* 4: 103-109.

Chemat, F., Vian, M. et Visinoni, F. (2010). "Brevet n°1955749-Hydrodiffusion par micro-ondes pour l'isolation de produits naturels " Dépositaires: Milestone S.r.l.;Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse.

Cheynier, V., Basire, N. et Rigaud, J. (1989). "Mechanism of trans-caffeoyltartaric acid and catechin oxidation in model solutions containing grape polyphenoloxidase." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37(4): 1069-1071.

Cheynier, V. et Rigaud, J. (1986). "HPLC separation and characterization of flavonols in the skins of *vitis-vinifera* var cinsault." *American Journal of Enology and Viticulture* 37(4): 248-252.

Cheynier, V. F., Trousdale, E. K., Singleton, V. L., Salgues, M. J. et Wylde, R. (1986). "Characterization of 2-s-glutathionylcaftaric acid and its hydrolysis in relation to grape wines." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34(2): 217-221.

Choi, I., Choi, S. J., Chun, J. K. et Moon, T. W. (2006). "Extraction yield of soluble protein and microstructure of soybean affected by microwave heating." *Journal of Food Processing and Preservation* 30(4): 407-419.

Chun, O. K. et Kim, D. O. (2004). "Consideration on equivalent chemicals in total phenolic assay of chlorogenic acid-rich plums." *Food Research International* 37(4): 337-342.

CODEX STAN 247-2005 (2005). "Codex Alimentarius - Codex General Standard for Fruit Juices and Nectars " [www.codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net).

Congress, International Federation of Fruit Juice Processing (1968). "Rapport d'expertise."

Crisosto, C. H., Garner, D., Crisosto, G. M. et Bowerman, E. (2004). "Increasing 'Blackamber' plum (*Prunus salicina* Lindell) consumer acceptance." *Postharvest Biology and Technology* 34(3): 237-244.

Czochanska, Z., Foo, L. Y., Newman, R. H., Porter, L. J., Thomas, W. A. et W.T., J. (1980). "Direct proof of a homogeneous polyflavan-3-ol structure for polymeric proanthocyanidins." *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications*.: 375-377.

Czochanska, Z., Foo, L. Y. et Porter, L. J. (1979). "Compositional changes in lower molecular-weight flavans during grape maturation." *Phytochemistry* 18(11): 1819-1822.

## D

Dangles, O. (1997). "Anthocyanin complexation and colour expression." *Analisis* 25(8): M50-M52.

Darvill, A. G., Mc Neil, M. et Albersheim, P. (1978). "Structure of plant cell walls. VIII A new pectic polysaccharide." *Plant Physiology* (62): 418-422.

Datta, A. K. et Anantheswaran, R. C. (2001). "Handbook of microwave technology for food applications." Marcel Dekker, Inc., New York: pp 69-107; pp 299-335.

de Freitas, V. A. P., Glories, Y., Bourgeois, G. et Vitry, C. (1998). "Characterisation of oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds by liquid secondary ion mass spectrometry." *Phytochemistry* 49(5): 1435-1441.

de Vries, J. A., Rombouts, F. M., Voragen, A. G. J. et Pilnik, W. (1982). "Enzymatic degradation of pectins." *Carbohydrate Polymere* (2): 25-33.

Décret 2009/106/CE. (2009). "Jus de fruits et certains produits similaires destinés à l'alimentation humaine."

Décret 2003/838/CE (2003). "Décret n°2003-838 du 1 septembre 2003 pris pour l'application de l'article L. 214-1 du code de la consommation en ce qui concerne les jus de fruits et certains produits similaires destinés à l'alimentation humaine. "

Del Caro, A., Piga, A., Pinna, I., Fenu, P. M. et Agabbio, M. (2004). "Effect of drying conditions and storage period on polyphenolic content, antioxidant capacity, and ascorbic acid of prunes." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(15): 4780-4784.

Denès, J.-M. (1999). "Purification, propriétés et mécanisme d'action d'une pectine méthylestérase de pomme (*Malus domestica* cv. Golden delicious). Influence des traitements hautes pressions isostatiques sur son activité." Thèse de doctorat, Université de Rennes, France.

Directive 90/496/CEE (1990). "Etiquetage nutritionnel des denrées alimentaires."

Directive 94/35/CE (1994). "Edulcorants destinés à être employés dans les denrées alimentaires."

Doco, T. et Brillouet, J. M. (1993). "Isolation and characterization of a rhamnogalacturonan-II from red wine." *Carbohydrate Research* 243(2): 333-343.

Doco, T., Williams, P., Vidal, S. et Pellerin, P. (1997). "Rhamnogalacturonan II, a dominant polysaccharide in juices produced by enzymic liquefaction of fruits and vegetables." *Carbohydrate Research* 297(2): 181-186.



Doco, T., Williams, P., Pauly, M., O'Neill, M. A. et Pellerin, P. (2003). "Polysaccharides from grape berry cell walls. Part II. Structural characterization of the xyloglucan polysaccharides." *Carbohydrate Polymers* 53(3): 253-261.

Données industrielles Sojufel (2007). "Rendements d'extraction en jus de raisin."

Dragovic-Uzelac, V., Delonga, K., Levaj, B., Djakovic, S. et Pospisil, J. (2005). "Phenolic profiles of raw apricots, pumpkins, and their purees in the evaluation of apricot nectar and jam authenticity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(12): 4836-4842.

Drilleau, J. F. (1988). "Cidre, jus de pomme et concentrés." In R. Scriban : Les industries agricoles et alimentaires : progrès des sciences et des techniques.(Tec et Doc Lavoisier, Paris): pp 137-153.

Drogoudi, P. D., Vemmos, S., Pantelidis, G., Petri, E., Tzoutzoukou, C. et Karayiannis, I. (2008). "Physical characters and antioxidant, sugar, and mineral nutrient contents in fruit from 29 apricot (*Prunus armeniaca L.*) cultivars and hybrids." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(22): 10754-10760.

Duan, X. W., Cheng, G. P., Yang, E., Yi, C., Ruenroengklin, N., Lu, W. J., Luo, Y. B. et Jiang, Y. M. (2008). "Modification of pectin polysaccharides during ripening of postharvest banana fruit." *Food Chemistry* 111(1): 144-149.

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956). Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.

## E

Elez-Martinez, P., Soliva-Fortuny, R. C. et Martin-Belloso, O. (2006). "Comparative study on shelf life of orange juice processed by high intensity pulsed electric fields or heat treatment." *European Food Research and Technology* 222(3-4): 321-329.

Englyst, H. N. et Cummings, J. H. (1984). "Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas - liquid-chromatography of constituent sugars as alditol acetates." *Analyst* 109(7): 937-942.

Escudier, J. L., Moutonet, M. et Cogat, P. O. (1993). "Brevet n° 93.13287-Prétraitement des raisins par flash détente sous vide poussé."

## F

Fang, Q. Q., Meaney, P. M. et Paulsen, K. D. (2010). "Viable Three-Dimensional Medical Microwave Tomography: Theory and Numerical Experiments." *IEEE Transactions on Antennas and Propagation* 58(2): 449-458.

Femenia, A., Sanchez, E. S., Simal, S. et Rossello, C. (1998). "Developmental and ripening-related effects on the cell wall of apricot (*Prunus armeniaca*) fruit." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77(4): 487-493.

Feng, H., Tang, J. et Cavalieri, R. P. (2002). "Dielectric properties of dehydrated apples as affected by moisture and temperature." *Transactions of the Asae* 45(1): 129-135.

Fleischer, A., O'Neill, M. A. et Ehwald, R. (1999). "The pore size of non-graminaceous plant cell walls is rapidly decreased by borate ester cross-linking of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II." *Plant Physiology* 121(3): 829-838.

Fournand, D., Vicens, A., Sidhoum, L., Souquet, J. M., Moutounet, M. et Cheynier, V. (2006). "Accumulation and extractability of grape skin tannins and anthocyanins at different advanced physiological stages." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(19): 7331-7338.

Fry, S. C., York, W. S., Albersheim, P., Darvill, A., Hayashi, T., Joseleau, J. P., Kato, Y., Lorences, E. P., Maclachlan, G. A., McNeil, M., Mort, A. J., Reid, J. S. G., Seitz, H. U., Selvendran, R. R., Voragen, A. G. J. et White, A. R. (1993). "An unambiguous nomenclature for xyloglucan-derived oligosaccharides." *Physiologia Plantarum* 89(1): 1-3.

## G

Gallawa, J. C. (2007). "The Complete Microwave Oven Service Handbook 2007." Microtech, Florida

Garciaviguera, C., Bridle, P., Ferreres, F. et Tomasbarberan, F. A. (1994). "Influence of variety, maturity and processing on phenolic-compounds of apricot juices and jams." *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und- Forschung* 199(6): 433-436.

Gasperi, F., Aprea, E., Biasioli, F., Carlin, S., Endrizzi, I., Pirretti, G. et Spilimbergo, S. (2009). "Effects of supercritical CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O pasteurisation on the quality of fresh apple juice." *Food Chemistry* 115(1): 129-136.

Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U. et Caristi, C. (2007). "Flavonoid composition of citrus juices." *Molecules* 12(8): 1641-1673.

George, S., Brat, P., Alter, P. et Amiot, M. J. (2005). "Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(5): 1370-1373.

Gerard, K. A. et Roberts, J. S. (2004). "Microwave heating of apple mash to improve Juice yield and quality." *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie -Food Science and Technology* 37(5): 551-557.

Gerbaud, V., Gabas, N., Laguerie, C., Blouin, J., Vidal, S., Moutounet, M. et Pellerin, P. (1996). "Effect of wine polysaccharides on the nucleation of potassium hydrogen tartrate in model solutions." *Chemical Engineering Research & Design* 74(A7): 782-790.

Ghenghesh, K. S., Belhaj, K., El-Amin, W. B., El-Nefathi, S. E. et Zalmum, A. (2005). "Microbiological quality of fruit juices sold in Tripoli-Libya." *Food Control* 16(10): 855-858.

Glew, R. H., Ayaz, F. A., Millson, M., Huang, H. S., Chuang, L. T., Sanz, C. et Golding, J. B. (2005). "Changes in sugars, acids and fatty acids in naturally parthenocarpic date plum persimmon (*Diospyros lotus L.*) fruit during maturation and ripening." *European Food Research and Technology* 221(1-2): 113-118.

Gollucke, A. P. B., Catharino, R. R., de Souza, J. C., Eberlin, M. N. et Tavares, D. D. (2009). "Evolution of major phenolic components and radical scavenging activity of grape juices through concentration process and storage." *Food Chemistry* 112(4): 868-873.

Gollucke, A. P. B., de Souza, J. C. et Tavares, D. D. (2008). "(+)-catechin and (-)-epicatechin levels of concentrated and ready-to-drink grape juices through storage." *International Journal of Food Science and Technology* 43(10): 1855-1859.

Grassin, C. (1997). "Fruit liquefaction: a new technology." EFF' 97, Rennes/France.

Grassin, C. et Fauquembergue, P. (1996). "Fruit Juice." *Industrial Enzymology* 2: 227-264.

Grimi, N., Lebovka, N. I., Vorobiev, E. et Vaxelaire, J. (2009). "Effect of a Pulsed Electric Field Treatment on Expression Behavior and Juice Quality of Chardonnay Grape." *Food Biophysics* 4(3): 191-198.

Gurrieri, F., Audergon, J. M., Albagnac, G. et Reich, M. (2001). "Soluble sugars and carboxylic acids in ripe apricot fruit as parameters for distinguishing different cultivars." *Euphytica* 117(3): 183-189.

Guyot, S., Marnet, N., Sanoner, P. et Drilleau, J. F. (2001). Direct thiolysis on crude apple materials for high-performance liquid chromatography characterization and quantification of polyphenols in cider apple tissues and juices. *Flavonoids and Other Polyphenols*. 335: 57-70.

Guyot, S., Marnet, N., Sanoner, P. et Drilleau, J. F. (2003). "Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(21): 6240-6247.

## H

Hagerman, A. E., Rice, M. E. et Ritchard, N. T. (1998). "Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin(16) (4 -> 8) catechin (procyanidin)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(7): 2590-2595.

Hanlin, R. L., Hrmova, M., Harbertson, J. F. et Downey, M. O. (2010). "Review: Condensed tannin and grape cell wall interactions and their impact on tannin extractability into wine." *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16(1): 173-188.

Hartmann, E. (1993). "Comparing apple juice yield and capacity." *Fruit Processing* 5: 156-162.

Haslam, E. (1977). "Symmetry and promiscuity in procyanidins biochemistry." *Phytochemistry* 16, 1625-1640.

Haslam, E. (1989). "In : Plant polyphenols. Vegetable tannins revisited." Cambridge University Press.

Haslam, E. (1998). " In : Practical Phenolics- From structure to molecular recognition and physiological action." Cambridge University Press.

Hayashi, T. (1989). "Xyloglucans in the primary cell wall." *Annual Review of Physiology Plant Molecular Biology*.(40): 139-168.

Hemingway, R. W. (1989). "Structural variation of proanthocyanidins and their derivatives. In Chemistry and Significance of Condensed tannins." Eds Hemingway R.W., Kardechesy J.J., Plenum Press, New York pp 83-107.

Heredia, F. J., Francia-Aricha, E. M., Rivas-Gonzalo, J. C., Vicario, I. M. et Santos-Buelga, C. (1998). "Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes - I. pH effect." *Food Chemistry* 63(4): 491-498.

Hoerlé, M.: "Extraction des petits fruits rouges par micro-onde : validité du procédé et qualité des jus". Stage de Master, UMR 408: INRA, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse.

Hou, C. Y., Lin, Y. S., Wang, Y. T., Jiang, C. M. et Wu, M. C. (2008). "Effect of storage conditions on methanol content of fruit and vegetable juices." *Journal of Food Composition and Analysis* 21(5): 410-415.

Houska, M., Strohalm, J., Kocurova, K., Totusek, J., Lefnerova, D., Triska, J., Vrchotova, N., Fiedlerova, V., Holasova, M., Gabrovskaa, D. et Paulickova, I. (2006). "High pressure and foods - fruit/vegetable juices." *Journal of Food Engineering* 77(3): 386-398.

## I

International Federation of Fruit Juice Producers (2005). "Fruit Juice Nutrition Policy (IFU position paper)." <http://www.ifu@ifu-fruitjuice.com>.

Interprofession des fruits et légumes frais (INTERFEL) (2006). "Données de production et données économiques du marché de la prune."

ISAFRUIT (2007). European project: Deliverable 3.2: "Method of analysis of polyphenols in plum elaborated." *In: Increasing fruit consumption through a trans disciplinary approach leading to high quality produce from environmentally safe, sustainable methods.*

Ishii, T. et Matsunaga, T. (2001). "Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan." *Phytochemistry* 57(6): 969-974.

Israel, S. et Leufstedt, G. (1993). "Centrifugal juice extraction." *Fluessiges Obst* 60(5): 60 (65) (*Fruit Processing* 63 (65) 172-174).

Ito, S. et Kato, Y. (2002). "A study of the structures of xyloglucans from the fruit cell walls of strawberry, persimmon, prune and banana." *Applied Glycoscience* 49: 501-504.

## J

Jeyamkondan, S., Jayas, D. S. et Holley, R. A. (1999). "Pulsed electric field processing of foods: A review." *Journal of Food Protection* 62(9): 1088-1096.

Joseleau, J. P. (1980). "Les hémicelluloses." *In: Les polymères végétaux: polymères pariétaux et alimentaires non azotés* Costes, C. Monties, B.Ed. Gauthier Villars, Paris pp 87-121.

## K

Kalyoncu, I. H., Akbulut, M. et Coklar, H. (2009). "Antioxidant capacity, total phenolics and some chemical properties of semi-matured apricot cultivars grown in Malatya, Turkey." *World Applied Sciences Journal* 6(4): 519-523.

Karadeniz, F., Durst, R. W. et Wrolstad, R. E. (2000). "Polyphenolic composition of raisins." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(11): 5343-5350.

Kern, M., Guldenfels, W. et Sieveke, E. (1993). "The use of decanters in modern fruit and vegetable extraction." *Fluessiges Obst* 60(5): 60 (65) 254-256.

Kim, D. O., Jeong, S. W. et Lee, C. Y. (2003). "Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums." *Food Chemistry* 81(3): 321-326.

Kim, D. O. et Padilla-Zakour, O. I. (2004). "Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in anthocyanin-rich fruits: Cherry, plum, and raspberry." *Journal of Food Science* 69(9): S395-S400.

Kirca, A., Ozkan, M. et Cemeroglu, B. (2006). "Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars." *Food Chemistry* 97(4): 598-605.

Klavons, J. A., Bennett, R. D. et Vannier, S. H. (1991). "Nature of the protein constituent of commercial orange juice cloud." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 1545-1548.

Komthong, P., Igura, N. et Shimoda, M. (2007). "Effect of ascorbic acid on the odours of cloudy apple juice." *Food Chemistry* 100(4): 1342-1349.

Kosmala, M., Milala, J., Kolodziejczyk, K., Markowski, J., Mieszczakowska, M., Ginies, C. et Renard, C.M.G.C. (2009). "Characterization of Cell Wall Polysaccharides of Cherry (*Prunus cerasus* var. Schattenmorelle) Fruit and Pomace." *Plant Foods for Human Nutrition* 64(4): 279-285.

Krishnamurthy, K., Khurana, H. K., Jun, S., Irudayaraj, J. et Demirci, A. (2008). "Infrared heating in food processing: An overview." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7(1): 2-13.

Kyamuhangire, W., Krekling, T., Reed, E. et Pehrson, R. (2006). "The microstructure and tannin content of banana fruit and their likely influence on juice extraction." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(12): 1908-1915.

## L

Lau, J. M., McNeil, M., Darvill, A. G. et Albersheim, P. (1985). "Structure of the backbone of rhamnogalacturonan I, a pectic polysaccharide in the primary cell walls of plants." *Carbohydrate Research*.(137): 111-125.

Le Bourvellec, C. (2003). "Association entre les procyanidols et les polymères pariétaux: quantification et conséquences." Thèse de doctorat, Université de Rennes, France.

Le Bourvellec, C., Guyot, S. et Renard, C.M.G.C. (2004). "Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part I. Effect of some environmental parameters." *Biochimica et Biophysica Acta* 1672(3): 1192-1202.

Le Bourvellec, C., Guyot, S. et Renard, C.M.G.C. (2009). "Interactions between apple (*Malus x domestica* Borkh.) polyphenols and cell walls modulate the extractability of polysaccharides." *Carbohydrate Polymers* 75(2): 75 (72) 251-261.

Le Bourvellec, C., Le Quere, J. M. et Renard, C.M.G.C. (2007). "Impact of noncovalent interactions between apple condensed tannins and cell walls on their transfer from fruit to juice: Studies in model suspensions and application." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(19): 7896-7904.

Le Bourvellec, C. et Renard, C.M.G.C. (2005). "Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part II: quantification and impact of cell wall drying." *Biochimica et Biophysica Acta* 1725(1): 1721-1729.

Le Bourvellec, C. et Renard, C. M. C. G. (2010). "Interactions between polyphenols and macromolecules: quantification methods and mechanisms." *Critical review in Food Science and Nutrition*, sous presse.

Lea, A. G. H. et Arnold, G. M. (1978). "Phenolics of ciders - bitterness and astringency." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 29(5): 478-483.

Lester, G. E., Manthey, J. A. et Buslig, B. S. (2007). "Organic vs conventionally grown rio red whole grapefruit and juice: Comparison of production inputs, market quality, consumer acceptance, and human health-bioactive compounds." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(11): 4474-4480.

Letang, G. et Chourot, J. M. (2002). "Fruits et produits dérivés congelés-Condition de congélation et de conservation et qualité. In. : Technologies de transformation des fruits ", Lavoisier, France.: pp 247-285.

Levis, S. R. et Deasy, P. B. (2001). " Production and evaluation size reduced grades of microcrystalline cellulose." *International Journal of Pharmacy.*: 213, 213-224.

Liao, X. J., Raghavan, G. S. V., Dai, J. M. et Yaylayan, V. A. (2003). "Dielectric properties of alpha-D-glucose aqueous solutions at 2450 MHz." *Food Research International* 36(5): 485-490.

Lieu, L. N. et Le, V. V. M. (2010). "Application of ultrasound in grape mash treatment in juice processing." *Ultrasonics Sonochemistry* 17(1): 273-279.

Liu, H. F., Wu, B. H., Fan, P. G., Li, S. H. et Li, L. S. (2006). "Sugar and acid concentrations in 98 grape cultivars analyzed by principal component analysis." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(10): 1526-1536.

Los, J., Wilska-Jeszka, J. W. et Pawlak, M. (2000). "Polyphenolic compounds of plum (*Prunus domestica*)." *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 9/50(1): 35-38.

Luck, G., Liao, H., Murray, N. J., Grimmer, H. R., Warminski, E. E., Williamson, M. P., Lilley, T. H. et Haslam, E. (1994). "Polyphenols, astringency and proline-rich proteins." *Phytochemistry* 37(2): 357-371.

## M

Macheix, J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C. (2005). "Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires " *Collection Biologie, Ed : Presses polytechniques et universitaires romandes , Lausanne* pp 120-135.

Macheix, J.J., Fleuriet A., Billot J. (1990). "Fruits phenolics". CRC Press Inc., Boca, Raton, Florida, USA.



Macheix, J. J., Sapis, J. C. et Fleuriet, A. (1991). "Phenolic-compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 30(4): 441-486.

Manas, E. et Sauracalixto, F. (1993). "Ethanol precipitation - a source of error in dietary fiber determination." *Food Chemistry* 47(4): 351-355.

Manso, M. C., Oliveira, F. A. R., Oliveira, J. C. et Frias, J. M. (2001). "Modelling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions." *International Journal of Food Science and Technology* 36(3): 303-312.

Markowski, J., Mieszczakowska, M. et Plochanski, W. (2009). "Effect of apple cultivar and enzyme treatment on phenolic compounds content during clear apple juice production." *International Journal of Food Science and Technology* 44(5): 1002-1010.

Marsh, T., Cullen, K. W. et Baranowski, T. (2003). "Validation of a fruit, juice, and vegetable availability questionnaire." *Journal of Nutrition Education and Behavior* 35(2): 93-97.

Massiot, P. (1988). "Caractérisation structurale et dégradation enzymatique des polysaccharides de parois cellulaires de la racine de carotte." Thèse de doctorat, Université de Rennes : p 142.

Massiot, P. et Renard, C. M. G. C. (1997). "Composition, physico-chemical properties and enzymatic degradation of fibres prepared from different tissues of apple." *Lebensmittelen -Wissenschaft und -Technology*. 30, 800-806.

Massoubre, E. (2003). "Foie gras and cooked meals. Microwave for a good taste." *Viandes et Produits Carnés* 23(2): 23 (22) 49-52, 62.

Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M. et Velasco, R. (2006). "Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(20): 7692-7702.

Mazeau, K. et Vergelati, C. (2002). "Atomistic modeling of the adsorption of benzophenone onto cellulosic surface." *Langmuir*: 18, 1919-1927.

McCann, M. C., Wells, B. et Roberts, K. (1990). "Direct visualization of cross-links in the primary plant cell wall." *Journal Cell Sciences* : 96, 323-334.

Mehlitz, A. (1930). "Über die Pektasewirkung. I. Enzymatische Studien über günstige Bedingungen der Pektatkoagulation." *Biochemistry* 221: 217-231.

Mehrlander, K., Dietrich, H., Sembries, S., Dongowski, G. et Will, F. (2002). "Structural characterization of oligosaccharides and polysaccharides from apple juices produced by enzymatic pomace liquefaction." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(5): 1230-1236.

Meiselman, H. L. (1993). "Critical evaluation of sensory techniques." *Food Quality and Preference* 4(1/2): 33-40.

Mittal, G. S. et Griffiths, M. W. (2005). "Pulsed electric field processing of liquid foods and beverages." *Emerging Technologies for Food Processing*: pp. 99–139.

Morison, K. R. et Hartel, R. W. (2007). "Evaporation and Freeze Concentration. *In: Handbook of Food Engineering.*" 2nd Edition, Heldman and Lund Edts, CRC Press Publishers: 495-599. Boca Raton, USA.

Mosqueda-Melgar, J., Elez-Martinez, P., Raybaudi-Massilia, R. M. et Martin-Belloso, O. (2008). "Effects of pulsed electric fields on pathogenic microorganisms of major concern in fluid foods: A review." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48(8): 747-759.

## N

Nelson, S. O. et Datta, A. K. (2001). "Dielectric properties of food materials and electric field interactions. *In: Handbook of microwave technology for food applications.*" Dekker, Inc Ed, USA pp 69-114.

Nergiz, C. et Yildiz, H. (1997). "Research on chemical composition of some varieties of European plums (*Prunus domestica*) adapted to the Aegean district of Turkey." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(8): 2820-2823.

Nicorescu, I., Riaublanc, A., Loisel, C., Vial, C., Djelveh, G., Cuvelier, G. et Legrand, J. (2009). "Impact of protein self-assemblages on foam properties." *Food Research International* 42(10): 1434-1445.

Nunan, K. J., Sims, I. M., Bacic, A., Robinson, S. P. et Fincher, G. B. (1997). "Isolation and characterization of cell walls from the mesocarp of mature grape berries (*Vitis vinifera*)." *Planta* 203(1): 93-100.

Nunes, C., Guyot, S., Marnet, N., Barros, A. S., Saraiva, J. A., Renard, C.M.G.C. et Coimbra, M. A. (2008). "Characterization of plum procyanidins by thiolytic depolymerization." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(13): 5188-5196.

Nunes, C., Santos, C., Pinto, G., Lopes-da-Silva, J. A., Saraiva, J. A. et Coimbra, M. A. (2008). "Effect of candying on microstructure and texture of plums (*Prunus domestica L.*)" *Lwt-Food Science and Technology* 41(10): 1776-1783.

Nunes, C., Saraiva, J. A. et Coimbra, M. A. (2008). "Effect of candying on cell wall polysaccharides of plums (*Prunus domestica L.*) and influence of cell wall enzymes." *Food Chemistry* 111(3): 538-548.

## O

O'Neill, M. A., Albersheim, P. et Darvill, A. (1990). "The pectic polysaccharides of primary cell walls. *Dans : Methods in Plant Biochemistry, Carbohydrates 2.*" Academic Press, London pp 414-441.

OCDE (1997). "Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE), Manuel d'Oslo-2ème édition."

Ohtsu, Y., Yamada, R., Urasaki, H., Misawa, T., Popescu, S. et Fujita, H. (2010). "Development of a novel hybrid microwave-heater reactor for paper-based waste treatment." *Journal of Material Cycles and Waste Management* 12(1): 25-29.

Oosterveld, A., Beldman, G., Schols, H. A. et Voragen, A. G. J. (2000). "Characterization of arabinose and ferulic acid rich pectin polysaccharides and hemicelluloses from sugar beet pulp." *Carbohydrate Research*.(328): 185-197.

Ortiz-Basurto, R. I., Williams, P., Belleville, M. P. et Doco, T. (2009). "Presence of rhamnogalacturonan II in the juices produced by enzymatic liquefaction of Agave pulquero stem (*Agave mapisaga*)." *Carbohydrate Polymers* 77(4): 870-875.

Oszmianski, J. et Sapis, J. C. (1989). "Fraction and identification of some low-molecular weight grape seed phenolics." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37(5): 1293-1297.

## P

Pacheco-Palencia, L. A. et Talcott, S. T. (2010). "Chemical stability of acai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems." *Food Chemistry* 118(1): 17-25.

Parish, M. E. et Higgins, D. P. (1989). "Survival of *Listeria monocytogenes* in low pH model broth systems." *Journal of Food Protection* 52(3): 144-147.

Paterson, J. L., Cranston, P. M. et Loh, W. H. (1995). "Extending the storage life of chilled beef - microwave processing." *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy* 30(2): 97-101.

Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C. et Tiwari, B. K. (2010). "Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation." *Trends in Food Science & Technology* 21(1): 3-11.

Pellerin, P., Doco, T., Vidal, S., Williams, P., Brillouet, J. M. et O'Neill, M. A. (1996). "Structural characterization of red wine rhamnogalacturonan II." *Carbohydrate Research* 290(2): 183-197.

Petzold, G. et Aguilera, J. M. (2009). "Ice Morphology: Fundamentals and Technological Applications in Foods." *Food Biophysics* 4(4): 378-396.

Pichowicz, M., Simpkins, N. S., Blake, A. J. et Wilson, C. (2006). "Synthesis towards complex bridged alkaloids derived from diketopiperazines: a cationic cascade approach to stephacidins, paraherquamides and related systems." *Tetrahedron Letters* 47(47): 8413-8417.

Piga, A., Del Caro, A. et Corda, G. (2003). "From plums to prunes: Influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(12): 3675-3681.

Pilnik, W. et Voragen, A. G. J. (1993). "Pectic enzymes in fruit and vegetable juice manufacture. In: enzyme in food processing 3" pp 363-395.

Preziosi, P., Galan, P., Aissa, M., Hercberg, S., Boccalon, H. et Berard, H. (2000). "Prevalence of venous insufficiency in French adults of the SUVIMAX cohort." *Phlebology* 15(3-4): 98-98.

Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V. et Moutounet, M. (1994). "Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds." *Phytochemistry* 36(3): 781-784.

## Q

Queiroz, F., Oliveira, C., Pinho, O. et Ferreira, I. (2009). "Degradation of Anthocyanins and Anthocyanidins in Blueberry Jams/Stuffed Fish." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(22): 10712-10717.

## R

Radi, M., Mahrouz, M., Jaouad, A. et Amiot, M. J. (2004). "Characterization and identification of some phenolic compounds in Apricot fruit (*Prunus armeniaca L.*)." *Sciences Des Aliments* 24(2): 173-183.

Raynal (1989). "Intervention of phenolic compounds in plum technology.1. Changes during drying." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 1046-1050.

Raynal, J., Mourgues, J. et Conte, T. (1991). "Pectic substances from plum fruits (*Prunus domestica L.*) cv-d'Ente - fractional extraction and general. characteristics." *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 24(3): 263-265.

Raynal, J. et Moutounet, M. (1989). "Intervention of phenolic-compounds in plum technology .2. mechanisms of anthocyanin degradation." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37(4): 1051-1053.

Reiter, M., Stuparic, M., Neidhart, S. et Carle, R. (2003). "The role of process technology in carrot juice cloud stability." *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology* 36(2): 165-172.

Renard, C.M.G.C., Baron, A., Guyot, S. et Drilleau, J. F. (2001). "Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences." *International Journal of Biological Macromolecules* 29(2): 115-125.

Renard, C.M.G.C. et Ginies, C. (2009). "Comparison of the cell wall composition for flesh and skin from five different plums." *Food Chemistry* 114(3): 1042-1049.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). " Les composés phénoliques des végétaux." Ed Dunod, Paris.

Ricardo-Da-Silva, J. M., Bourzeix, M., Cheynier, V. et Moutounet, M. (1991). "Procyanidin composition of chardonnay, mauzac and grenache blanc grapes." *Vitis* 30(4): 245-252.

Ridley, B. L., O'Neill, A. et Mohnen, D. (2001). "Pectins : structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling." *Phytochemistry* 57 : 929-967.

Riou, V., Vernhet, A., Doco, T. et Moutounet, M. (2002). "Aggregation of grape seed tannins in model wine - effect of wine polysaccharides." *Food Hydrocolloids* 16(1): 17-23.

Rouse, A. H. et Atkins, C. D. (1952). "Heat inactivation of pectinesterase in citrus juices." *Food Technology* 6 : 291-294.

## S

Sahin, S. et Sumnu, S. G. (2006). "Physical Properties of foods." Ed Springer Science, Turkey.

Saini, S. P. S., Wani, M. A. et Bains, G. S. (1996). "Processing technology for concentrated plum products for economical marketing and prolonged shelf life." *Journal of Scientific and Industrial Research* 55(3): 163-167.

Sanchez, C. et Fremont, S. (2003). "Consequences of heat treatment and processing of food on the structure and allergenicity of component proteins." *Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique* 43(1): 13-20.

Sanoner, P., Guyot, S., Marnet, N., Molle, D. et Drilleau, J. F. (1999). "Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(12): 4847-4853.

Santos-Buelga, C., Francia-Aricha, E. M. et Escribano-Bailón, M. T. (1995). "Comparative flavan-3-ols composition of seeds from different grape varieties." *Food Chemistry*: 53, 197-201.

Sarkar, B., De, S. et DasGupta, S. (2008). "Pulsed electric field enhanced ultrafiltration of synthetic and fruit juice." *Separation and Purification Technology* 63(3): 582-591.

Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. et Moutounet, M. (1999). "Interactions of grape seed tannins with salivary proteins." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(1): 42-47.

Schiffmann, R. F. (2001). "Microwave Processes for the food industry." *In: Handbook of microwave technology for food applications* Ed. Dekker, Inc. USA pp 299-339.

Schilling, S., Schmid, S., Jaeger, H., Ludwig, M., Dietrich, H., Toepfl, S., Knorr, D., Neidhart, S., Schieber, A. et Carlet, R. (2008). "Comparative study of pulsed electric field and thermal processing of apple juice with particular consideration of juice quality and enzyme deactivation." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(12): 4545-4554.

Schilling, S., Toepfl, S., Ludwig, M., Dietrich, H., Knorr, D., Neidhart, S., Schieber, A. et Carle, R. (2008). "Comparative study of juice production by pulsed electric field treatment and enzymatic maceration of apple mash." *European Food Research and Technology* 226(6): 1389-1398.

Schols, H. A., Posthumus, M. A. et Voragen, A. G. J. (1990). "Hairy (ramified) regions of pectins .1. Structural features of hairy regions of pectins isolated from apple juice produced by the liquefaction process." *Carbohydrate Research* 206(1): 117-129.

Schutz, H. G. (1999). "Consumer data - sense and nonsense." *Food Quality and Preference* 10(4-5): 245-251.

Seaman, J.F., Moore W.E., Mitchell R.L., Millet M.A., (1954). "Techniques for the determination of pulp constituents by quantitative paper chromatography." *Tappi.*, 37, 336-343.

Shalom, P., Gur-Arie, A. R. et Levi, A. H. (1999). "Extraction of plum juice after liquefaction with commercial enzymes." *Italian Journal of Food Science* 11(1): 29-38.

Siddiq, M., Arnold, J. F., Sinha, N. K. et Cash, J. N. (1994). "Effect of Polyphenol Oxidase and Its Inhibitors on Anthocyanin Changes in Plum Juice." *Journal of Food Processing and Preservation* 18(1): 75-84.

Singh, S. et Kulshreshtha, M. (1996). "Mathematical modelling of juice expression from carrots under uniaxial compression." *Journal of Food Engineering* 27(3): 323-336.

Singleton, V. L. et Rossi, J. A. (1965). "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." *American Journal of Enology Viticulture* (16): 144-158.

Skrede, G., Wrolstad, R. E. et Durst, R. W. (2000). "Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum L.*)" *Journal of Food Science* 65(2): 357-364.

Sobrino-Lopez, A., Raybaudi-Massilia, R. et Martin-Belloso, O. (2006). "High-intensity pulsed electric field variables affecting *Staphylococcus aureus* inoculated in milk." *Journal of Dairy Science* 89(10): 3739-3748.

Son, S. M., Moon, K. D. et Lee, C. Y. (2001). "Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices." *Food Chemistry* 73(1): 23-30.

Souci, S. W., Fachmann, W. et Kraut, H. (2000). "Food composition and nutrition table." Eds Medpharm GmbH Scientific Publishers, (6), Stuttgart, Germany, pp 30-1182.

Souquet, J. M., Cheynier, V., Brossaud, F. et Moutounet, M. (1996). "Polymeric proanthocyanidins from grape skins." *Phytochemistry* 43(2): 509-512.

Souquet, J. M., Cheynier, V., Brossaud, F. et Moutounet, M. (1996). "Polymeric procyanidins from grape skins." *Phytochemistry*: 43, 509-512.

Souquet, J. M., Labarbe, B., Le Guernevé, C., Cheynier, V. et Moutounet, M. (2000). "Phenolic composition of grape stems." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* : 48, 1076-1080.

Srivastava, A., Akoh, C. C., Yi, W. G., Fischer, J. et Krewer, G. (2007). "Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(7): 2705-2713.

## T

Taira, S., Ono, M. et Matsumoto, N. (1997). "Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannins." *Postharvest Biology and Technology* 12(3): 265-271.

Tang, J., Hao, F. et Lau, M. (2000). "Microwave Heating in Food Processing. A book chapter to be published in *Advances in Agricultural Engineering*. ." Scientific Press, New York.

Thibault, J. F., Renard, C. M. G. C., Axelos, M. A. V., Roger, P. et Crépeau, M.-J. (1993). "Studies of the length of homogalacturonic regions in pectins by acid hydrolysis." *Carbohydrate Research* 238: 271-286.

Thompson, R. S., Jacques, D., Haslam, E. et Tanner, R. J. N. (1972). "Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction ; the isolation, structure and distribution in nature of plant procyanidins." *Journal of the Chemical Society Perkins Transactions* : 1387-1399.



Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C. P. et Cullen, P. J. (2009). "Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10(2): 166-171.

Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. J. et O'Donnell, C. P. (2010). "Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice." *Ultrasonics Sonochemistry* 17(3): 598-604.

Torchio, F., Cagnasso, E., Gerbi, V. et Rolle, L. (2010). "Mechanical properties, phenolic composition and extractability indices of Barbera grapes of different soluble solids contents from several growing areas." *Analytica Chimica Acta* 660(1-2): 183-189.

Tressler, D. K. et Joslyn, M. A. (1954). "The chemistry and technology of fruit and vegetable juice production." AVI Publishing Company, New York.

Turk, M. (2010). "Communication Personnelle." *Projet Tempantiox*.

## U

Union Interprofessionnelle des Jus de fruits et Nectar (2009). [www.unijus.org](http://www.unijus.org)

Usenik, V., Kastelec, D., Veberic, R. et Stampar, F. (2008). "Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica* L.)." *Food Chemistry* 111(4): 830-836.

Usenik, V., Stampar, F. et Veberic, R. (2009). "Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening." *Food Chemistry* 114(2): 529-534.

## V

Vadivambal, R. et Jayas, D. S. (2007). "Changes in quality of microwave-treated agricultural products - a review." *Biosystems Engineering* 98(1): 1-16.

Vámos-Vigyázó, L. (1995). "Prevention of enzymatic browning in fruits and vegetables, a review of principles and practice." *Dans Enzymatic Browning and Its Prevention*. Eds. C.Y. Lee and J.R. Whitaker. American Chemical Society, Washington: 49–62.

Van Der Sluis, A. A., Dekker, M., Skrede, G. et Jongen, W. A. F. (2004). "Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 2. Effect of novel production methods." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(10): 2840-2848.

Van Der Sluis, A. A., Dekker, M., Skrede, G. et Jongen, W. M. F. (2002). "Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 1. Effect of existing production methods." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(25): 50 (25) 7211-7219.

Versari, A., Parpinello, G. P., Mattioli, A. U. et Galassi, S. (2008). "Characterisation of Italian commercial apricot juices by high-performance liquid chromatography analysis and multivariate analysis." *Food Chemistry* 108(1): 334-340.

Vian, M. A., Fernandez, X., Visinoni, F., Chemat, F. (2008). "Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils." *Journal of Chromatography A* 1190 (1-2) : 14-17.

Vicens, A. (2007). " Etude de l'évolution des composés phénoliques et de polysaccharides pariétaux de la pellicule de raisin pendant la maturation-Impacts sur leur extractabilité en milieu hydroalcoolique." Thèse de doctorat, Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc.

Vidal, S., Doco, T., Williams, P., Pellerin, P., York, W. S., O'Neill, M. A., Glushka, J., Darvill, A. G. et Albersheim, P. (2000). " Structural characterization of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II: evidence for the backbone location of the aceric acid-containing oligoglycosyl side chain." *Carbohydrate Research* 326(4): 277-294.

Vidal, S., Francis, L., Noble, A., Kwiatkowski, M., Cheynier, V. et Waters, E. (2004). "Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine." *Analytica Chimica Acta* 513(1): 57-65.

Vidal, V., Cases, E. et Cuy, J. L. (2003). " Chemical modifications and study of structure/function interactions in proteins." *Ocl-Oleagineux Corps Gras Lipides* 10(1): 41-46.

Vijaya-Raghavan, G. S., Orsat, V. et Meda, V. (2005). "Microwave processing of foods." *Stewart Postharvest Review* (Review).

Viot, M. (2009). " Soxhlet assisté par micro-ondes. Conception et application à l'extraction des matières grasses." Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse.

Viot, M., Tomao, V., Colnagui, G., Visinoni, F. et Chemat, F. (2007). "New microwave-integrated Soxhlet extraction an advantageous tool for the extraction of lipids from food products." *Journal of Chromatography A* 1174(1-2): 138-144.

Voragen, A. G. J., Thibault, J.-F., Axelos, M. A. V., Renard, C. M. G. C. et Pilnik, W. (1995). "Pectins": Dans: A.M. Stephen Editor, Food polysaccharides and their applications, Marcel Dekker, London: pp 287-339.

## W

Wang, H., Cao, G. H. et Prior, R. L. (1996). "Total antioxidant capacity of fruits." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(3): 701-705.

Wang, X. X., Wang, J. W. et Yang, N. J. (2007). "Chemiluminescent determination of chlorogenic acid in fruits." *Food Chemistry* 102(1): 422-426.

Will, F. et Dietrich, H. (2006). "Optimised processing technique for colour and cloud stable plum juices and stability of bioactive substances." *European Food Research and Technology* : 223(3): 419-425.

Will, F., Handschuh, D. et Dietrich, H. (1992). "Influence of residual pectins on the cross-flow filtration of apple juice - results of enzymatic degradation studies." *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 25(4): 380-385.

Will, F., Schulz, K., Ludwig, M., Otto, K. et Dietrich, H. (2002). "The influence of enzymatic treatment of mash on the analytical composition of apple juice." *International Journal of Food Science and Technology* 37(6): 653-660.

Wrolstad, R. E. (1982). "Description of the pH differential method for determination of total anthocyanins and indices for anthocyanin degradation as applied to fruit juices and wines. In : *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, ed. Wrolstad, Wiley, New York.

Wulf, L. W. et Nagel, C. W. (1980). "Identification and changes of flavonoids in merlot and cabernet sauvignon wines." *Journal of Food Science* 45(3): 479-484.

## X

## Y

Yilmaz, I., Arici, M. et Gumus, T. (2005). "Changes of microbiological quality in meatballs after heat treatment." *European Food Research and Technology* 221(3-4): 281-283.

Yuksel, Z., Avci, E. et Erdem, Y. K. (2010). "Characterization of binding interactions between green tea flavanoids and milk proteins." *Food Chemistry* 121(2): 450-456.

## Z

Zhang, H. Y., Qi, J. Y. et Cao, P. (2006). A nalysis o f moisture a nd f at us ing microwave and NMR technology. Beijing, World Publishing Corporation.

Zheng, Y. H., Wang, S. Y., Wang, C. Y. et Zheng, W. (2007). "Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments." *Lwt-Food Science and Technology* 40(1): 49-57.

## **Procédé novateur d'extraction de jus de fruits par micro-onde : viabilité de fabrication et qualité nutritionnelle des jus.**

### **Résumé**

Le procédé innovant d'hydrodiffusion par micro-onde a été testé et validé pour la fabrication de jus de fruit sur des raisins, abricots et prunes. Ce procédé présente des avantages au niveau technique : rapidité d'extraction, pas de préparation de l'échantillon, aucun auxiliaire de fabrication. Il permet l'obtention de jus à partir de fruits difficiles à presser, avec une pasteurisation « *in line* » et des produits se différenciant nettement des jus commerciaux par leur couleur et texture.

Le jus est expulsé du fruit sous l'effet de la vapeur produite *in situ*. A partir du fruit congelé, la déstructuration liée à la croissance des cristaux de glace facilite l'extraction. Les rendements les plus élevés sont obtenus à partir de fruits congelés, et à basse puissance. Une partie de l'eau des fruits est convertie en vapeur, mais peut être récupérée en utilisant un réfrigérant, ce qui permet d'atteindre des rendements proches des rendements de jus obtenus avec un prétraitement enzymatique et pressurage.

Globalement, le jus a une composition proche de celle du jus présent dans le fruit ou obtenu par pressurage. La composition du jus expulsé des fruits change au cours de l'extraction. La concentration des composés présents dans la chair et hydrosolubles (sucres, acides, acides phénoliques) baisse nettement en fin d'extraction, tandis que les anthocyanes, présentes dans l'épiderme des raisins ou de prunes, montrent un pic de concentration lors de la phase d'expulsion rapide des jus. La teneur en procyanidines est nettement plus élevée que pour des jus obtenus par pressurage.

**Mots clef** : Jus de fruit, micro-onde, polyphénols, anthocyanes, procyanidines, sucres, acides, *Prunus armeniaca* L., *Vitis vinifera* L., *Prunus domestica* L.

## **Extraction of fruit juices by microwave hydrodiffusion : Tests and nutritional juice quality.**

### **Abstract**

The hydrodiffusion process was tested and validated for production of juices from grapes, apricots and plums. Its major advantages are speed, no sample preparation, no processing aid. It allows production of juices from hard-to-press fruits with an *in line* pasteurisation. The juices present original characteristics notable bright colours, texture, and a fresh fruit aroma.

The juice is expelled from the fruit by the pressure due to *in situ* vapour generation. The destructure occurring in frozen fruits due to growth of ice crystals facilitate the juice expulsion. The highest yields are obtained from frozen fruits and at low power densities. Part of the water from the fruits is vaporised, and can be collected by use of a cooler, allowing to reach yields comparable to those obtained by pressing after an enzymatic pre-treatment.

Juice composition is close to that of juice extracted by pressing, though with slightly lower concentrations of most soluble solids. The composition of juice changes along the extraction. The highly soluble compounds present in the fruit flesh mostly show a clear exhaustion at the end of extraction. Anthocyanins, present exclusively in the peel of the test fruits, present a maximum during the fast juice extraction phase. Procyanidin concentrations is much higher in juices obtained by hydrodiffusion than in conventional juices.

**Keywords**: fruit juice, microwave, sugars, acids, polyphenols, anthocyanins, procyanidins, *Prunus armeniaca* L., *Vitis vinifera* L., *Prunus domestica* L.